

Técnicas de muestreo

Miguel Ángel Ayala

Silvana Nora Milocco (coordinadores)

n
naturales

FACULTAD DE
CIENCIAS VETERINARIAS


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

TÉCNICAS DE MUESTREO

Miguel Ángel Ayala
Silvana Nora Milocco
(coordinadores)

Facultad de Ciencias Veterinarias



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA



Agradecimiento

A la Universidad Nacional de La Plata, por brindarnos el marco institucional y la oportunidad de concretar esta publicación.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP y a la Cátedra de Animales de Laboratorio y Bioterio, por ser el espacio donde comenzamos a transitar el camino del conocimiento y seguimos cultivando la vocación por la ciencia de los animales de laboratorio.

A nuestros maestros, por encender en nosotros la curiosidad, el espíritu crítico y la pasión por aprender.

A nuestros colaboradores y estudiantes, cuya participación, preguntas e interés renovado fueron el motor que nos impulsó a mejorar y asumir el desafío de escribir este libro.

Y, especialmente, a nuestras familias y amigos, por su apoyo incondicional, por sostenernos en los momentos difíciles, y por acompañarnos con paciencia, comprensión y afecto en cada etapa de este proyecto.

Solo mediante la reverencia por la vida podemos establecer una relación espiritual y humana con las personas y con todas las criaturas vivientes dentro de nuestro alcance. Solo de esta manera podemos evitar dañar a otros y, dentro de los límites de nuestra capacidad, acudir en su ayuda siempre que lo necesiten.

— Albert Schweitzer, *Reverence for Life* (1969)

Índice

Introducción	7
---------------------	---

Capítulo 1

El rol del microbiólogo en la toma de muestra	8
---	---

Miguel Ángel Ayala

Capítulo 2

Bioseguridad en la toma de muestra	12
------------------------------------	----

Andrea Silvia Pacha

Capítulo 3

La orden o solicitud médica	15
-----------------------------	----

Miguel Ángel Ayala

Capítulo 4

Recepción de la muestra en el laboratorio de microbiología	18
--	----

Miguel Ángel Ayala

Capítulo 5

Hemocultivos y muestras afines	22
--------------------------------	----

Andrea Silvia Pacha

Capítulo 6

Urocultivos y muestras urinarias	27
----------------------------------	----

Andrea Silvia Pacha y Miguel Ángel Ayala

Capítulo 7

Líquidos de punción y biopsias	30
--------------------------------	----

Andrea Silvia Pacha y Silvana Nora Milocco

Capítulo 8

Muestras respiratorias	34
------------------------	----

Miguel Ángel Ayala y Andrea Silvia Pacha

Capítulo 9

Muestras genitales	37
--------------------	----

Miguel Ángel Ayala

Capítulo 10

Enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs) _____ 40

Andrea Silvia Pacha y Silvana Nora Milocco

Capítulo 11

Muestras especiales: Tuberculosis, micología, lepra, quemados _____ 44

Andrea Silvia Pacha

Capítulo 12

Procedimientos y jerarquización de muestras clínicas _____ 48

Andrea Silvia Pacha

Capítulo 13

Toma de muestra microbiológica en agua, aire, suelo y ambiente _____ 52

Martín Carriquiriborde y Johana Pamela Almirón

Capítulo 14

Toma de muestra microbiológica en medicina veterinaria _____ 56

María Clara Vercellini y Johana Pamela Almirón

Capítulo 15

Toma de muestra microbiológica en alimentos _____ 59

Miguel Ángel Ayala y María Clara Vercellini

Los autores _____ 64

Introducción

El análisis microbiológico de muestras clínicas y ambientales constituye una herramienta fundamental en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, el control epidemiológico y la toma de decisiones terapéuticas y sanitarias. Desde la correcta solicitud médica hasta la interpretación final de los resultados, cada etapa del proceso requiere criterios técnicos rigurosos, procedimientos normalizados y una comunicación efectiva entre el equipo de salud o veterinario y el laboratorio.

El presente trabajo aborda los aspectos esenciales de la toma, conservación y transporte de diferentes tipos de muestras microbiológicas, considerando tanto las particularidades de los materiales clínicos como las implicancias bioéticas, legales y de bioseguridad. A través de los distintos capítulos, se desarrollan los procedimientos recomendados para muestras humanas y animales, incluyendo fluidos estériles, secreciones, tejidos, muestras ambientales y alimentos, así como los criterios para su jerarquización, procesamiento e interpretación.

Se busca proporcionar un marco teórico y práctico que sirva como guía para profesionales y técnicos involucrados en el diagnóstico microbiológico, promoviendo la mejora continua de la calidad en los laboratorios, el respeto por las normativas vigentes y la colaboración interdisciplinaria en contextos clínicos, veterinarios y de salud pública.

CAPÍTULO 1

El Rol del Microbiólogo en la Toma de Muestra

Miguel Ángel Ayala

Introducción

La correcta toma de muestra es una etapa crítica en el proceso diagnóstico microbiológico. El microbiólogo clínico tiene un rol clave no solo en la recepción y análisis de las muestras, sino también en orientar y supervisar el proceso de recolección para garantizar la validez del análisis microbiológico (Forbes et al., 2017).

Rol del Microbiólogo en la Toma de Muestra

El microbiólogo actúa como nexo entre el equipo clínico y el laboratorio, asegurando que las muestras sean recolectadas en condiciones óptimas, con mínima contaminación y de acuerdo con los protocolos establecidos (OMS, 2003). Además, capacita al personal de salud sobre técnicas adecuadas y criterios de aceptación/rechazo de muestras, y participa en el diseño de guías institucionales de toma de muestras (Ministerio de Salud de la Nación Argentina, 2017).

Clasificación de las muestras

Clasificación por patología

Infecciones respiratorias: esputo, aspirado traqueal, lavado bronco alveolar (Bauman & Macharia, 2020).

Infecciones urinarias: orina por micción media, catéter, punción suprapúbica.

Infecciones gastrointestinales: materia fecal, hisopado rectal.

Sepsis y bacteriemias: hemocultivos (Tortora et al., 2019).

Infecciones de piel y tejidos blandos: pus, secreciones, biopsias.

Meningitis: líquido cefalorraquídeo (Forbes et al., 2017).

Clasificación por sitio anatómico

Tracto respiratorio superior e inferior (Tortora & Derrickson, 2020).

Aparato genitourinario.

Tracto digestivo.

Sistema nervioso central.

Sangre y sistema circulatorio.

Tipos de muestras

Muestras estériles (tejidos, LCR, sangre).

Muestras no estériles (orina, esputo, heces).

Otros atributos

Muestras urgentes vs. rutinarias.

Muestras de vigilancia vs. diagnóstico clínico.

Muestras individuales vs. agrupadas (pools).

Muestras para cultivo, PCR, serología, microscopía directa (Collee et al., 1996).

Preparación para la toma de muestra

Verificación de identidad del paciente y solicitud médica.

Aseo adecuado del sitio anatómico para la toma de la muestra.

Uso de técnica aséptica y elementos de protección personal (OMS, 2003).

Elección del contenedor adecuado según el tipo de análisis.

Etiquetado correcto con fecha, hora, nombre y sitio anatómico.

Material, técnicas por utilizar y elementos de protección personal

Guantes estériles, ambo, guardapolvo, cofia, barbijos, gafas entre otros, hisopos con medio de transporte, tubos estériles, frascos para cultivo.

Técnicas específicas: punción venosa para hemocultivo, hisopado nasofaríngeo, aspiración con jeringa, recolección de orina con técnica de chorro medio.

Mantenimiento de la cadena de frío cuando sea necesario (Ministerio de Salud de la Nación Argentina, 2017).

Transporte inmediato al laboratorio o conservación adecuada si hay demora.

Nociones de anatomía

Topográfica humana de los sitios de toma de muestra

La anatomía topográfica estudia la relación entre estructuras anatómicas en regiones específicas del cuerpo (Moore et al., 2018; Netter, 2020). Esta información es indispensable para una correcta toma de muestras microbiológicas.

Principales sitios anatómicos

Cavidad Nasal y Nasofaringe: frecuentes para virus respiratorios como SARS-CoV-2 e Influenza (Ross & Pawlina, 2020).

Orofaringe: clave en el diagnóstico de *Streptococcus pyogenes*.

Tracto Respiratorio Inferior: lavado bronco alveolar con broncoscopia.

Cavidad Bucal y Dientes: lesiones y abscesos.

Sistema Urinario: evitar contaminación perineal.

Aparato Digestivo Bajo: hisopado rectal para diagnóstico de *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *E. coli* spp (Bauman & Macharia, 2020).

Sistema Nervioso Central: punción lumbar entre L3-L4 o L4-L5.

Piel y Tejido Subcutáneo: úlceras, heridas, abscesos.

Sangre (Sistema Circulatorio): venas periféricas o centrales.

Genitales masculino o femenino: cuello uterino y uretra según el sexo (Moore et al., 2018).

Conclusión

Una toma de muestra adecuada depende tanto del conocimiento técnico como de la coordinación entre el personal de salud. El microbiólogo debe garantizar la calidad del proceso desde el inicio, ya que un error en esta etapa puede comprometer el diagnóstico, el tratamiento y la seguridad del paciente (Forbes et al., 2017).

