



Consideraciones para el manejo de muestras biológicas especiales

Dando continuidad al tema de muestras biológicas, en esta lectura se presenta el protocolo para la toma de muestras microbiológicas, así como algunas consideraciones de muestras especiales que deben ser tenidas en cuenta de acuerdo con el área de análisis. De igual forma, se exponen cuáles son los criterios de inclusión y rechazo de muestras, finalmente se hace una explicación sobre la forma de hacer operativa la custodia de muestras.

Protocolos en toma de muestras microbiológicas

En general, para la toma de muestras microbiológicas se requiere de elementos estériles de toma (tubos, láminas, bajalenguas, hisopos etc.).

Muestra de orina: en el caso de las muestras de orina para urocultivo existe la posibilidad de tomar la muestra por micción espontánea, que es cuando el paciente puede tomar la muestra en su casa o en el hospital y entregarla para su análisis. Para esta toma deben dársele al paciente las indicaciones correctas para hacerlo: lavado periuretral previo de genitales, separación de labios vaginales en el caso de la mujer o recogimiento de prepucio en el caso de los hombres, dejar caer la primera parte de la orina y recoger la orina de la micción media en un frasco boca ancha nuevo.

Existe también la muestra tomada por catéter para pacientes sin control voluntario de esfínteres (niños, neonatos), que debe evitarse si es posible ya que existe un riesgo de arrastrar microbiota normal hasta la vejiga produciendo así una infección iatrogénica. Se debe descartar la primera parte de la orina ya que se contamina al rozar la punta del catéter con la mucosa uretral. La orina se recoge en el tubo estéril que lleva conectado el catéter. Algunas veces el médico opta, en el caso de los niños y neonatos, por colocar bolsa recolectora de orina para evitar utilizar catéter.

El Gold Standard para toma de muestra de orina es la punción suprapúbica, la cual es una extracción directa con aguja y jeringa de orina desde el riñón, este es un procedimiento médico casi exclusivo en neonatos y niños pequeños. Ahora bien, cuando se encuentra el paciente con catéter derivado del riñón, la muestra puede recolectarse de allí y se debe hacer la anotación de que fue tomada de nefrostomía.

Las muestras pueden ser tomadas en frascos nuevos de boca ancha, pero deberán analizarse antes de quince (15) minutos para que no pierdan su estabilidad o ser transferidas a tubos especiales con conservantes como ácido bórico donde pueden conservarse hasta veinticuatro (24) horas a temperatura ambiente. En caso de que se requiera análisis para micobacterias en orina, las indicaciones para el paciente deben ser tomar la primera orina de la mañana en su totalidad, ojalá de forma seriada, es decir, tres (3) días seguidos. Es indispensable que siempre se aclare cuál fue la técnica utilizada para su toma ya que hace parte de los criterios de interpretación en la lectura del cultivo.

Líquidos corporales: la toma de líquidos corporales es una práctica netamente médica, sin embargo, todos debemos conocer los requerimientos generales tales como verificar antes de la punción si se requieren estudios, además de los cultivos, citológico y químico, o estudios inmunológicos; de ser así, se deberá tomar muestra para cada una de las áreas implicadas. Por ejemplo, para análisis citológicos, se trabajará con muestra total. Algunos líquidos tienden a coagularse, por lo tanto, se deben tomar en tubos con anticoagulante (tubo lila – EDTA), este es el caso del líquido pleural, pericárdico y peritoneal. La muestra para microbiología debe tomarse en tubo seco estéril y solo debe ser procesado para pruebas microbiológicas. Puede suceder que se envíe al laboratorio la jeringa donde fue recolectado el líquido, esta debe siempre llegar con el capuchón cubriendo la aguja y sin derrames visibles. En caso de que el médico requiera búsqueda de anaerobios en la muestra es indispensable que esta llegue al laboratorio en la jeringa donde fue tomado, sin presencia de aire al interior.

Aspirado gástrico: el estudio de este líquido se realiza en búsqueda de infección bacteriana del líquido amniótico, inflamación de la placenta o del canal del parto, o infección vaginal o urinaria de la madre en el momento del parto que puedan hacer pensar en una posible infección sistémica en el niño. Su utilidad está más encaminada a analizar infección por micobacterias ante la imposibilidad de toma de muestras de esputo y otras respiratorias, para esto la muestra debe ser tomada en un tubo entregado por el laboratorio que contiene 2 ml de fosfato trisódico al 10 % (FTS) por cada 10 ml de material gástrico.

