

LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA UNIVERSIDAD NACIONAL



MANUAL PARA LA TOMA Y TRANSPORTE DE MUESTRAS BACTERIOLÓGICAS

Participaron en su elaboración:

Dr. Elías Barquero Calvo, MSc.

Profesor de Bacteriología

Coordinador Laboratorio de Bacteriología

Erika Valverde Altamirano

Programa de Investigación en Medicina Poblacional

AÑO 2008

TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS CLÍNICAS AL LABORATORIO

La capacidad del personal de laboratorio para confirmar la presencia o ausencia de un agente bacteriano, está directamente relacionada con la calidad de las muestras remitidas. Sin importar qué tan buenos sean los métodos utilizados en el laboratorio, es imposible obtener resultados satisfactorios con muestras recolectadas inapropiadamente. En este sentido, **el profesional de campo o encargado, tiene la responsabilidad de seleccionar, recolectar, preservar y enviar adecuadamente las muestras convenientes para el diagnóstico.**

Los especímenes seleccionados deben contener el organismo causal del problema. La flora normal y los contaminantes pueden complicar la colecta de la muestra y afectar la interpretación de resultados. En este manual se indican, de manera clara y precisa, las técnicas apropiadas para el manejo de muestras para laboratorio.

NORMAS GENERALES

1. Las muestras deben estar propiamente identificadas con un marcador permanente. **No se procesarán muestras que no cumplan con esta condición.**
2. Las muestras se deben tomar antes de la administración de medicamentos, empleando material estéril.
3. Utilizar material limpio y seco. En algunos casos, se debe evitar que la muestra se seque, para esto, hacer uso de medios de transporte.
4. En la medida de lo posible, obtener las muestras de animales vivos en diferentes estadios de la enfermedad. De ser necesaria una necropsia, se debe realizar en el menor tiempo posible después de la muerte del animal.
5. Utilizar envases resistentes, herméticos y de dimensiones adecuadas.
6. Las precauciones (temperatura, medio de transporte, duración máxima) varían con la clase de muestra; como medida general, la entrega en el laboratorio se debe hacer antes de transcurridas 24 horas de la toma.

BOLETA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS

La boleta de recepción de muestras se facilita en la página web www.bacteriologiauna.blogspot.com, y debe ser llenada en su totalidad para acompañar las muestras remitidas. Además, para su facilidad, las mismas se encuentran disponibles en el Laboratorio de Bacteriología.

EL ÉXITO Y LA CONFIABILIDAD DE LOS RESULTADOS DEPENDEN DEL PROCESO DE LA RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE ADECUADOS DE LAS MUESTRAS

ABSCESOS, EDEMAS Y LÍQUIDO ARTICULAR

Punción con aguja fina.

1. Depilar, lavar y desinfectar el sitio de la punción con alcohol yodado.
2. Introducir la aguja en forma perpendicular a la zona de punción y a la profundidad necesaria de acuerdo al caso. Recuerde utilizar material estéril.
3. Aspirar la muestra hasta obtener una cantidad suficiente (2-3 ml)*
4. Pasar la muestra a un tubo estéril o bien sellar la jeringa de manera que su contenido no se derrame.

5. Identificar y enviar al laboratorio en refrigeración.

* Cuando la muestra no puede ser aspirada por lo denso del material, se puede inyectar en el sitio solución salina estéril para facilitar el procedimiento.

EXUDADO PREPUCIAL

1. Lavar el orificio prepucial con agua y jabón exhaustivamente, estimule la micción para que el animal orine completamente y seque muy bien el orificio prepucial.
2. Con la ayuda de una banda elástica selle el orificio prepucial después de introducir una pipeta de plástico conectada a una jeringa hasta la parte más profunda de la cavidad.
3. Introduzca 10-100 mililitros de solución salina fisiológica y selle el extremo con una banda elástica. Masajear fuertemente de abajo hacia arriba para que haya el mayor desprendimiento posible del epitelio. Normalmente se requieren entre 2 y 4 minutos de masaje para este efecto.
4. Terminado el masaje permita que el líquido regrese al recipiente original.

Las condiciones de transporte varían de acuerdo con el tiempo que demore la muestra en llegar al laboratorio y los exámenes a realizar. Cuando la muestra llega en menos de cuatro horas al laboratorio, puede ser transportada a temperatura ambiente en el envase inicial, siempre y cuando se proteja de la luz solar y de la exposición a altas temperaturas.

Cuando la muestra demora entre 4 y 12 horas en llegar al laboratorio. Como los campylobacter son microorganismos lábiles, en estos casos deben ser transportados en un medio de cultivo. Para esto coloque 2 o 3 ml de la muestra obtenida en un tubo de Medio tioglicolato y el resto del recuperado, en el frasco donde viene la solución salina. Identificar la muestra y transportar en refrigeración al laboratorio.