Referencias

- Bauman, R. W., & Macharia, P. (2020). Microbiología con enfermedades por taxonomía (5.^a ed.). Pearson Educación.
- Collee, J. G., Fraser, A. G., Marmion, B. P., & Simmons, A. (1996). Mackie & McCartney Manual of Medical Microbiology (14th ed.). Churchill Livingstone.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2017). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico (13.^a ed.). Elsevier España.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2019). Microbiología (12.^a ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2020). Histología. Texto y atlas (8.^a ed.). Wolters Kluwer Health.
- Moore, K. L., Dalley, A. F., & Agur, A. M. R. (2018). Anatomía con orientación clínica (8.^a ed.). Wolters Kluwer.
- Netter, F. H. (2020). Atlas de anatomía humana (7.^a ed.). Elsevier.
- Organización Mundial de la Salud. (2003). Manual de procedimientos estándar para la toma de muestras biológicas. OMS. <https://www.who.int>
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. H. (2020). Principios de anatomía y fisiología (15.^a ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2020). Histología. Texto y atlas (8.^a ed.). Wolters Kluwer Health.
- Ministerio de Salud de la Nación Argentina. (2017). Manual de toma y transporte de muestras para diagnóstico microbiológico. <https://www.argentina.gob.ar/salud>

CAPÍTULO 2

Bioseguridad en la toma de muestra

Andrea Silvia Pacha

Introducción

La bioseguridad es un conjunto de normas, procedimientos y medidas que garantizan la protección del personal de salud, los pacientes y el medio ambiente frente a los riesgos biológicos asociados a la manipulación de muestras clínicas. En el proceso de toma de muestras microbiológicas, la aplicación de principios de bioseguridad es esencial para prevenir infecciones cruzadas, accidentes laborales y la diseminación de agentes patógenos. (World Health Organization. 2004).

Niveles de bioseguridad según la OMS

La Organización Mundial de la Salud (OMS) establece cuatro niveles de bioseguridad (BSL, por sus siglas en inglés) que determinan el grado de contención necesario según el riesgo del agente biológico:

BSL-1: Para agentes no patógenos en condiciones normales. Requiere buenas prácticas de laboratorio y lavado de manos. Ej.: *E. coli K12*.

BSL-2: Para patógenos de riesgo moderado que pueden causar enfermedades humanas tratables. Se requiere uso de guantes, bata, gafas y acceso restringido. Ej.: *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*.

BSL-3: Para patógenos que pueden causar enfermedades graves con riesgo de transmisión respiratoria. Se requiere cabinas de seguridad biológica, mascarillas N95, control de flujo de aire. Ej.: *Mycobacterium tuberculosis*.

BSL-4: Para agentes altamente peligrosos, sin tratamiento disponible. Requiere trajes presurizados, instalaciones especiales y entrenamiento avanzado. Ej.: *Virus del Ébola*.

Normas e Implementos Requeridos

Las medidas varían según el nivel de bioseguridad OPS. (2020), pero en general incluyen:

Uso de elementos de protección personal (EPP): guantes, barbijos, gafas, batas.

Cabinas de bioseguridad clase II o III para manipulación.

Esterilización de materiales reutilizables.

Limpieza y desinfección de áreas de trabajo.

Procedimientos estandarizados de trabajo (POEs).

Cuidado del paciente, del personal y del ambiente

Garantizar la higiene del sitio de punción o contacto.

Minimizar el dolor y la exposición del paciente a riesgos.

Capacitar al personal para el manejo seguro y contención de derrames.

Evitar la liberación accidental de agentes biológicos al medio ambiente.

Uso racional de recursos

Selección adecuada del tipo de muestra para evitar repeticiones.

Uso eficiente de insumos y energía.

Optimización de procesos para evitar desperdicio de reactivos o materiales.

Eliminación de materiales, desechos y reciclado

Clasificación de residuos según tipo (biosanitario, punzocortante, común).

Uso de bolsas rojas para residuos infecciosos.

Incineración o autoclave para residuos biológicos (Forbes, B. A 2017)

Reciclado de materiales no contaminados (papel, cartón, plástico).

Referencias

World Health Organization. (2004). Laboratory biosafety manual (3rd ed.). WHO Press.
<https://www.who.int>

Ministerio de Salud de la Nación Argentina. (2018). Guía de bioseguridad para laboratorios.
<https://www.argentina.gob.ar/salud>

- Tortora, G. J., & Derrickson, B. H. (2020). Principios de anatomía y fisiología (15.ª ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2017). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico (13.ª ed.). Elsevier España.
- OPS. (2020). Recomendaciones de bioseguridad para la toma y el transporte de muestras durante la pandemia de COVID-19. <https://www.paho.org>

CAPÍTULO 3

La orden o solicitud médica

Andrea Silvia Pacha

Contenidos mínimos y elaboración del documento

La orden o solicitud médica es un documento formal mediante el cual un profesional de la salud solicita la realización de estudios, procedimientos diagnósticos o terapéuticos. Es fundamental para garantizar la trazabilidad de las acciones médicas, es esencial para garantizar una correcta toma, procesamiento e interpretación de resultados y el cumplimiento de normativas legales y sanitarias. Una solicitud incompleta o errónea puede llevar a resultados falsos negativos, diagnósticos incorrectos o tratamientos inadecuados (Forbes 2018).

Los contenidos mínimos que debe incluir son:

Datos del paciente: nombre completo, edad, sexo, número de historia clínica o documento de identidad.

Datos del profesional solicitante: nombre, matrícula profesional, especialidad y firma.

Fecha de emisión y hora de la solicitud de la toma de muestra.

Motivo de la solicitud, diagnóstico presuntivo o sospecha clínica (por ejemplo: infección urinaria, fiebre de origen desconocido, diarrea aguda, sepsis).

Servicio o sector solicitante.

Utilidad en la interpretación de los resultados

Estudio o procedimiento requerido de forma clara y específica.

Tipo de muestra solicitada (orina, esputo, sangre, heces, secreciones, líquidos cavitarios, entre otros).

Sitio anatómico de la toma de muestra importante especialmente en infecciones localizadas.

Tratamiento antibiótico actual o previo reciente.

Condiciones particulares del paciente (si fueran relevantes para el procedimiento, como alergias, embarazo, ayuno, entre otros.).

Otros factores de riesgo tales como enfermedades de base como diabetes, trasplantados, inmunodeficientes.

Sitio anatómico de la toma de muestra, especialmente en infecciones localizadas (INEI-ANLIS).

Una solicitud bien confeccionada

- Mejora la calidad del proceso microbiológico desde la toma hasta la entrega e interpretación del resultado.
- La interpretación de los estudios microbiológicos depende en gran medida del contexto clínico y del tipo de muestra enviada.
- Aclarar con mayor precisión los resultados, distinguir colonización, contaminación o infección verdadera.
- Seleccionar los medios de cultivo adecuados.
- Aplicar técnicas específicas según el sitio de infección (cultivos aerobios, anaerobios, micobacterias, micología, virología, entre otros).
- Evaluar la relevancia clínica de los microorganismos aislados.
- La correlación entre signos, síntomas y hallazgos complementarios.
- La comunicación efectiva entre los distintos profesionales del equipo de salud.
- Informar sobre posibles resistencias antimicrobianas relevantes en función del tratamiento previo.

Modificaciones de acuerdo con las patologías especiales

Ciertas patologías requieren adaptar y ajustar la solicitud y el procesamiento microbiológico:

Pacientes inmunosuprimidos: se requiere búsqueda específica de gérmenes oportunistas (por ejemplo: *Pneumocystis jirovecii*, *Aspergillus spp.*, *virus herpes*).

Pacientes hospitalizados o en UTI: considerar flora nosocomial y multirresistente.

Pacientes pediátricos: se requiere información sobre peso, edad y condiciones especiales de crecimiento, toma de muestras más cuidadosa, menor volumen, patógenos específicos como rotavirus, enterovirus.

Infecciones persistentes o crónicas: se recomienda incluir datos de estudios anteriores y tratamientos antimicrobianos recibidos.

Pacientes embarazadas: se deben evitar estudios que impliquen radiación ionizante sin justificación clínica estricta.

Pacientes con enfermedades de transmisión sexual (ETS): la solicitud debe especificar los estudios requeridos y el tipo de secreción o hisopado.

Requisitos e interpretación consensuada

La solicitud médica debe cumplir con criterios institucionales y normativos. Es clave que haya consenso entre el médico solicitante y el laboratorio de microbiología en aspectos como:

Criterios de rechazo de muestras (muestras mal rotuladas, sin datos clínicos, mal conservadas).

Necesidad de repetir la toma en caso de resultados dudosos o contaminaciones.

Indicaciones para estudios especiales como cultivos para hongos, micobacterias, PCR, pruebas rápidas (SADEBAC).

Interpretación de antibiogramas y correlación con guías clínicas locales o internacionales.
Un abordaje interdisciplinario mejora el rendimiento diagnóstico y evita prácticas innecesarias.

