



## Toma de muestras biológicas para el análisis por el laboratorio clínico

A continuación, se describen los principales aspectos a tener en cuenta para la toma de muestras biológicas.

### Elementos para la toma de muestras:

En términos generales, las consideraciones a tener en cuenta con respecto a los elementos o recipientes para la toma de muestras son las mismas y van encaminadas a preservar las condiciones y propiedades de los analitos a estudiar antes y durante el análisis, tenemos:

- Los elementos empleados para la toma de muestras deben ser insumos nuevos y con fecha vigente y de ser requerido, estériles.
- Para la selección de los envases primarios de toma de muestra es indispensable conocer, por medio de una orden médica, los análisis que se van a requerir de dicha muestra, de tal manera que se seleccionen los tubos o embalajes primarios, con o sin aditivos requeridos, se tome el volumen necesario y además se pueda verificar el cumplimiento de las condiciones del paciente para dichos análisis.

- Los elementos necesarios para la toma de muestras biológicas difieren de acuerdo al sitio anatómico de donde se obtendrá y, en algunas ocasiones, del tipo de lesión, por lo tanto, es importante reconocer las diferentes técnicas de toma de muestras dependiendo del tipo de análisis y condiciones del sitio anatómico.
- Dentro de los elementos para toma de muestras biológicas deben estar siempre incluidas soluciones de desinfección del área anatómica, pero al mismo tiempo reconocer aquellos casos en los cuales no deben ser utilizadas porque pueden alterar los resultados de los analitos.
- Cuando se requiere aditivo o anticoagulante es fundamental mantener la proporción adecuada entre la cantidad de sangre y el anticoagulante o aditivo, ya que una desproporción podría excluir la muestra para su análisis.
- Siempre se deben cumplir las normas de bioseguridad, en cuanto a protección personal, contención de derrames y contaminación de las muestras y eliminar residuos contaminados provenientes de la venopunción (Ver texto sobre fase preanalítica).

Los tubos para toma de muestra venosa están codificados internacionalmente por color en su tapa para indicar el tipo de aditivo o anticoagulante que contienen de acuerdo a la norma ISO 6710. Además, existe un orden estricto de toma de acuerdo a CLSI H3-A6. En la siguiente tabla se observa la codificación y orden de toma:



Tabla 1. Codificación por color de los tubos para recolectar muestras biológicas

Orden de toma	Color tapa	Anticoagulante o aditivo	Aplicación	Mezclado
1	Azul	Citrato de sodio 3,2 %	Determinaciones de coagulación.	3 a 4 veces
2	Amarillo	Gel separador con activador de coágulo	Aditivo: silica, acelera la coagulación. Gel: separación de componentes celulares y el suero.	5 veces
3	Rojo	Tubo rojo sin anticoagulante	Determinación de analitos en suero después de centrifugación.	5 veces
4	Verde	Heparina 7 litio o heparina / sodio	Determinaciones en las que se requiere plasma.	8 a 10 veces
5	Lila	EDTA K <sub>2</sub> o EDTA K <sub>3</sub>	Determinaciones en las que se requiere sangre total.	8 a 10 veces
6	Perla	Gel de polímero y EDTA K <sub>2</sub>	Pruebas de diagnóstico molecular en las que se requiere plasma sin diluir. Carga viral.	8 a 10 veces
7	Gris	Inhibidores glicolíticos: fluoruro de sodio y oxalato de potasio o fluoruro de sodio y EDTA Na <sub>2</sub>	Determinaciones de glucosa o lactato en suero o plasma. Etanol.	8 a 10 veces

Fuente de la tabla: CLSI H3-A6, 2007

El mezclado es el proceso por el cual se obtiene la homogenización de la sangre, de tal manera que no se formen coágulos cuando se requiere sangre total o plasma, o por el contrario cuando se requiere retracción del coágulo porque se va a realizar el análisis en suero. Este debe realizarse por inversión del tubo las veces especificadas por CLSI, sin agitar, sin provocar espuma.