FETO Y PLACENTA

La recolección de éstos es importante en casos de aborto.

Placenta: El procedimiento a seguir es similar al utilizado para recolección de órganos.

1. Utilizando guante protector, tomar porciones pequeñas y frescas que se encuentren dentro de la vagina y que contengan uno o dos cotiledones.
2. Colocarlas en un frasco estéril de boca ancha.
3. Identificar y enviar refrigeradas al laboratorio.

Una muestra de sangre de la madre al momento del aborto y 2 semanas después del aborto es útil, sobre todo si se sospecha de brucelosis ([Laboratorio de Inmunología, EMV, tel: 2562-4542](#)) o leptospirosis ([LANASEVE, MAG](#)), para las respectivas pruebas serológicas.

Feto:

1. Limpie el feto de suciedad, estiércol o paja con un guante protector.
2. Coloque el feto completo en un recipiente adecuado (bolsa de polietileno).
3. Envíe refrigerado al laboratorio ([Laboratorio de Patología, EMV, tel: 2260-0849](#)).

En caso tal que se sospeche de brucelosis se debe recolectar en forma aséptica el líquido abomasal (cuarto estómago del feto), utilizando material estéril y debe mantenerse en refrigeración hasta su envío al laboratorio

HECES

1. Para adquirir la muestra directamente del recto, se debe lavar el área anal con agua y jabón, con cuidado de no introducir restos de jabón al recto. Se recomienda utilizar guantes. Almacenar la muestra en una bolsa o frasco.
2. Para especies pequeñas, introducir un hisopo estéril a través en el esfínter anal. Rotar cuidadosamente para recolectar, hasta que el hisopo esté impregnado.
3. Depositar el hisopo en un tubo estéril con tapa rosca que contenga medio de transporte Amies o Stuart. La proporción de muestra debe ser de 1g de materia fecal por cada 10cc de medio de transporte.
4. No refrigerar, no congelar. No recoger muestras del suelo

HERIDAS ABIERTAS Y EXUDADOS

Se recomienda utilizar hisopos de algodón previamente esterilizados

1. En casos de heridas y exudados en contacto con zonas sucias, se debe lavar y secar la zona previamente. No utilice desinfectantes para lavar la zona, ya que lesionan los tejidos y se altera el resultado de los cultivos
2. Con un hisopo estéril, raspar los bordes (si es posible) de la zona afectada, impregnando el hisopo, evitando el contacto con cualquier otra parte. Introducir dentro de un tubo estéril con medio de transporte o en un frasco con tapa rosca con 3ml de solución salina estéril.
3. Romper el mango del hisopo para eliminar la parte que ha estado en contacto con las manos
4. Tapar el tubo evitando contaminar su interior.
5. Identificar y enviar al laboratorio en refrigeración.

LECHE

1. Lavar, enjuagar y secar la ubre (sólo si está sucia).
2. Desinfectarse las manos con una solución de alcohol al 70%.
3. Desinfectar los pezones con la misma solución, utilizando un algodón. Dejar secar (2 minutos). Descartar los dos primeros chorros de leche antes de tomar la muestra.
4. Ordeñar recogiendo en un recipiente estéril, 50 ml de leche aproximadamente, tomando proporcionalmente de los cuartos afectados.
5. En caso de que la infección esté plenamente localizada en uno de los cuartos o se requiera localizar el cuarto afectado, siguiendo las mismas recomendaciones, tomar de 15 a 20 ml de leche del cuarto afectado o de cada cuarto en recipientes separados.
6. Identificar la muestra correctamente y mantenerla refrigerada hasta la llegada al laboratorio.

LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

Punción lumbar realizada por un médico veterinario, bajo condiciones asépticas estrictas.

1. Desinfectar rigurosamente el área donde se hará la punción.
2. Extraer 3-4ml de líquido cefalorraquídeo.
3. La muestra se recoge en tubos estériles con tapa rosca para evitar la pérdida de líquido o la contaminación del mismo. Por ningún motivo se debe utilizar tubos de tapa de algodón.

4. Transportar de manera inmediata al laboratorio. Algunas bacterias no sobreviven el almacenamiento prolongado y los cambios bruscos de temperatura. La muestra debe ser analizada a lo sumo 1 hora después de la extracción.

ÓRGANOS Y TEJIDOS

La recolección se realiza con asepsia y máximo una hora después de la muerte del animal.