Revisiones periódicas y control de cambios

La solicitud de estudios microbiológicos debe ser revisada regularmente para:
Actualizar listados de estudios disponibles.
Incorporar nuevas técnicas diagnósticas (PCR, MALDI-TOF, inmunocromatografía).
Mejorar la calidad de la información solicitada al médico.
Ajustarse a protocolos de bioseguridad y normativas sanitarias actualizadas.
El control de cambios debe estar registrado en documentos validados por la institución, con capacitación periódica del personal de salud sobre los procedimientos actualizados.

Referencias

Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2018). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.
Manual de procedimientos del INEI-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán. Ministerio de Salud de la Nación Argentina.
Organización Mundial de la Salud (OMS). Directrices para laboratorios de microbiología clínica.
CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.
Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínica (SADEBAC).

CAPÍTULO 4

Recepción de la muestra en el laboratorio de microbiología

Miguel Ángel Ayala

Perfil y requisitos del cargo de recepcionista

El recepcionista en un laboratorio de microbiología es una figura clave que actúa como nexo entre el personal clínico, el paciente y el laboratorio. Su rol no solo es administrativo, sino también técnico, ya que debe garantizar la correcta admisión de las muestras para asegurar resultados válidos y confiables. (Forbes, B. A. 2018).

Perfil profesional

Formación en áreas administrativas o técnicas en salud.

Conocimientos básicos de microbiología y bioseguridad.

Capacidad de comunicación clara con médicos, microbiólogos, bioquímicos y personal de enfermería o de otras áreas de la salud (ISO 15189:2022, OPS),

Responsabilidad, organización y discreción.

Requisitos del cargo

Conocimiento de los diferentes tipos de muestras microbiológicas y sus condiciones de transporte.

Manejo de sistemas informáticos de laboratorio (LIS).

Habilidad para verificar la documentación clínica asociada a la muestra.

Capacitación en criterios de aceptación y rechazo de muestras.

Formación continua en normativas de gestión de calidad, gestión y acreditación del laboratorio y bioseguridad.

Documentación necesaria en la recepción del laboratorio

Libro de actas, documentación interna, recibos

La trazabilidad documental es fundamental en microbiología clínica. Todo ingreso de muestra debe quedar registrado de forma ordenada, siguiendo normas legales y de calidad.

Principales documentos

Libro de actas o registro de ingreso: puede ser físico o digital.

Debe incluir:

Fecha y hora de recepción.

Identificación del paciente.

Tipo de muestra y estudio solicitado.

Numero de protocolo o registro

Condiciones de la muestra (temperatura, tiempo de conservación, rotulación).

Firma o iniciales del recepcionista.

Documentación interna

Planillas de control de calidad, protocolos de derivación, formularios de trazabilidad.

Recibos o comprobantes de ingreso: en laboratorios privados o semipúblicos, se emiten comprobantes al paciente o al servicio solicitante.

Trazabilidad en LIS (Sistema de Información de Laboratorio), muchos laboratorios utilizan sistemas informatizados para registrar, codificar y seguir el camino de cada muestra.

Criterios de rechazo de una muestra: justificación y tratamiento

No todas las muestras son aptas para su procesamiento. Aceptar una muestra inadecuada puede conducir a errores diagnósticos graves. Por ello, existen criterios definidos de rechazo que deben conocerse y aplicarse rigurosamente.

Criterios comunes de rechazo

Muestra sin rotular o con identificación dudosa.

Contaminación visible de la muestra.

Recipiente no estéril o inadecuado para el tipo de análisis solicitado.
Volumen insuficiente.
Tiempo de transporte excesivo o sin condiciones de conservación adecuadas.
Muestra no acompañada de la orden médica correspondiente.
Derrame de la muestra en el contenedor de la misma.

Justificación del rechazo

Preservar la calidad del diagnóstico.
Prevenir errores clínicos.
Cumplir normas de bioseguridad.
Evitar el uso innecesario de recursos del laboratorio.
Tratamiento de la muestra rechazada:
Informar inmediatamente al servicio o profesional solicitante.
Registrar el motivo del rechazo en el sistema.
Conservar la muestra por un tiempo definido hasta su eliminación segura.
Emitir informe de rechazo documentado.

Disposiciones vigentes e informes

Los procedimientos en la recepción de muestras deben cumplir con normativas nacionales e institucionales. En Argentina, las principales disposiciones provienen de:
Ministerio de Salud de la Nación: regulaciones sobre laboratorios clínicos, bioseguridad y gestión de la calidad.
Normas IRAM-ISO 15189: estándares internacionales para laboratorios clínicos.
ANMAT / ANLIS-Malbrán: protocolos técnicos específicos para bacteriología, micología, virología, entre otros.
Normativas provinciales o municipales, según la jurisdicción.
Informes relacionados:
Informe de recepción de muestras (diario).
Informes de muestras rechazadas (mensual o por evento).
Reportes de errores preanalíticos y acciones correctivas.
Informes de auditoría interna.

Referencias

Forbes, B. A., Sahm, D. F., Weissfeld, A. S. (2018). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.

Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Manuales técnicos y normativas de laboratorios.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Documentos M29-A4 y GP26-A3.

ISO 15189:2022. Requisitos particulares para la calidad y competencia en laboratorios clínicos.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). Manual de bioseguridad en el laboratorio

CAPÍTULO 5

Hemocultivos y muestras afines

Andrea Silvia Pacha

Definiciones de Bacteriemias, sepsis y shock séptico

Bacteriemia:

Es la presencia de bacterias viables en el torrente sanguíneo. Puede ser transitoria, intermitente o persistente.

Sepsis

Es la respuesta desregulada del huésped frente a una infección que provoca disfunción orgánica. Se diagnostica clínicamente mediante la Evaluación Secuencial de Falla Orgánica (SOFA) o qSOFA (más rápida que el SOFA).

Shock séptico

Es la forma grave de sepsis que implica hipotensión persistente a pesar de una adecuada reanimación con fluidos, junto con alteraciones metabólicas significativas como acidosis láctica.

Estas condiciones requieren diagnóstico microbiológico urgente, siendo el hemocultivo la principal herramienta (WHO 2020).

Técnicas de extracción y bioseguridad

La correcta técnica de extracción es esencial para evitar contaminaciones y asegurar el diagnóstico preciso. Debe realizarse bajo condiciones estrictas de asepsia (CLSI M47-A).

Pasos principales

Higiene de manos.

Preparación del campo con solución antiséptica (clorhexidina alcohólica, alcohol iodado o iodo povidona).

Uso de guantes estériles y materiales descartables.

Extracción de sangre con aguja y jeringa estériles o sistema de vacío.

Inoculación inmediata en frascos de hemocultivo.

Bioseguridad

Evitar salpicaduras y punciones accidentales.

Eliminación adecuada del material cortopunzante.

Etiquetado inmediato y correcto de los frascos.

Transporte en contenedores rígidos cerrados. (Forbes, B.A 2018).

Incubación por métodos manuales o automatizados

Método manual

Los frascos se incuban a 35-37 °C.

Se observan visualmente durante 5 a 7 días.

Se revisa turbidez, formación de gas o sedimento.

Requiere subcultivos periódicos para detectar crecimiento.

Método automatizado

Sistemas como Bactec™, BacT/ALERT™, VersaTREK™.

Detectan crecimiento bacteriano midiendo producción de CO₂ o cambios en la presión interna del frasco.

Ventajas: mayor sensibilidad, menor tiempo de detección, registro automatizado, menor manipulación.

Ambos métodos deben ser validados en cada institución y sometidos a controles de calidad.

Criterios universales y locales para la toma de muestra

Criterios universales

Tomar al menos 2 muestras en sitios distintos antes de iniciar antibióticos.

Extraer un volumen adecuado de sangre.

Utilizar frascos para aerobios y anaerobios.

Rotular correctamente con datos del paciente, hora y sitio de extracción.

Criterios locales

En Argentina se debe cumplir guías del Ministerio de Salud y recomendaciones del INEI-ANLIS.

Adaptar según disponibilidad tecnológica y perfil epidemiológico local (patógenos multirresistentes, brotes) (Pittet D. et al., 2021).

Volumen de sangre y número de muestras

El volumen de sangre es el factor más crítico para el rendimiento diagnóstico del hemocultivo (ANLIS Malbrán).

Adultos: 10 mL por extracción (10 mL por frasco).

Niños: 1-5 mL por frasco según el peso del paciente.

Número de muestras

En casos de sospecha de bacteriemia o sepsis: mínimo 2 muestras de sitios diferentes.

En endocarditis o infecciones persistentes: hasta 3 muestras en 24 horas.

No se recomienda tomar muestras a través de catéteres, salvo que se evalúe su colonización

Catéteres y prótesis vasculares

Tipos de catéter

Los dispositivos vasculares son fuentes frecuentes de infecciones intrahospitalarias.

Podemos encontrar los siguientes dispositivos:

- Catéter venoso central (CVC).
- Catéter venoso periférico (CVP).
- Reservorios subcutáneos (Port-a-Cath).
- Prótesis vasculares.

Técnicas cualitativas y cuantitativas

Técnicas de diagnóstico cualitativas

Hemocultivo por punción directa del catéter.