Secreción vaginal o uretral: en ambos casos es indispensable siempre realizar consentimiento verbal del procedimiento a realizar. Se deben dar indicaciones antes de la toma de muestra como son: no uso de duchas vaginales veinticuatro (24) horas antes, finalización de la menstruación mínimo 4 a 5 días antes de la toma, no uso de lubricantes ni cremas, no relaciones sexuales tres (3) días antes de la toma y, en el caso de paciente pediátrica (menor de 2 años), no se debe realizar aseo genital. En el caso del flujo vaginal, se debe realizar medición de pH inmediatamente se toma la muestra ya que la solución salina altera el resultado. Deben ser trasladadas y procesadas estas muestras antes de dos (2) horas ya que algunos microorganismos como *Trichomona vaginalis* pueden morir y dar resultados falsos negativos.

Para el cultivo de flujo vaginal se debe recolectar la muestra en medio de transporte sin o con carbón activado, también tomar muestra con hisopo y colocarlo en solución salina; por último, tomar muestra con hisopo de canal exo y endocervical (si es posible) y depositar en una lámina. Los dos (2) únicos casos en los cuales no es debido tomar la muestra utilizando espéculo son en mujeres embarazadas o mujeres con himen intacto. Al introducir el espéculo y tener la posibilidad de observar las condiciones de la superficie del tejido endocervical cualquier presencia de lesión o exudado de color u olor anormal debe anotarse en la orden ya que es muy importante a la hora de realizar la interpretación del cultivo.

En el caso de secreción uretral el paciente no debe haber tenido relaciones sexuales veinticuatro (24) horas antes de la toma, no utilizar ningún tipo de lubricante o crema y se requiere retención urinaria mínimo de una (1) hora. Se debe tomar la muestra con medio de transporte sin o con carbón activado y luego otra muestra con hisopo para realizar una lámina. Las láminas deben dejarse secar al ambiente y nunca forzar su secado. Igualmente, como en la mujer, la anotación de cualquier anomalía en el aspecto de la secreción o algún tipo de lesión observada debe reportarse en la orden. Por ningún motivo debe tomarse muestra de lesiones encontradas.

Tejidos, aspirados y hueso: las muestras de tejidos y hueso deben ser siempre preservadas en condiciones adecuadas de humedad, adicionando una cantidad proporcional de solución salina al envase primario de recolección. Siempre deben mantenerse a temperatura ambiente durante el transporte al laboratorio de manera inmediata ya que no tienen ningún tipo de conservante.

En el caso de los aspirados realizados a pústulas, pápulas, nódulos o abscesos estos deben tomarse y enviarse en la jeringa quitando previamente el contenido de aire que haya quedado dentro, de tal manera que se puedan realizar todo tipo de cultivos, inclusive anaerobios. Existe la posibilidad también de tomar secreciones con hisopo en medio de transporte, pero no es una muestra representativa de la infección. Para búsqueda de infección de tejidos blandos la muestra idónea es la biopsia de tejido.

Hemocultivo y catéter: la toma de hemocultivo puede realizarse en cualquier momento, prepico, pico o pospico febril. El médico siempre deberá colocar en la orden si su interés es únicamente la toma de hemocultivos periféricos, o de catéter periférico o central, y además si se realiza o no retiro de catéter y envío para cultivo.

Para un adulto el set de hemocultivos debe ser: dos (2) botellas para búsqueda de aerobios y una (1) botella para búsqueda de anaerobios. Para los niños el set consiste en la toma de dos (2) botellas pediátricas. Si se requiere búsqueda de hongos en sangre, estos se pueden buscar en la botella aerobia, y si se requiere búsqueda de micobacterias, se debe emplear una botella específica para estos microorganismos. El volumen a tomar será siempre una relación 1:10 para adultos y 1:2 para pediátricos.

La muestra de sangre tomada del catéter siempre debe ir en botella para aerobios y el cultivo de catéter siempre deberá ir acompañado de un set de hemocultivos que incluyan toma de muestra del catéter que se quiere evaluar.

Secreciones respiratorias: las muestras en las que se pueden hacer la búsqueda de infección bacteriana respiratoria son: frotis faríngeo, que requiere ayuno solamente si la muestra es para cultivo, no usar enjuague bucal y tomar hisopo en medio de transporte; esputo, enfrasco de boca ancha, muestras seriadas, expectoración no saliva, frasco cubierto a la luz si es para búsqueda de micobacterias, y lavado bronquial o lavado broncoalveolar, para procedimientos médicos, recolección frasco de boca ancha especial para fibrobronoscopias.