1. Evitando tocar el lugar de la lesión a muestrear, cortar trozos de tejido u órgano afectado, de un grosor no menor de 3 cm².
2. Para evitar contaminación y sangrado, sin tocar el sitio de la lesión, sellar la muestra flameándola directamente o utilizando una espátula previamente flameada.
3. Depositar la muestra en un frasco estéril individual de boca ancha.
4. Las muestras deben enviarse refrigeradas al laboratorio. No utilizar formol.
5. Si es necesario, agregue solución salina estéril para que no se seque.

Recuerde utilizar material estéril cuando corte y manipule el tejido seleccionado. Flamear los instrumentos con alcohol puede ser una alternativa.

ORINA

Asegurarse de que el paciente no haya recibido tratamiento con antibióticos en los últimos 8 días antes de tomar la muestra

1. Realizar un lavado riguroso de los genitales externos. Utilizar jabón y abundante agua limpia.
2. En grandes especies se puede recolectar por micción. Recolectar en un frasco estéril la orina, a la mitad del chorro. No se debe destapar el frasco antes de la recolección.
3. En pequeñas especies se puede hacer uso de sondas, catéteres y punción vesical. Para la punción, se lava el área, se introduce la jeringa y se extraen 5ml.
4. Transportar inmediatamente al laboratorio (en un lapso de 2 horas), de lo contrario, se debe refrigerar.

RASPADOS CUTÁNEOS

1. Limpiar y lavar la piel con jabón.
2. Raspar suavemente con una hoja estéril de bisturí los bordes del área afectada, tomando pelo y piel y profundizando hasta que sangre. También se puede tomar la muestra con un hisopo humedecido en solución salina estéril.
3. Enviar en frascos o tubos estériles. No precisan refrigeración.

SISTEMA RESPIRATORIO

Las secreciones de las fosas nasales, por la presencia de contaminantes ambientales, no constituyen una muestra adecuada.

Si se trata de un animal muerto, el tejido pulmonar lesionado, tomado con instrumental estéril, constituye una buena muestra.

Las secreciones traqueales o bronquiales se envían en torundas, dentro de un frasco.

LAVADO TRANSTRAQUEAL

Dependiendo del carácter del animal, a veces es necesaria la aplicación de un tranquilizante o sedante. De lo contrario, se debe aplicar anestésico local en la zona donde se va a introducir el catéter. Una vez que el paciente esté tranquilizado:

1. Colocar al animal en decúbito esternal, con el cuello extendido y la cabeza alzada.
2. Preparar quirúrgicamente la zona (rasurar la piel del cuello y limpiar con una solución antiséptica repetidas veces).
3. Hacer una pequeña incisión en la piel con una hoja de bisturí, para evitar que el catéter se pliegue.
4. Introducir el catéter en la membrana del cartílago cricoaritenoides y en dirección caudal dentro de la tráquea. Una vez que se accede a la laringe, retirar el seguro metálico del catéter.
5. Introducir el catéter yugular hasta la zona de la carina (espacios intercostales 7-9). Para esto es necesaria la previa medición del catéter. Es normal que el paciente tosa.
6. Introducir suero fisiológico a través del catéter yugular, para realizar el lavado. Son necesarios varios lavados y la cantidad máxima de líquido a introducir no debe superar los 0,5ml/kg p.v. para evitar un edema.
7. Se puede inducir el reflejo tusígeno golpeando suavemente las paredes torácicas, de este modo se movilizarán las secreciones traqueo-bronquiales y se obtendrá una mejor muestra.
8. Recuperar el suero mediante aspiración con jeringas de 20ml. Es normal que no se recupere todo el líquido.
9. Después de realizados dos o tres lavados, se extraen ambos catéteres. Se debe hacer presión en la zona de la incisión con una gaza impregnada en solución antiséptica. Puede ser necesario suturar la piel con uno o dos puntos sueltos.
10. Depositar la muestra en tubos estériles con EDTA o en tubos estériles sin anticoagulante. Mantenga a temperatura ambiental.

SANGRE (HEMOCULTIVO)

1. Desinfectar las tapas de los tubos que contienen el anticoagulante (EDTA o Heparina), para evitar la contaminación de la sangre. Se puede hacer con yodo, y se debe tener el cuidado de desechar el restante del mismo antes de tomar la muestra.
2. Desinfectar la zona de la punción, tres veces con alcohol. No tocar esta zona con los dedos, a no ser de que se haya esterilizado las manos o esté usando guantes estériles.
3. Introducir la aguja directamente en la vena. En caso de que la aguja se salga o se le pierda la vena, se debe descartar el equipo y utilizar uno nuevo. Estas precauciones se deben tomar en cuenta para reducir la contaminación de la muestra con la flora normal de la piel.
4. Una vez que la sangre esté en el frasco, se debe mezclar con cuidado.
5. Transportar inmediatamente al laboratorio. Se puede mantener en refrigeración a 4-8°C hasta 24 horas posteriores a la toma. Proteger contra golpes.