Cultivo del extremo del catéter tras retiro (método de Maki).

Técnicas de diagnóstico cuantitativas

Comparación de cargas bacterianas entre muestras de catéter y periféricas (diferencia ≥ 3 log UFC/mL sugiere colonización).

Detección de tiempo diferencial de positividad (>2 h a favor del catéter).

La elección depende de los recursos del laboratorio y del tipo de dispositivo.

Conservación y Transporte

Frascos de hemocultivo deben mantenerse a temperatura ambiente si se transportan en menos de 2 horas.

No refrigerar ni exponer al calor excesivo.

Si el procesamiento se demora más de 4 horas, algunos protocolos permiten incubar directamente en el punto de atención (POCT), si se dispone del equipo.

El transporte debe realizarse con recipientes de bioseguridad que eviten derrames y exposición accidental.

Referencias

Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2018). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.

CLSI M47-A. Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline.

Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Guías de vigilancia y manejo de sepsis, INEI-ANLIS.

WHO (2020). Sepsis: Key Facts. Organización Mundial de la Salud.

Pittet D. et al. (2021). Infection Control and Hospital Epidemiology. Cambridge University Press.

ANLIS Malbrán - Manual de Procedimientos Microbiológicos.

CAPÍTULO 6

Urocultivos y muestras afines

Andrea Silvia Pacha y Miguel Ángel Ayala

Definición

El urocultivo es un examen de laboratorio que verifica la presencia de bacterias o microorganismos en una muestra de orina. Su objetivo principal es identificar la causa de una posible infección urinaria y, a través de este diagnóstico, determinar el tratamiento más adecuado (Weissfeld, A.S. 2018).

Instructivos para el paciente ambulatorio

Una adecuada recolección de orina es fundamental para evitar falsos positivos (contaminación) o falsos negativos (Forbes, B.A. 2018).

Indicaciones generales para el paciente ambulatorio

Recolectar la primera orina de la mañana o tras 2-3 horas de retención urinaria.

Realizar higiene genital previa con agua y jabón, sin desinfectantes.

Eliminar el primer chorro de orina y recolectar el chorro medio en frasco estéril.

No tocar el interior del frasco ni su tapa.

Enviar la muestra al laboratorio dentro de las 2 horas. Si no es posible, conservar refrigerada (4 °C) hasta 24 h como máximo.

En el caso de las mujeres evitar la recolección durante el período menstrual si no es urgente.

Se recomienda entregar un instructivo escrito al paciente con lenguaje claro y sencillo.

Paciente sondado y no sondado, ambulatorio o internado

Paciente internado no sondado

Se siguen los mismos principios que en el paciente ambulatorio, pero con asistencia del personal de enfermería para asegurar el cumplimiento de la técnica aséptica.

Paciente con sonda vesical

No tomar la muestra del colector ni del reservorio (bolsa), debido a contaminación.

Pinzar la sonda durante 15-30 minutos. Desinfectar el sitio de punción con antiséptico.

Aspirar orina con jeringa estéril a través del puerto de muestra. Colocar en frasco estéril y rotular.

En el caso de la sonda recién colocada, se puede recolectar orina directamente del sistema si se realiza de forma estéril y controlada (INEI-ANLIS).

Punción suprapúbica

Es un método invasivo reservado para casos específicos como por ejemplo el caso de los lactantes o niños pequeños donde la recolección convencional no es confiable o pacientes con obstrucción uretral.

Situaciones donde se requiere una muestra completamente libre de contaminación.

Técnica:

Se realiza en condiciones de esterilidad, previa desinfección del pubis. Punción con aguja fina (21G) sobre la sínfisis púbica en dirección al fondo vesical. Requiere entrenamiento profesional y suele hacerse bajo guía ecográfica.

Implementos utilizados en todos los casos

Frascos estériles con tapa a rosca de uso obligatorio para cultivos. Jeringas y agujas estériles para punción o toma en sondados. Toallitas húmedas estériles o gasas con solución fisiológica o antiséptico para higiene previa y guantes descartables (SADI).

Sistema de recolección para lactantes en bolsas colectoras específicas

Sondas vesicales con puerto de muestreo en los pacientes internados.

Todo material debe cumplir normas de calidad, ser estéril y estar dentro de la fecha de vencimiento.

Niños y adultos

En los bebés, lactantes y niños se utilizan bolsas colectoras con higiene adecuada pero no recomendable para cultivo, solo para examen fisicoquímico. Se recomienda la punción suprapúbica o cateterismo vesical ideales para urocultivo, de acuerdo con la edad y condiciones clínicas del paciente.

En el caso de los adultos se les indican las instrucciones detalladas para recolección de orina en chorro medio. Se evalúa la necesidad de sondado o técnica alternativa según nivel de colaboración o condiciones clínicas del paciente.

Conservación y transporte

Lo ideal es procesar la muestra antes de las 2 horas post recolección. En el caso de retraso de esta, conservar a 4 °C por hasta 24 horas. No congelar ni calentar la muestra. Se la debe transportar en bolsas de bioseguridad cerradas, con rótulo completo (nombre, fecha, hora, tipo de muestra).

Consideraciones especiales

No iniciar antibióticos antes de la recolección, salvo urgencia.

Las muestras sin rotular, sin fecha/hora o con signos de contaminación deben rechazarse.

En el caso de las embarazadas, se debe priorizar detección precoz de bacteriuria asintomática.

En inmunocomprometidos, pacientes con síntomas atípicos, o portadores de sonda de larga data, considerar estudios adicionales como recuento de colonias, identificación de levaduras u otros patógenos no habituales.

Referencias

Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2018). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.

Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Manuales de procedimientos microbiológicos. INEI-ANLIS.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). M100 y M39-A4 (Directrices sobre urocultivo). Organización Mundial de la Salud (OMS). Manual de Laboratorio para Técnicas de Diagnóstico de Infecciones del Tracto Urinario.

Sociedad Argentina de Infectología (SADI). Guías de diagnóstico y tratamiento de ITU.

CAPÍTULO 7

Líquidos de punción y biopsias

Andrea Silvia Pacha y Silvana Milocco

Clasificación

Los líquidos obtenidos por punción y las biopsias representan muestras estériles o no estériles, fundamentales para el diagnóstico de infecciones profundas, neoplasias, enfermedades inflamatorias y otras patologías (Forbes et al., 2018).

Principales líquidos y tejidos:

- Líquido cefalorraquídeo (LCR)
- Líquido pleural
- Líquido peritoneal (ascítico)
- Líquido pericárdico
- Líquido sinovial
- Contenido de abscesos / punciones de partes blandas
- Punciones de piel o tejido subcutáneo
- Biopsias (tejidos estériles o contaminados)

Cada tipo tiene indicaciones, técnica de extracción, y requerimientos distintos para su procesamiento microbiológico (CLSI M56-A, 2014).

Técnicas de extracción en cada caso

1. Punción lumbar para obtener Líquido Cefalorraquídeo (LCR), la debe realizar el médico entrenado, bajo condiciones estrictas de asepsia (Mandell et al., 2020). Se utiliza habitualmente la posición en decúbito lateral o sentado, desinfectando la zona entre L3-L4 o L4-L5. Se extraen 3 o 4 tubos estériles en el siguiente orden:

Tubo 1 química clínica

Tubo 2: microbiología

Tubo 3: citología

El LCR debe procesarse inmediatamente, ya que es muy sensible a la descomposición y puede presentar escasa carga microbiana (Forbes et al., 2018).

2. Punción pleural: la punción se realiza mediante aguja o catéter, bajo control clínico o imagenológico. Se recolecta el líquido en frascos estériles, pudiendo agregarse anticoagulante para estudios celulares (CLSI M48-A, 2006).

Una parte del volumen se destina a cultivo bacteriano, micótico y para micobacterias, especialmente si hay sospecha de tuberculosis o infección nosocomial (INEI-ANLIS, 2022).

3. Punción de piel y partes blandas: se prefiere la aspiración directa de contenido purulento, evitando hisopados superficiales que pueden estar contaminados con flora cutánea (Forbes et al., 2018). La muestra debe enviarse en frasco estéril o jeringa sellada.

4. Líquido peritoneal y pericárdico: se utilizan técnicas similares a la punción pleural. En el caso del peritoneal, es esencial descartar peritonitis bacteriana espontánea, sobre todo en pacientes con cirrosis o diálisis peritoneal (Mandell et al., 2020).

5. Biopsias: estas incluyen tejidos quirúrgicos o por punción. Se manipulan mínimamente y se transportan en frascos estériles, secos o con suero fisiológico estéril. No debe utilizarse formol si se requiere cultivo microbiológico, ya que inactiva los microorganismos (WHO, 2005).

Personal involucrado

Médico tratante: responsable de la indicación, técnica y evaluación clínica.

Microbiólogo/Bioquímico: define estudios, procesa muestras y realiza la interpretación.

Técnico de laboratorio: realiza preparación de medios, tinciones, y cultivos iniciales (INEI-ANLIS, 2022).

Rol del laboratorio

Asegurar condiciones de bioseguridad y urgencia en el procesamiento (especialmente del LCR).