Existen otros tubos especiales que aceleran o activan la coagulación para realizar análisis en 3 a 5 minutos; otros para determinaciones de plomo o exámenes toxicológicos (tapa azul marino) que contienen EDTA, silicón o heparina de sodio; para citometría de flujo se utilizan tubos EDTA con un estabilizante TRANFIX para líquidos corporales, y para errores innatos del metabolismo los tubos pueden ser con EDTA, con heparina de sodio o se utilizan tubos no comerciales que deben ser preparados en el área.

En el proceso de punción para la obtención de gases arteriales con jeringa de gasometría la muestra puede tener origen radial, braquial o femoral. En el caso de muestras capilares, ya sea porque el volumen necesario es mínimo o por dificultad en la toma de muestra sanguínea, se requiere para ello tubos capilares (misma clasificación internacional de colores en la tapa) y lancetas manuales o automáticas. La punción cutánea se puede llevar a cabo en las superficies laterales de la planta del pie; en la superficie lateral del dedo medio o anular de la mano, o en el lóbulo de la oreja. Al escoger el sitio de la punción, evite hacerlo en dedos con quemaduras, excoriaciones o cianóticos.

En general, para la toma de muestra sanguínea, los accesorios tales como torniquetes que facilitan la localización de la vena o el uso de camisas o *holders* con dispositivos de seguridad que disminuyen el riesgo de punciones accidentales facilitan el procedimiento y minimizan la posibilidad de daño al paciente. Al mismo tiempo, es importante saber que su mal uso, como es el caso del uso o sobreexposición al torniquete (más de 1 minuto), puede provocar alteración de algunos analitos como enzimas o hemoconcentración, respectivamente.

En la siguiente lectura de este curso se desarrollará el tema correspondiente a la toma de muestras biológicas con el propósito de realizar análisis microbiológicos.

## Escogencia de la vena para hacer la flebotomía (venopunción)

La flebotomía o venopunción es un procedimiento en el que se usa una aguja para extraer sangre de una vena, habitualmente, para hacer pruebas de laboratorio. Las observaciones inmediatas y la anamnesis realizada a un paciente antes de la venopunción pueden ser útiles para el flebotomista; estas ayudarán a establecer el tipo de paciente, el mejor sitio de punción, las precauciones necesarias y la forma correcta de atención al paciente.

Es recomendable entonces preguntar si existen restricciones para la flebotomía tales como hematomas, escoriaciones de la piel o quemaduras en algún brazo, fístula arteriovenosa para diálisis, cicatrices en las áreas definidas para venopunción o mastectomía reciente debido al riesgo de celulitis. Se debe evitar extraer sangre en el mismo sitio de una inyección intravenosa previa ya que las concentraciones de muchos compuestos pueden resultar erróneamente altos o bajos. Si se trata de un paciente hospitalizado, no se debe tomar la muestra del brazo que se esté utilizando con venoclisis.

Las venas más utilizadas para la venopunción están localizadas en el área antecubital. Los vasos más favorables a la venopunción son las venas cefálicas, basílica y mediana del antebrazo, y las del dorso de la mano; las menos favorables son las de pierna y pie, a causa del riesgo elevado de tromboflebitis.

La vena cubital es la más larga y gruesa de todas y es la preferida por bordear la musculatura del brazo. La vena cefálica tiene iguales características de la anterior, pero es un poco menos gruesa y la vena basílica es más pequeña que las anteriores y está cerca de la arteria braquial, por lo que su punción es riesgosa y su área es más sensible y dolorosa para el paciente.

Por otro lado, existe la posibilidad de una punción capilar. La sangre de la llamada punción capilar es una mezcla de sangre de arteriolas y venosa, más que de capilar. La obtención de sangre por punción capilar es particularmente útil si la punción venosa es riesgosa para el paciente, si no se puede acceder a las venas recomendadas, si las venas se están utilizando para administrar medicamentos o el volumen de sangre requerido no justifica una extracción venosa. Estas circunstancias se aplican a neonatos, lactantes, niños, adultos con quemaduras severas, pacientes muy obesos o en caso de terapias intravenosas.

En el caso de requerir medición de gases arteriales, se debe conocer si el paciente está recibiendo oxígeno o se encuentra con soporte de ventilación mecánica y si el está en tratamiento con anticoagulantes.