En ninguno de los casos las muestras son recuperadas con conservantes, por lo tanto, es indispensable el traslado rápido al laboratorio para su análisis. Para búsqueda de infección respiratoria bacteriana el Gold Standard es el lavado broncoalveolar, ya que es la muestra menos colonizada de todas las respiratorias.

La muestra de frotis faríngeo puede tener varias utilidades: salud ocupacional para manipuladores de alimentos; búsqueda de infección bacteriana o por hongos, o búsqueda rápida de *Streptococcus pyogenes* o del grupo A. Para este último interés, no es necesario ayuno, es una prueba que se realiza estando el paciente en urgencias y el resultado es inmediato. Para la búsqueda de micobacterias en esputo se requiere de tres (3) muestras seriadas tomadas en frasco de boca ancha cubierto para evitar la luz.

Transporte de muestras microbiológicas: el transporte debe ser siempre a temperatura ambiente y por un tiempo corto, de inmediato en caso de no contar con medio conservante. Se recomienda contar con medios de transporte y conservación de microorganismos. Debemos pensar que si existen microorganismos en la muestra tomada, estos, a medida que pasa el tiempo, pueden morir y dar resultados falsos negativos en los cultivos o tener un sobrecrecimiento que no le permitirá al médico diferenciar entre colonización y verdadera infección.

El medio de transporte Stuart es un medio de conservación y transporte que puede ser sin o con carbón activado y permite mantener la viabilidad de los microorganismos presentes en la muestra sin que exista un crecimiento significativo. En general, es recomendado para secreciones de garganta, vaginales, heridas y urogenital causadas por microorganismos exigentes o difíciles de mantener viables como son: *Neisseria spp.*, *Streptococcus spp.*, *Haemophilus spp.* y *Listeria spp.*, manteniéndolos en óptimas condiciones para el cultivo hasta después de cuarenta y ocho (48) horas. Incluso, este medio es ideal para la búsqueda de microorganismos anaerobios. En la siguiente tabla se describe el tipo de embalaje requerido para diferentes tipos de muestras para análisis microbiológico:

Tabla 1. Embalaje requerido para análisis microbiológico.

Tipo de muestra	Embalaje requerido
Sangre o médula ósea	Botellas de medio líquido (aerobios, anaerobios, hongos o micobacterias)
Líquidos corporales menos sangre y médula ósea	Tubo seco tapa roja (sin gel)
Secreciones	Aspiración: jeringa o tubo tapa roja sin gel Superficial: hisopo estéril en medio de transporte
Biopsia o hueso	Tubo seco con solución salina estéril o frasco de boca ancha con solución salina estéril
Catéter	Tubo seco sin gel
Materia fecal	Frasco de boca ancha o hisopado en tubo seco (niños)
Secreciones respiratorias	Frasco de boca ancha (esputo, lavado bronquial o lavado broncoalveolar)
Flujo vaginal	Hisopado en solución salina Hisopado en medio de transporte
Secreciones uretrales	Hisopado en medio de transporte
Uñas, pelo, piel	Caja de Petri estéril (tomado por raspado)

Consideraciones de muestras de acuerdo con el área de análisis

En las siguientes tablas se presentan algunas consideraciones especiales que se deben tener en cuenta con la toma de muestra de algunos analitos para procesamiento en las áreas de inmunología, química, citometría de flujo y errores innatos del metabolismo.

Tabla 2. Condiciones especiales para muestras de inmunología, química, citometría de flujo y errores innatos del metabolismo.

Área	Analitos	Condiciones especiales
Inmunología	Etanol	No desinfectar el área a puncionar con alcohol. Tomar dos (2) tubos tapa gris. No destaparlos en ningún momento. Llenar ficha toxicológica. Únicos para esta prueba, no se comparten.
	Alcohol metílico	Dos (2) tubos tapa roja, sin destapar. Únicos para esta prueba, no se comparten.
	ACTH y renina	Dos (2) tubos tapa roja, sin destapar. Únicos para esta prueba, no se comparten.
	TSH neonatal	Tomar con capilar en tarjeta de lectura (papel de filtro). Dejar secar al ambiente. No forzar el secado.
	VIH	Diligenciar el consentimiento informado.
	Ácido fólico y vitamina B ₁₂	Proteger de la luz directa.
	Ciclosporina y tacrolimus	Tubo tapa lila. Tomar la muestra dos (2) horas antes o dos (2) horas después del medicamento. Según indicación médica.
	Galactomanano	Tubo con gel. Único tubo para esta muestra, no se puede compartir.
Química	Calcio iónico	Tomar sin torniquete en tubo seco con gel. No destapar la muestra. Único tubo para esta muestra, no se puede compartir.
	Amonio y ácido láctico	Tomar en tubo tapa verde y tubo tapa gris, respectivamente. Bajar con pila de refrigeración, centrifugar y procesar inmediatamente.
	Orina recolección 24 horas	Recolectar todo el volumen obtenido, excepto la primera orina del día en que inició la recolección. Solicitar recipiente en el laboratorio.