Discriminar flora patógena verdadera de los microorganismos contaminantes.

Participar en la vigilancia de infecciones nosocomiales, según protocolos institucionales (CLSI M56-A, 2014).

Consideraciones especiales según patología y sitio de extracción

LCR: Se utiliza para diagnóstico de meningitis bacteriana, viral, micótica o tuberculosa. La urgencia en su procesamiento es clave para la viabilidad de los agentes (Mandell et al., 2020).

Líquidos pleurales/peritoneal/pericárdico: en estos se deben considerar patógenos anaerobios, micobacterias, hongos y flora hospitalaria.

Abscesos: suelen presentar flora polimicrobiana, por lo que es fundamental obtener muestras profundas y evitar la contaminación (Forbes et al., 2018).

Biopsias: especialmente útiles en tuberculosis extrapulmonar, infecciones óseas, micosis profundas o infecciones por gérmenes atípicos (WHO, 2005).

La administración previa de antibióticos puede reducir la sensibilidad del cultivo, y debe informarse al laboratorio (INEI-ANLIS, 2022).

Protocolos consensuados, conservación y transporte

Deben existir protocolos claros entre áreas clínicas y de laboratorio, para asegurar una cadena de custodia eficiente.

Conservación y transporte

Enviar las muestras al laboratorio lo antes posible.

No refrigerar LCR, líquidos cavitarios ni biopsias, salvo indicación específica.

Usar envases rígidos, cerrados herméticamente, con triple embalaje en traslados interinstitucionales.

Etiquetado completo y correcto, según normativas nacionales y de bioseguridad (CLSI M48-A, 2006; WHO, 2005).

Referencias

- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2018). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.
- CLSI. (2006). M48-A: Guidelines for Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI. (2014). M56-A: Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline.

INEI-ANLIS Malbrán. (2022). Manuales de Procedimientos Microbiológicos – Ministerio de Salud de la Nación Argentina.

World Health Organization (WHO). (2005). Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks.

Mandell, L.A., Bennett, J.E., & Dolin, R. (2020). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9.^a ed. Elsevier.

CAPÍTULO 8

Muestras respiratorias

Miguel Ángel Ayala y Andrea Silvia Pacha

Las infecciones respiratorias pueden dividirse en altas (IRA) y bajas (IRB). El diagnóstico etiológico microbiológico depende en gran medida de la calidad y el tipo de muestra respiratoria obtenida.

Infecciones respiratorias altas (IRAs) e infecciones respiratorias bajas (IRBs)

IRAs – Infecciones de vías aéreas superiores

Estas son nasofaringitis, faringitis, amigdalitis, otitis media, sinusitis. Los patógenos frecuentes son *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *virus respiratorios*. La toma de muestras típicas son el hisopado faríngeo, aspirado nasofaríngeo (en niños), secreciones óticas y secreciones nasales (en casos de sinusitis, por punción).

IRBs – Infecciones de vías aéreas inferiores

Comprenden bronquitis, neumonías, bronconeumonías, abscesos pulmonares, tuberculosis, infecciones asociadas a ventilación mecánica (NAV). La toma de muestras típicas son esputo espontáneo, esputo inducido, lavado bronco alveolar (BAL), aspirado traqueal y biopsia pulmonar en casos complejos. La correcta clasificación y la elección de la muestra adecuada son fundamentales para evitar errores de diagnóstico (Forbes et al., 2018).

Toma de muestra para pacientes ambulatorios e internados

Ambulatorios

Predominan IRA y algunas neumonías comunitarias leves. Se utilizan métodos no invasivos como hisopado o esputo espontáneo. Es clave la instrucción adecuada al paciente para evitar muestras contaminadas con flora oral.

Instructivos para el paciente ambulatorio

Para toma de esputo:

1. Recolectar la muestra a primera hora de la mañana.
2. Higienizar la boca con agua (no usar antisépticos ni cepillar dientes).
3. Realizar respiraciones profundas y toser desde el tórax para expulsar secreción.
4. Depositar en frasco estéril con tapa a rosca.
5. No escupir saliva. La muestra debe tener aspecto purulento o mucopurulento.
6. Enviar al laboratorio en menos de 2 horas o mantener refrigerado.

Para hisopado faríngeo:

- Evitar ingerir alimentos o bebidas al menos 30 minutos antes.
 - El operador debe visualizar faringe y realizar frotis sin tocar lengua ni mucosas externas.
- Una muestra mal tomada puede conducir a resultados falsamente negativos o a la identificación de flora contaminante (CLSI M100, 2022).

Internados

Frecuente IRB, neumonías graves o nosocomiales. Requieren técnicas más invasivas: aspirado traqueal, BAL, biopsia. Mayor riesgo de patógenos resistentes (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus aureus* MR). El contexto clínico y el tipo de paciente determinan la estrategia de toma de muestra (Mandell et al., 2020).

Protocolos y procedimientos de extracción y bioseguridad

Toma de muestras no invasivas

Uso de elementos de protección personal (EPP): guantes, camisolín, barbijo quirúrgico.

En procedimientos con riesgo de aerosolización por la dispersión de gérmenes, donde la muestra es esputo inducido y aspirado traqueal, agregar protección ocular y mascarilla N°95

mientras se toma la muestra. Se debe realizar en un área ventilada o cabina de bioseguridad para toma de estas muestras generadoras de aerosoles

Toma de muestras invasivas (BAL, aspirado, biopsia)

La debe realizar solo personal médico entrenado en un ambiente controlado (quirófano o sala de internación de terapia). Coordinar con el laboratorio para procesar las muestras sin demoras. Esta muestra es esputo inducido, se le debe administrar al paciente solución salina hipertónica mediante nebulización y debe estar asistido por el personal médico capacitado. Recolectar con las mismas medidas que el esputo espontáneo.

Las normas de bioseguridad deben adaptarse al tipo de muestra y al nivel de complejidad del procedimiento (Forbes et al., 2018).

Conservación y transporte

Las muestras de esputo, hisopado y BAL: se deben enviar al laboratorio dentro de las 2 horas, pero en caso de demoras, conservar la muestra a 4 °C sin congelar la misma nunca. En el caso de hisopados nasofaríngeos para virus: usar medio de transporte viral (VTM), mantener la muestra entre 2 y 8 °C hasta su procesamiento en el laboratorio.

Para las muestras invasivas (BAL, aspirado, biopsia) enviarlas de inmediato al laboratorio, en contenedores bajo condiciones estériles y cerradas herméticamente. Todo material debe estar rotulado correctamente con nombre completo del paciente, fecha, hora de extracción, tipo de muestra y el nombre del profesional que tomó la muestra.

Referencias

- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2018). Bailey & Scott: Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.
- CLSI. (2022). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 32nd ed. CLSI supplement M100.
- Mandell, L.A., Bennett, J.E., & Dolin, R. (2020). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9.^a ed. Elsevier.
- Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Protocolos y recomendaciones para el diagnóstico de infecciones respiratorias agudas (IRA), INEI-ANLIS Malbrán

CAPÍTULO 9

Toma de muestras genitales

Miguel Ángel Ayala

Introducción

Las muestras del tracto genital femenino y masculino representan una herramienta clave para el diagnóstico de infecciones de transmisión sexual (ITS), infecciones ginecológicas o urológicas, y otras patologías inflamatorias del aparato reproductor. La correcta recolección, conservación y transporte de estas muestras es esencial para la fiabilidad del diagnóstico microbiológico (Forbes et al., 2018; WHO, 2003).

Genital femenino

Las muestras pueden incluir flujo vaginal, endocervical, uretral, de úlceras genitales, secreción vulvar, muestras de fondo de saco vaginal, hisopado rectal en casos indicados por el médico y muestras obtenidas mediante Papanicolaou (cuando se solicitan estudios microbiológicos complementarios). Las muestras deben ser recolectadas por personal médico, ginecológico o entrenado en el laboratorio, según la técnica y el propósito del estudio (CLSI M100, 2024).

La indicación para la toma de muestra de genital femenino cuando se sospecha de ITS bacterianas: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma spp.*, *Ureaplasma spp.*

En el caso de vaginosis bacteriana se recomienda la tinción de Gram con criterios de Nugent (esta nos permite clasificar la microbiota vagina en tres grupos: normal, intermedia y vaginosis bacteriana, según la presencia y cantidad de diferentes morfotipos bacterianos. La puntuación de Nugent se basa en la evaluación de la tinción de Gram de un hisopado vaginal, donde se cuantifican los diferentes morfotipos). Infecciones fúngicas: *Candida spp.* Infecciones virales: HSV, HPV, CMV.

Técnica de toma muestra del genital femenino

Se utiliza espéculo estéril sin lubricante para acceder al cérvix o vagina. El hisopo debe ser de dacrón o rayón con medio de transporte adecuado al agente patógeno sospechado. Para

PCR u otras técnicas moleculares, los kits comerciales traen su propio medio estabilizador (CLSI M48-A, 2006).

Genital masculino

Se pueden tomar muestras de secreción uretral, prepucial, de úlceras peneanas, líquido prostático, espermatozoides para cultivo, o hisopados rectales.