SECRECIÓN DE OÍDOS

Es fundamental la aplicación de técnicas de asepsia rigurosa. Se debe tomar una muestra de cada oído, aunque sólo uno esté afectado.

1. Con un hisopo estéril tratar de recoger la mayor cantidad de secreción posible. De estar muy seca o escasa, se puede remojar los hisopos en solución salina estéril para facilitar la recolección. El hisopo no debe introducirse más allá del conducto auditivo externo, sin llegar al tímpano.
2. De transportar la muestra inmediatamente, se puede mantener en solución salina, de lo contrario, se debe mantener y transportar en medio Stuart

SECRECIÓN OCULAR

Conjuntivitis: con un hisopo estéril, recolectar el material que se acumula en el ángulo del lacrimal. Preservar y mantener en medio Stuart.

Úlceras corneales: LO REALIZA EL MÉDICO VETERINARIO. Se hace un raspado, cuidadosamente, con una espátula estéril. Se toma muestra de ambos ojos. Preservar y mantener en medio Stuart.

SECRECIÓN VAGINAL

1. Lavar meticulosamente los genitales externos con agua y jabón. Secar con toallas desechables. Desinfectar con alcohol yodado y alcohol antiséptico, alternados, tres veces cada uno.
2. Introducir en el canal vaginal un espéculo estéril.
3. Con un hisopo estéril, realizar barrido del contenido o secreción vaginal.
4. Mezclar la muestra con el medio de transporte adecuado (Cary-Blair para *Campylobacter fetus* y Amies con charcoal para *Tylorella equigenitalis*) y romper el mango del hisopo para eliminar la parte que ha estado en contacto con la mano.
5. Identificar y enviar la muestra al laboratorio.

SEMEN

Se debe evitar hacer la recolección en un lugar donde haya polvo. Además, Se debe preparar al animal, especialmente porque el prepucio es una fuente de contaminación. Para esto, es necesario hacer una limpieza, haciendo masajes cuidadosamente, lo que ayuda al estímulo. Se recomienda utilizar dos guantes de látex, uno encima del otro, para que cuando al finalizar la limpieza, se retire uno y se tenga uno limpio para la recolección. No utilizar guantes empolvados (entalcados).

Indiferentemente del procedimiento utilizado (electroeyaculador, estimulación de órganos sexuales o la vagina artificial) para la obtención de semen:

1. Los frascos o tubos utilizados para la recolección deben estar estériles y no contener ningún preservativo.
2. Las muestras se conservan en refrigeración y deben ser procesadas lo más pronto posible.

AGUA

El tiempo permisible entre la recolección de la muestra y el examen no debe ser mayor a 6 horas para aguas contaminadas y 12 horas para aguas relativamente puras. En ningún caso se debe exceder un lapso de 24 horas. El agua se debe mantener en refrigeración, no en congelación; y debe permanecer así hasta su entrega en el laboratorio.

El volumen recomendado a recolectar es de al menos 100ml.

Grifos o llaves:

1. Desinfectar el grifo impregnando el grifo con alcohol de 70% y prendiéndole fuego. Abrir y dejar correr el agua durante unos minutos.
2. Al momento de tomar la muestra, cerrar un poco la llave para que el agua se pueda recoger sin salpicaduras.
3. Llenar $\frac{3}{4}$ partes del recipiente y cerrarlo bien.
4. Se debe asegurar de rotular bien cada muestra, para no confundir los resultados. Enviar lo más pronto posible al laboratorio.

Ríos, arroyos y lagos

1. Sumergir el recipiente tapado a unos 15-20cm para evitar recoger material flotante.
2. Abrir el frasco con la boca hacia arriba y en dirección contraria a la corriente.
3. Mover el recipiente lentamente en dirección contraria a la corriente conforme se recolecta agua, para evitar que el líquido que toca la mano entre al contenedor.

Pozos sin bomba:

1. Atar una cuerda al cuello del recipiente tapado.
2. Acercar a la superficie del agua y destapar con cuidado de no tocar los bordes del frasco.
3. Inmediatamente sumergir el frasco, evitando el roce con las paredes del pozo.
4. Llenar y tapar rápidamente.

Tanques:

1. Tomar con una mano el recipiente tapado e invertir boca abajo.
2. Sumergir a una distancia de 30cm y destapar con la otra mano. Girar lentamente hasta formar un ángulo de 45° (recipiente inclinado hacia arriba).
3. Llenar $\frac{3}{4}$ partes del frasco, mientras se mueve para que el agua que toca la mano no entre al recipiente.
4. Sacar y tapar inmediatamente.