## Tipo y utilidad analítica de muestras biológicas

La mayoría de las muestras biológicas se extraen para proceso de analitos metabólicos (azúcares, carbohidratos, enzimas, proteínas, etc.), otras para evaluar los componentes de la sangre, otras para hacer la medición de niveles de drogas, antibióticos, corticoides, inmunosupresores y en general cualquier sustancia ingerida o absorbida.


Por último, están las muestras biológicas extraídas con la finalidad de buscar microorganismos colonizantes o infectantes. Cuando partimos de una muestra sanguínea es claro determinar en qué componente sanguíneo se indica hacer el análisis requerido. La sangre, por proceso de centrifugación, puede ser separada en suero, plasma y una fina capa leucocitaria que se forma entre los glóbulos rojos y el plasma.

En el caso de análisis de errores innatos del metabolismo, las muestras en las cuales se pueden determinar son plasma, saliva, LCR, orina y suero. Todas las muestras deben ser preservadas a la temperatura de conservación indicada para cada analito (puede ser a 4 °C o a -20 °C).

#### ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS ERRORES INNATOS - CONGELADOR TEMPERATURA -20 °C

Orina ocasional y/o seriada	Frasco	Aminoácidos cualitativos, cuantitativos, carbohidratos, ácidos orgánicos, mucopolisacáridos, glicosaminoglicanos.	
Sangre desproteinizada	Chocolate y sobrenadante (transparente)	Relación lactato/piruvato, ácido pirúvico, ácido láctico. Aplica para pacientes fuera de Bogotá	
Plasma EDTA o heparina	Tubo plástico	Aminoácidos cualitativos en plasma, aminoácidos cuantitativos, cuantificación de fenilalanina, y ácidos grasos de cadena larga y muy larga.	
Suero	Tapa amarilla gel o tubo plástico	Arilsulfatasa A en suero y hexosaminidasa total en suero.	
LCR	Tubo de vidrio o plástico	Cuantificación de aminoácidos en LCR (HPLC), relación lactato/piruvato. <b>Almacenar inmediatamente.</b>	
Leucocitos/saliva	Eppendorf o tubo plástico	Medición de enzimas en leucocitos y saliva. Esta muestra tiene una apariencia blanquizca y su volumen es cercano a 1 ml. <b>Almacenar inmediatamente.</b>	

ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS ERRORES INNATOS - NEVERA  
REFRIGERACIÓN TEMPERATURA 4 °C

TIPO DE MUESTRA	TUBO	EXAMEN SOLICITADO	
Sangre total	Lila/azul	Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa/TPP1. Estable 5 días en refrigeración.	
Sangre desproteinizada	Chocolate (sin separar)	Relación lactato/piruvato, ácido pirúvico, ácido láctico.	
Sangre total	Verde	Enzimas leucocitarias tomadas en Bogotá. Adicionar 1,5 ml de reactivo Dextrán, mezclar. Avisar al servicio de Errores Innatos. Horario de recepción: L-V 7 a 2 p. m.	
Sangre total	Amarillo - ACD	Cistina intraleucocitaria, paciente con cita previa. Avisar al servicio de Errores Innatos. Horario de recepción: L-V 7 a 2 p. m.	
Sangre total y sobrenadante	Kit Dextrán heparina	Enzimas leucocitarias y cistina intraleucocitaria tomadas fuera de Bogotá, el kit se compone de 1 o 2 tubos con sangre total y 1 o 2 tubos marcados como sobrenadante. El sobrenadante es de color amarillo-rojizo.	

### Protocolo en la toma de muestras venosas

Algunos puntos importantes generales en cuanto a la toma de muestra venosa son:

- Para llevar a cabo la venopunción se deben tener en cuenta los cinco (5) momentos para higiene de manos: antes del contacto con el paciente, antes de realizar la tarea aséptica, después de la exposición a líquidos corporales, después del contacto con el paciente, después del contacto con el entorno del paciente.