En infecciones asintomáticas o de difícil localización, puede optarse por métodos moleculares en orina de primer chorro para *Chlamydia* o *Gonococcus*, evitando la toma invasiva (WHO, 2003).

Las indicaciones para la toma de muestra de genital masculino más frecuentes son uretritis no gonocócica, ITS virales: HSV, HPV., prostatitis infecciosa e infecciones por *Trichomonas vaginalis* o *Mycoplasma hominis*.

Técnica de toma muestra del genital masculino

La toma de muestra en el caso secreciones uretrales, el hisopo debe introducirse 2-4 cm dentro de la uretra. Se le debe indicar al paciente no orinar al menos una hora antes de la toma de la muestra. Si se debe tomar muestras de semen, este se debe obtener por el mismo paciente en frasco estéril y procesarse en menos de una hora (INEI-ANLIS, 2022).

Extracción en el laboratorio

En situaciones ambulatorias o de alta sospecha clínica de alguna patología genital, el laboratorio puede asumir la toma de muestra, cumpliendo normas de bioseguridad y privacidad.

El personal debe estar entrenado y contar con consentimiento informado del paciente (Mandell et al., 2020). Las muestras deben ser correctamente rotuladas y acompañadas de los datos clínicos y estudios solicitados en la orden médica.

Consideraciones especiales

Las muestras genitales son especialmente sensibles a la contaminación o al secado, por lo que deben enviarse al laboratorio de inmediato.

La microbiota vaginal puede interferir en el diagnóstico; por eso, es importante correlacionar clínicamente los resultados (Forbes et al., 2018).

El uso previo de antimicrobianos puede disminuir la sensibilidad de los cultivos.

En caso de úlceras, siempre debe incluirse estudio para *Treponema pallidum* y *Herpes simplex virus*.

Conservación y transporte

Las muestras en hisopos para cultivo deben transportarse en medios tipo Stuart o Amies si no pueden procesarse en el acto (CLSI M100, 2024).

Las muestras para estudios moleculares deben mantenerse a temperatura ambiente o refrigeradas, según indicación del fabricante.

El semen debe mantenerse a 37 °C si se procesará para cultivo o fertilidad.

Para PCR, respetar condiciones de transporte específicas, muchos kits incluyen medio estabilizador.

Se debe evitar el uso de formol, alcohol o fijadores en muestras que serán cultivadas o analizadas molecularmente (WHO, 2003).

Referencias

- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2018). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.
- CLSI. (2024). M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI. (2006). M48-A: Guidelines for Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- INEI-ANLIS Malbrán. (2022). Manuales de Procedimientos Microbiológicos – Ministerio de Salud de la Nación Argentina.
- World Health Organization (WHO). (2003). Guidelines for the Management of Sexually Transmitted Infections.
- Mandell, L.A., Bennett, J.E., & Dolin, R. (2020). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9.^a ed. Elsevier.

CAPÍTULO 10

Enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs)

Andrea Silvia Pacha y Silvana Nora Milocco

Introducción

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs) constituyen un problema de salud pública mundial. Se definen como síndromes clínicos originados por la ingestión de alimentos o agua contaminados con agentes biológicos o sus toxinas (WHO, 2008). Los brotes de ETAs pueden afectar a individuos, familias o comunidades enteras, por lo que su vigilancia y control requieren una acción coordinada entre el sistema sanitario, los laboratorios y los organismos regulatorios.

Programas de epidemiología y control

En Argentina, el Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS) y el Programa de Control de las ETAs del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI-ANLIS Malbrán) articulan la notificación, control y seguimiento de brotes alimentarios (INEI-ANLIS, 2021). Se promueve la detección precoz mediante la búsqueda activa de casos y el análisis microbiológico de alimentos y muestras clínicas.

A nivel internacional, la OMS y FAO impulsan programas integrados de vigilancia basada en laboratorio para asegurar la trazabilidad de los patógenos emergentes (WHO, 2008; FAO/OMS, 2019).

Clasificación por germen y por patología

Las ETAs se clasifican por el agente etiológico o por el tipo de manifestación clínica:

Según germen

Bacterias: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli* (EHEC, ETEC, EIEC), *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*.

Virus: *Norovirus*, *Rotavirus*, *Hepatitis A y E*.

Parásitos: *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium spp.*, *Trichinella spiralis*, *Toxoplasma gondii*.

Toxinas: estafilocócica, botulínica, micotoxinas.

Según clínica:

Infecciones invasivas: fiebre, disentería.

Toxi-infecciones: vómitos, diarreas, dolor abdominal sin fiebre (ej. toxina estafilocócica).

Síndromes especiales: síndrome urémico hemolítico (SUH), asociado a *E. coli* O157:H7.

El abordaje diagnóstico dependerá del cuadro clínico, el alimento sospechoso y la historia epidemiológica (Forbes et al., 2018; Mandell et al., 2020).

Tipos de toma de muestra

Las muestras que pueden tomarse para estudio microbiológico son:

Materia fecal: es la principal en pacientes sintomáticos.

Vómito: si está disponible, debe recolectarse en frasco estéril.

Restos de alimentos consumidos: en caso de sospecha de brote con cadena de frío.

Alimentos sospechosos del entorno (crudos o cocidos).

Agua: especialmente en comunidades cerradas o brotes escolares.

Superficies y utensilios: hisopados ambientales en cocinas, comedores, entre otros.

Todas estas muestras deben analizarse siguiendo protocolos específicos para su inoculación, enriquecimiento y aislamiento (CLSI M100, 2024; INEI-ANLIS, 2021).

Instructivos

Para asegurar la validez de los resultados, es esencial entregar instructivos claros al personal de salud y al paciente sobre cómo recolectar y conservar las muestras. Por ejemplo:

Materia fecal: en frasco estéril, sin orina ni agua, con tapa hermética. En caso de no enviarse en el acto, mantener refrigerada.

Vómito: misma condición que la materia fecal.

Alimentos: conservar refrigerados en su envase original, si es posible.

Agua: recolectar en botella estéril, mínimo 250 ml.

El laboratorio debe contar con un protocolo escrito para brotes de ETAs, incluyendo medidas de bioseguridad y notificación obligatoria a epidemiología (INEI-ANLIS, 2021).

Consideraciones generales y especiales

El éxito diagnóstico depende de la rapidez con que se toman y envían las muestras.

Se recomienda recolectar varias muestras en los primeros días del brote.

La correlación clínica-epidemiológica es clave para interpretar cultivos positivos.

En casos graves como SUH o listeriosis, debe notificarse de inmediato y activarse el protocolo de vigilancia nacional (Mandell et al., 2020).

Conservación y transporte

Materia fecal y vómitos: refrigerados a 2–8 °C si no se procesan dentro de las 2 horas después de haberlas tomada. Alimentos: mantener cadena de frío. Muestras ambientales: usar medio de transporte adecuado. Toda muestra debe ir correctamente rotulada, con historia clínica, fecha y hora de recolección, síntomas y alimento sospechado (CLSI M56-A, 2014).

El transporte debe hacerse en contenedores rígidos, idealmente con triple embalaje, especialmente en contextos interinstitucionales.

Referencias

- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2018). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.
- INEI-ANLIS Malbrán. (2021). Guía para la vigilancia y el control de las ETAs. Ministerio de Salud de la Nación Argentina.
- CLSI. (2024). M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI. (2014). M56-A: Principles and Procedures for Detection of Anaerobes in Clinical Specimens.
- FAO/OMS. (2019). Foodborne Disease Surveillance Guidance. Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization.
- World Health Organization (WHO). (2008). Foodborne Disease Outbreaks: Guidelines for Investigation and Control.

Mandell, L.A., Bennett, J.E., & Dolin, R. (2020). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9.^a ed. Elsevier.

CAPÍTULO 11

Muestras especiales

Andrea Silvia Pacha

Introducción

Las muestras especiales en microbiología abarcan aquellas que requieren técnicas particulares de extracción, manipulación y análisis debido a su alta complejidad diagnóstica, riesgos epidemiológicos o importancia legal. Entre ellas se incluyen muestras para diagnóstico de tuberculosis, micosis profundas, lepra, y lesiones en pacientes quemados, entre otras (Mandell et al., 2020).

Muestras especiales para patología

Tuberculosis (TB)

La muestra por excelencia es el esputo, recolectado en al menos tres oportunidades, en días consecutivos y en ayunas.

También se utilizan aspirados gástricos, orina, LCR, secreciones bronquiales y biopsias.

La baciloscopia (tinción de Ziehl-Neelsen), el cultivo en medios específicos (Löwenstein-Jensen, MGIT), y las pruebas moleculares (como GenXpert) son fundamentales.

Las muestras deben manejarse en cabinas de bioseguridad clase II, y el personal debe utilizar EPP completo, dado el riesgo de transmisión aérea (INEI-ANLIS, 2020; WHO, 2023).

Micología

Comprende infecciones por hongos superficiales o profundos (*Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Histoplasma capsulatum*, entre otros).

Las muestras incluyen piel, uñas, cabellos, esputo, biopsias, secreciones o líquidos cavitarios. Se transportan en condiciones ambientales o refrigeradas, dependiendo del hongo sospechado (Forbes et al., 2018).