Errores Innatos del metabolismo	Muestra de orina	Recoger en frasco recolector de orina la primera orina de la mañana o paciente en crisis. Mantener congelada a -20 °C.
	Muestra de plasma	Ayuno mínimo de ocho (8) horas para pacientes mayores de tres (3) años.
		Ayuno de tres (3) horas para pacientes menores a tres (3) años.
	Muestra de suero	No requiere ayuno. Mantener relación anticagulante/sangre total.
	Saliva, LCR	Requiere congelación.
Citometría de flujo	Sangre periférica y médula ósea	Deben tomarse en tubo tapa lila.
	Líquidos corporales	Tubo transFix (estabilizante).
	Biopsias	Solución salina.

Fuente: autor del texto

Criterios de inclusión y rechazo de muestras

En términos generales, la inclusión de una muestra está dada por el cumplimiento de los denominados cinco (5) *correctos* de toma de muestras biológicas: paciente correcto; exámenes correctos; condiciones y contenedor correcto; volumen de muestra correcta y muestra correcta a la temperatura correcta.

Por lo tanto, los criterios de exclusión serán aquellos que no garanticen la idoneidad, calidad y condiciones de estabilidad que hagan que esta muestra sea fiel representación de estado del paciente. Cuando se omiten algunos de estos requisitos de inclusión, el laboratorio debe solicitar nueva muestra. Ahora bien, hay algunas circunstancias por las cuales no es posible repetir el procedimiento o tomar nueva muestra, en ese caso el médico deberá avalar y hacerse responsable del procesamiento de la muestra a pesar de tener criterios de exclusión. Esta responsabilidad que asume el médico o jefe encargada del servicio debe quedar consignada en un formato institucional. De esta manera, el laboratorio podrá analizar la muestra y emitir un resultado, pero debe quedar registrada en el sistema la nota de excepción y, por ende, será visible en la historia clínica del paciente.

Cada institución es libre de generar sus propios criterios de exclusión de muestras biológicas. En la siguiente lista se encuentran las más utilizadas:

- Muestra no marcada o identificada.
- No concordancia entre la identificación del usuario y la muestra.
- Embalaje primario inapropiado o medio de transporte inadecuado.
- Tiempo de envío de la muestra al laboratorio.
- No indicar en la orden el tipo de examen, tipo de muestra o procedencia.
- Muestra derramada o rotura del envase.
- Hisopos secos.
- Volumen inadecuado o insuficiente de muestra.
- Muestra coagulada o hemolizada.
- Muestra recolectada sin atender las indicaciones previas hechas por el laboratorio.

Operativización de la custodia de muestras

Como se estudió en el texto 3 de la Unidad 1, la cadena de custodia es un proceso que permite asegurar las características originales de los elementos material de prueba (EMP) o evidencia física (EF) desde su recolección hasta su disposición final.

Hay dos (2) tipos de muestras en custodia:

- Muestras asistenciales: son todas aquellas muestras que solicita el médico tratante y que son procesadas en el laboratorio clínico, pero que su resultado eventualmente puede ser materia de prueba de un delito.
- Muestras judiciales: son todas aquellas muestras que solicita el médico tratante para anexar a la cadena custodia las cuales son almacenadas y entregadas a la autoridad judicial. Estas no son analizadas por personal del hospital.

En la siguiente tabla podemos observar algunas muestras consideradas asistenciales y otras consideradas judiciales, en el caso de custodia de muestras por abuso sexual:

Tabla 2. Muestras asistenciales y muestras judiciales

MUESTRAS ASISTENCIALES	MUESTRAS JUDICIALES
Para la búsqueda de espermatozoides: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Frotis faríngeo ✓ Frotis vaginal ✓ Frotis rectal 	Para la búsqueda del semen del agresor: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Preservativo ✓ Frotis faríngeo ✓ Examen oral ✓ Frotis vaginal ✓ Frotis rectal ✓ Frotis meato uretral
Para la búsqueda de otras fuentes de trazas de evidencia del agresor: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Frotis meato uretral 	Para la búsqueda de cabellos del agresor: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Las muestras de cabello al mostrar un patrón propio por el cual se debe obtener muestras de unos veinte (20) cabellos, por peinado o arrancamiento, así mismo peinado de vello púbico incluyendo los de la víctima.
Para búsqueda de tóxicos: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Etanol ✓ Drogas de abuso: opiáceos, cannabinoides, cocaína, anfeta/metanfetaminas, barbitúricos ✓ Metanol 	Para la búsqueda de saliva del agresor: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Frotis de la región del cuerpo con sospecha de obtener este tipo de muestra
Para la búsqueda de gestación: BHCG cuantitativa	
Para la búsqueda de ITS y VIH/SIDA: <ul style="list-style-type: none"> ✓ HIV ✓ Herpes ✓ Serología ✓ Hepatitis B ✓ Cultivo para búsqueda de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ✓ Examen en fresco para búsqueda de <i>Trichomona vaginalis</i> ✓ Frotis para búsqueda de diplococos gram negativos intracelulares compatibles con <i>Neisseria gonorrhoeae</i> y hongos 	

Fuente: autor del texto

Se debe establecer una cadena de custodia de las evidencias desde su recolección, toma, embalaje y conservación de las muestras. Esta custodia debe ser registrada en los formatos autorizados y avalados por la Fiscalía General de la Nación colombiana. Se debe estar actualizado en la versión correspondiente y actual de estos formatos ya que se considerarán inválidas las muestras si la información está diligenciada en formatos diferentes o desactualizados.

En cuanto a la operativización de la cadena de custodia en casos de abuso sexual, algunas generalidades son:

- Solo aplica para las muestras de tipo judicial, aquellas que no serán procesadas por el laboratorio clínico y que serán almacenadas con el fin de ser entregadas a la entidad judicial en el momento de la solicitud.
- Es responsabilidad del personal médico que halla y recolecta las muestras realizar este proceso teniendo en cuenta conservar la integridad y validez de los elementos, materia de prueba o evidencia física.
- El médico, a medida que va recolectando las muestras, debe ir diligenciando los formatos de custodia y rótulos ya que estos piden información de características de la muestra y hallazgo. Cada muestra debe depositarse en una bolsa transparente sin logos, ojalá de un calibre grueso, que permita la visualización de su contenido.
- Se realiza de manera individual en el contenedor primario con sus respectivos rótulos.
- Se requiere tanto formatos de registro y custodia de las muestras como consentimiento informado para la toma de las mismas.

Existe un formato de custodia de muestras y un formato de rotulación para cada muestra. En cuanto a estos dos (2) formatos:

- Las casillas denominadas “descripción del elemento de prueba o evidencia física”, presentes en ambos formatos, deben contener, en palabras y signos de puntuación, las mismas características y descripción, o de lo contrario se invalidan.
- Deben ser diligenciados en bolígrafo de tinta negra, con letra imprenta, clara y legible.
- Debe diligenciarse por cada evidencia o elemento materia de prueba un rótulo y un registro de cadena de custodia.
- Debe ser diligenciado en orden quién halló, quién recolectó y quién embolsó.

- Diligenciar el registro de continuidad de los elementos materia de prueba o evidencia. En orden cronológico se registran las personas custodias de las evidencias.
- Las hojas de registro no deben ir sueltas y deben ir impresas por ambas caras de la hoja.
- El laboratorio clínico es responsable solo de la recepción y deberá verificar que se haya realizado lo descrito anteriormente.

El laboratorio debe contar con un espacio para custodia de muestras biológicas. Como estas deben estar refrigeradas, las neveras donde se guardan deben ser únicamente para este propósito. Deben permanecer siempre seguras y debe haber un máximo dos (2) personas que tengan acceso a ese espacio.

Si nos preguntamos quién tiene responsabilidad en la cadena de custodia, la respuesta es todo el personal de los servicios de salud que entren en contacto con elementos materiales probatorios y evidencia física, son responsables por su recolección, preservación y entrega a la autoridad correspondiente (Ley 906 del 2004, Código de Procedimiento Penal, artículo 255).

Referencias bibliográficas

Gram Stain. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Isenberg HD (Ed). ASM Press. Washington D.C. 2012

Collection, transport and manipulation of clinical specimens and initial laboratory concerns. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Isenberg HD (Ed). ASM Press. Washington D.C. 2016.

Principles and Procedures for Blood Cultures, 1st Edition. CLSI. 2012

Manual para la toma de muestras para análisis microbiológico. Secretaria Distrital de salud. Colombia. 2008

Manual de procedimientos de cadena de custodia. Fiscalía General de la Nación. Colombia. Julio, 2016

Ley 906 del 2004, Código de Procedimiento Penal, artículo 255. Colombia. S.f