- Verificar la necesidad de consentimiento firmado, ficha toxicológica, ficha de notificación, historia clínica o cualquier otro documento que sea necesario para el procesamiento de la muestra.
- Prepare con anticipación los elementos necesarios para la toma de muestra.
- Prepare con anticipación los elementos necesarios para la toma de muestra y marque los elementos de embalaje a utilizar en la toma.
- Utilice elementos de protección personal durante todo el proceso.
- Busque una posición cómoda para el paciente y con buena iluminación.
- Realice la técnica de detección de vena siempre, por más seguro que se sienta para realizar el procedimiento: 1) observación de vena de mayor calibre, 2) apertura y cierre de mano para reducir la presión y relajar el músculo, 3) masajear el brazo suavemente, 4) palpación con dedo índice de la vena, 5) fijar la vena con los dedos en caso de flacidez.
- Obtenga un apropiado volumen de muestra de acuerdo a la cantidad de exámenes a procesar. Tenga en cuenta que para las muestras sanguíneas es importante conservar la relación anticoagulante/muestra y en las muestras microbiológicas material insuficiente puede ser causa de resultados falsos negativos.

### Procedimiento para la punción venosa:

- Colocar el torniquete a 4 cm por encima del sitio donde se va a puncionar.
- Realizar la técnica de detección de vena.
- Realizar limpieza del sitio donde se realizará la punción utilizando alcohol isopropílico al 70 % del centro hacia la periferia (cuando se toma muestra para detección de alcoholes esta limpieza debe realizarse con solución salina estéril).
- Colocar la punta de la aguja en un ángulo de 15 grados sobre la superficie de la vena escogida y atravesar la piel con un movimiento firme y seguro hasta el lumen de la vena.
- Puncionar la vena, en lo posible, con un solo movimiento directo y único en piel y vena.
- Retirar el torniquete tan pronto comience a fluir la sangre dentro del tubo o la jeringa.
- Tomar los tubos que sean necesarios. Una vez lleno el último, retire la aguja.
- Colocar una gasa o algodón firmemente en el sitio de la venopunción mínimo por 1 minuto.
- Realizar mezclado por inversión de los tubos tomados.

## Procedimiento para la punción capilar:

- Escoger el sitio de la punción (dedo, talón, lóbulo de oreja) y dar un ligero masaje al área para concentrar la sangre.
- Limpiar el sitio con alcohol etílico o isopropílico al 70 %.
- Sostener el dedo o área a puncionar y con la otra sostener la lanceta.
- Hacer la punción con la lanceta realizando un movimiento rápido, firme y profundo.
- Descartar la primera gota de sangre, que contiene líquido tisular, limpiándolo con el algodón.
- Presionar el dedo para hacer salir la sangre, procurando que sea de manera ininterrumpida.
- Una vez tomada la muestra, sellar los tubos capilares con sellador o los microtubos con su tapa. Los microtubos y capilares con anticoagulantes deben ser invertidos suavemente por lo menos 10 veces para evitar su coagulación.
- Colocar el algodón sobre el sitio puncionado haciendo presión para parar el sangramiento.

Terminamos el texto recordándoles que en la siguiente unidad del curso trataremos los aspectos relacionados con la toma de muestras para diagnóstico microbiológico.

## Referencias bibliográficas

- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), Collection, transport and processing of blood specimen for testing plasma-based coagulation assays. Approved Standards 6th Ed 2004. Wayne, PA: CLSI, Document H4-A5.
- CLSI H3-A6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture: Approved Standard. 6th ed. Wayne PA. Clinical and Laboratory Standard Institute; 2007.
- Lima-Oliveira G, Volanski W, Lippi G, Picheth G, Guidi GC. Pre-analytical phase management: a review of the procedures from patient preparation to laboratory analysis. Scand J Clin Lab Invest. 2017 May;77(3):153-163.
- Sheppard CA, Channell C. Ritchie JC., Duncan A., Preanalytical variables in coagulation testing. Letter to the editor. Blood. Coagul. Fibrinolysis. 2006; 17: 425-428
- Raijmakers MTM, Menting CHF, Valder HL, et al. Collection of blood specimens by venipuncture for plasma-based coagulation assays: necessity of a discard tube. Am. J. Clin. Pathol. 2010; 133: 331-335.
- Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, et. Al., Impact of the phlebotomy training based on CLSI/NCCLS H03-A6 - procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Biochem Med. 2012;22(3):342-51
- Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, et.al.. Laboratory Diagnostics and Quality of Blood Collection. J Med Biochem. 2015 Jul;34(3):288-294.