Lepra (enfermedad de Hansen)

Diagnóstico por baciloscopia de raspado dérmico y biopsia.

Manipulación similar a TB; requiere laboratorios con capacitación especial.

La notificación es obligatoria por su impacto epidemiológico (INEI-ANLIS, 2020).

Pacientes quemados

Se deben tomar muestras de lesiones profundas, nunca de superficies secas o costras.

Alta incidencia de gérmenes multirresistentes (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*).

Se trabaja con precauciones de contacto y se requiere aislamiento en muchos casos (CLSI M56-A, 2014).

Consideraciones de bioseguridad

Las muestras especiales requieren estrictas normas de bioseguridad:

Extracción y procesamiento en áreas habilitadas.

Uso de elementos de protección personal (camisolín, guantes, barbijo N95 o superior, protección ocular).

Eliminación de residuos según la categoría correspondiente (Grupo C: Riesgo biológico) (Ministerio de Salud, 2015).

Transporte en triple envase, especialmente en traslados interinstitucionales o a laboratorios de referencia.

La clasificación del riesgo biológico debe estar claramente indicada en la orden médica y en el rótulo de la muestra (WHO, 2023).

Interpretación de la solicitud médica y denuncia obligatoria

El laboratorio debe interpretar correctamente las indicaciones médicas:

Una orden que mencione TB, lepra, infecciones por hongos invasores o zoonosis debe activar protocolos de enfermedad de notificación obligatoria (ENO).

En Argentina, el sistema SISA/SNVS permite realizar la denuncia de forma digital, lo cual es obligatorio y tiene valor legal (INEI-ANLIS, 2020).

La omisión puede derivar en sanciones y riesgo para la salud pública.

Es fundamental que el personal del laboratorio esté capacitado para reconocer enfermedades de denuncia obligatoria inmediata y no inmediata según la normativa vigente.

Procedimientos particulares

Algunos ejemplos de procedimientos especiales:

TB extrapulmonar: biopsias ganglionares, médula ósea, líquidos cavitarios.

Hongos profundos: cultivo prolongado (hasta 4 semanas), siembra en medios especiales (Sabouraud, BHI).

Lesiones de piel en lepra: toma de muestra estandarizada con escarificación de lóbulos auriculares o codos.

Pacientes quemados: toma con técnica de lavado o hisopado profundo, evitando contaminación superficial.

En todos los casos debe haber coordinación con el médico tratante, ya que algunas muestras requieren anestesia, consentimiento informado o intervención quirúrgica.

Reconocimiento y utilización de criterios

El criterio clínico, epidemiológico y microbiológico debe integrarse para decidir:

Qué muestra tomar.

Cómo transportarla.

A qué pruebas someterla.

Cuando informar preliminarmente.

El laboratorio no debe limitarse al análisis técnico, sino participar activamente en el circuito de vigilancia epidemiológica, control de infecciones hospitalarias y derivación a laboratorios de referencia (Mandell et al., 2020).

Conservación y transporte

Tuberculosis: esputo refrigerado si se demora más de 1 hora. Nunca congelar.

Micología: temperatura ambiente o refrigeración según el tipo de muestra.

Lepra: mantener muestra en fresco.

Quemados: enviar inmediatamente al laboratorio, en tubo estéril o frasco seco.

El transporte debe hacerse en condiciones estandarizadas, con triple embalaje si el riesgo biológico lo justifica (CLSI M56-A, 2014; WHO, 2023).

Referencias

- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2018). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.
- INEI-ANLIS Malbrán. (2020). Manual de Procedimientos para Laboratorios de la Red Nacional de Tuberculosis. Ministerio de Salud de la Nación Argentina.
- Mandell, L.A., Bennett, J.E., & Dolin, R. (2020). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9.^a ed. Elsevier.
- CLSI. (2014). M56-A: Principles and Procedures for Detection of Anaerobes in Clinical Specimens. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- WHO. (2023). Laboratory biosafety manual. 4th ed. World Health Organization.
- Ministerio de Salud de la Nación Argentina. (2015). Normas de Gestión de Residuos Patogénicos y Riesgosos.

CAPÍTULO 12

Procedimientos y jerarquización de muestras clínicas

Andrea Silvia Pacha

Introducción

La correcta jerarquización de las muestras clínicas es clave para la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas en microbiología. Los laboratorios deben seguir recomendaciones y protocolos nacionales e internacionales que orienten la validación, procesamiento, interpretación y notificación de resultados, para asegurar su relevancia clínica y evitar informes erróneos o innecesarios (CLSI M100, 2024; INEI-ANLIS, 2022).

Recomendaciones y protocolos nacionales e internacionales

Existen guías específicas que estandarizan la recolección y análisis de muestras:

Nacionales: Manuales del INEI-ANLIS y protocolos de vigilancia del Ministerio de Salud de Argentina.

Internacionales: CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), WHO (World Health Organization), y guías del CDC para control de infecciones.

Estas guías establecen recomendaciones sobre:

Volumen de muestra.

Tiempo de transporte.

Técnica de procesamiento.

Interpretación microbiológica (CLSI M100, 2024; WHO, 2023).

Diferenciación entre colonización, contaminación e infección

Esta diferenciación es fundamental en microbiología:

Colonización: Presencia de microorganismos sin causar daño. Ej.: *Staphylococcus aureus* en piel sana.

Contaminación: Introducción accidental de flora ambiental o del propio paciente durante la recolección o procesamiento. Ej.: *Bacillus spp.* en hemocultivo único.

Infección: Invasión de tejidos por patógenos que generan respuesta inflamatoria. Ej.: *E. coli* en orina con síntomas y piuria.

La interpretación debe considerar el tipo de muestra, sintomatología del paciente y antecedentes clínicos (Forbes et al., 2018).

Aplicación de criterios interpretativos

La evaluación debe tener en cuenta múltiples variables:

Tipo de germen: algunos microorganismos son patógenos obligados (*Mycobacterium tuberculosis*), mientras que otros pueden ser flora habitual del microbiota dependiendo del sitio anatómico (*Candida albicans*).

Número de muestras: hemocultivos múltiples aumentan la certeza diagnóstica frente a una bacteriemia real.

Tiempo de positividad: en hemocultivos automatizados, la detección temprana (antes de las 24 h) se asocia con bacteriemias reales (Mandell et al., 2020).

Edad y sexo: en pediatría, ciertos hallazgos (como Enterovirus en LCR) tienen más relevancia. En mujeres, los urocultivos deben contextualizarse con síntomas.

Estado inmunológico: pacientes inmunocomprometidos requieren un umbral interpretativo más sensible.

Muestras de sitio estéril y no estéril

Sitios estériles

Estos comprenden la sangre, LCR, pleura, pericardio, peritoneo, médula ósea. Cualquier crecimiento debe considerarse significativo, salvo clara contaminación.

Sitios no estériles

Son la piel, vías respiratorias altas, intestino, vagina. Requieren criterios cualitativos y cuantitativos para interpretación (INEI-ANLIS, 2022).

El laboratorio debe clasificar correctamente las muestras y solo emitir resultados relevantes desde el punto de vista clínico.

Recuentos cuantitativos y semi cuantitativos

Cuantitativos

Son utilizados en urocultivos, aspirados bronquiales, líquidos cavitarios. Informan la concentración de unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL).

Ejemplo: $\geq 10^5$ UFC/mL en orina se asocia con infección urinaria en adultos (CLSI M100, 2024).

Semi cuantitativos

Son aquellos aplicados en cultivos de punta de catéter, hisopados, heridas.

Interpretación

La interpretación depende del grado de crecimiento, que puede ser escaso, moderado, abundante.

La correlación con los síntomas del paciente es obligatoria para definir si se informa el resultado o se interpreta como colonización o contaminación.

Interpretación e informe restringido de los resultados

La interpretación debe ser clínica-microbiológica, y puede incluir:

No informar resultados de flora habitual en muestras no estériles, salvo solicitud expresa o relevancia clínica.

Restringir la entrega de resultados ante contaminaciones evidentes, por ejemplo, cocos grampositivos en un solo frasco de hemocultivo.

Indicar expresamente si el hallazgo tiene o no valor clínico.

Sugerir recaptura si la muestra no cumple criterios de aceptación.

El informe microbiológico no debe ser un listado de gérmenes y antibiogramas, sino un documento técnico con valor interpretativo (Forbes et al., 2018).

Conclusión

La jerarquización y validación de muestras clínicas es una de las principales responsabilidades del laboratorio de microbiología. Requiere conocimiento de normativas, juicio profesional, trabajo en equipo con el personal médico infectólogo, clínico y una interpretación que contemple no solo la presencia de microorganismos, sino su relevancia real para el paciente.

Referencias

- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2018). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 14.^a ed. Elsevier.
- CLSI. (2024). M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- WHO. (2023). Laboratory biosafety manual. 4th ed. World Health Organization.
- INEI-ANLIS Malbrán. (2022). Manual de Procedimientos de Laboratorio en Microbiología Clínica. Ministerio de Salud de la Nación Argentina.
- Mandell, L.A., Bennett, J.E., & Dolin, R. (2020). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9.^a ed. Elsevier.

CAPÍTULO 13

Toma de muestras de aire, agua, suelo y ambientes

Martín Carriquiriborde y Johana Pamela Almirón

La correcta toma de muestras microbiológicas es un paso fundamental para la obtención de resultados representativos, confiables y reproducibles. Este capítulo describe los procedimientos adecuados para la recolección de muestras de aire, agua, suelo y ambientes, con un enfoque en el control de calidad microbiológica en diversas áreas, incluyendo investigación, industria y salud pública.

Toma de muestras de aire

La calidad microbiológica del aire se evalúa mediante la detección de microorganismos viables suspendidos. Existen diversos métodos de muestreo, clasificados en pasivos y activos.

Método pasivo o método de sedimentación

El método pasivo consiste en la exposición de placas de Petri con medio de cultivo abierto (por lo general agar nutritivo, TSA o PDA) durante un tiempo determinado (normalmente 15-60 minutos) a una altura de 1 a 1,5 metros del suelo (Cox & Wathes, 1995). Este método es económico y simple, pero su sensibilidad es baja y depende de factores ambientales como la velocidad del aire o corrientes que pueden dar más o menos microorganismos.

Método activo

Los métodos activos utilizan equipos como impactadores, centrífugos o filtros, que aspiran un volumen de aire conocido. Un ejemplo común es el muestreador Andersen, que impacta partículas sobre medios de cultivo en función de su tamaño aerodinámico (Willeke & Baron,

1993). Estos métodos son más precisos y cuantitativos, permitiendo expresar los resultados en unidades formadoras de colonias por metro cúbico (UFC/m³).

Toma de muestras de agua

El análisis microbiológico del agua se aplica al control de potabilidad, calidad industrial o ambiental. La toma debe evitar la contaminación cruzada y conservar la integridad de los microorganismos presentes.

Muestreo de agua potable

Se utiliza un recipiente estéril, generalmente de 500 mL o 1 L, que puede contener tiosulfato de sodio si se sospecha la presencia de cloro residual. Se debe dejar correr el agua entre 1 y 3 minutos antes de llenar el recipiente para obtener una muestra representativa, antes de dejar el agua corriendo se flamea el grifo (APHA, 2017).

Muestreo de aguas superficiales y residuales

Para aguas no tratadas, como ríos o efluentes, se utiliza una botella estéril con tapa hermética, sumergida cuidadosamente a aproximadamente 30 cm de profundidad, evitando la superficie y el fondo (WHO, 2003). En aguas residuales, es recomendable tomar muestras compuestas, recolectadas a intervalos durante 24 horas.

Toma de muestras de suelo

El suelo alberga una gran diversidad microbiana, y el muestreo debe contemplar la heterogeneidad física y química de este.

Procedimiento

Se utilizan espátulas o barrenas estériles para tomar muestras a distintas profundidades (usualmente entre 5 y 20 cm), dependiendo del objetivo del estudio. Las porciones extraídas (100–500 g) se colocan en bolsas estériles tipo Whirl-Pak® o frascos de vidrio, y se mantienen refrigeradas a 4 °C hasta su procesamiento (van Elsas et al., 2007).

Consideraciones

Es recomendable evitar suelos muy secos o con exceso de agua. Para análisis comparativos, se deben estandarizar las condiciones de muestreo (hora del día, clima, ubicación).

Toma de muestras ambientales superficies y equipos

El monitoreo ambiental incluye superficies inertes y equipos en laboratorios, hospitales, industrias farmacéuticas y alimentarias.

Método de hisopado

Consiste en frotar una superficie delimitada (normalmente 25 o 100 cm²) con un hisopo estéril humedecido con solución fisiológica o medio de transporte. Posteriormente, el hisopo se coloca en un tubo con caldo de enriquecimiento para su análisis microbiológico (USP, 2023).

Método de contacto directo

Se utilizan placas RODAC (Replicate Organism Detection and Counting), cuyo medio de cultivo sobresale levemente. Se presionan contra la superficie y luego se incuban. Son útiles para monitoreo en áreas limpias y salas blancas (ISO 14698-1, 2003).

Referencias

- APHA (2017). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition. American Public Health Association.
- Cox, C. S., & Wathes, C. M. (1995). Bioaerosols Handbook. CRC Press.
- ISO 14698-1 (2003). Cleanrooms and associated controlled environments – Biocontamination control – Part 1: General principles and methods.
- USP (2023). United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 46-NF 41). U.S. Pharmacopeial Convention.
- van Elsas, J. D., Trevors, J. T., & Wellington, E. M. (2007). Modern Soil Microbiology. CRC Press.
- WHO (2003). Guidelines for Drinking-Water Quality, 3rd Edition. World Health Organization.

Willeke, K., & Baron, P. A. (1993). Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications. Wiley.

CAPÍTULO 14

Toma de muestra microbiológica en medicina veterinaria

María Clara Vercellini y Johana Almirón

Introducción

El muestreo microbiológico en animales es clave para el diagnóstico de enfermedades infecciosas, control epidemiológico, salud pública y producción animal. Las especies animales presentan particularidades anatómicas y fisiológicas que requieren criterios adaptados por especie, tipo de muestra y patología sospechada (Quinn et al., 2011).

Las técnicas de recolección deben garantizar representatividad, minimizar el estrés animal, asegurar bioseguridad y evitar contaminaciones.

Perros y gatos (pequeños animales de compañía)

Las muestras más frecuentes en estos animales incluyen:

Hisopados orofaríngeos y nasales: en casos de infecciones respiratorias.

Urocultivos: especialmente en gatos, mediante cistocentesis estéril.

Muestras de oído externo: en otitis, con hisopo estéril y medio de transporte adecuado.

Muestras dermatológicas: raspados, pelos, costras, secreciones, especialmente para bacterias y dermatofitos.

Secreciones genitales en casos de infección uterina con hisopo estéril se introduce en la vagina hasta el cérvix o leche en hembras lactantes con signos clínicos de mastitis.

Es importante considerar la microbiota y posibles contaminaciones durante la recolección (Greene, 2012).

Rumiantes (bovinos, ovinos, caprinos)

En estos animales la toma microbiológica se orienta a:

Mastitis: muestra de leche estéril previa limpieza del pezón; se utilizan frascos estériles.

Metritis y vaginitis: hisopados vaginales con espéculo, evitando contaminación fecal.

Abortos: placenta, líquido amniótico, contenido estomacal del feto, hígado y pulmón fetal.

Enteritis neonatales: hisopado rectal o contenido intestinal en necropsias.

También se realizan urocultivos por cateterismo o punción vesical (Radostits et al., 2007).

Equinos

En caballos, la toma microbiológica incluye:

Hisopados uterinos y endometriales: en yeguas reproductoras, se utilizan hisopos protegidos.

Secreciones respiratorias: muestras por lavado traqueal o bronco alveolar.

Cultivo de heridas: por traumas o postquirúrgico, hisopado profundo con medio de transporte.

Muestras oftálmicas: raspados corneales para cultivo bacteriano o fúngico.

Cuando se tome la muestra se debe considerar la alta sensibilidad de los equinos al estrés y manipulación (Quinn et al., 2011).

Cerdos

Frecuente en medicina poblacional y producción:

Muestras nasales y faríngeas: para detectar portadores de *Streptococcus suis*, *Actinobacillus*, *Mycoplasma*.

Hisopados vaginales o prepuciales en hembras y machos respectivamente

Muestras de órganos en necropsias colectivas.

Controles de agua y alimento para detección de *Salmonella spp.*

Importa la trazabilidad por lote y edad (OIE, 2021).

Pequeños roedores de laboratorio

Muestras fecales y rectales: para enterobacterias o parásitos.

Hisopados orales y nasales: para seguimiento de infecciones respiratorias (*Mycoplasma pulmonis*, *CAR Bacillus*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella pneumoniae* Virus Sendai, Virus de la pneumonia del ratón, entre otros.).

Examen post mortem: se realiza cultivo de órganos como hígado, bazo, pulmón, contenido cecal y piel bajo condiciones de esterilidad.

En estas especies es vital mantener condiciones sanitarias del bioterio y la clasificación sanitaria del mismo (Fox et al., 2015).

Aves de corral y ornamentales

Hisopado cloacal: útil para vigilancia de *Salmonella spp*, *Campylobacter spp*, *E. coli. spp*

Hisopado traqueal: en enfermedades respiratorias virales o bacterianas.

Órganos internos en necropsia: bazo, hígado, saco aéreo, hueso.

Muestras ambientales: cama, agua, alimento.

Se deben respetar las normativas de sanidad aviar vigentes (SENASA, 2023).

Consideraciones generales

Transporte: en medio Stuart, Amies o Cary-Blair, según tipo de muestra y microorganismo buscado.

Refrigeración: a 4–8 °C, salvo indicación contraria (por ejemplo, para micoplasmas o hongos).

Precauciones zoonóticas: uso de EPP en casos sospechosos de leptospirosis, brucelosis, rabia, ántrax u otras zoonosis.

La interacción del médico veterinario con el laboratorio es fundamental para lograr una interpretación diagnóstica eficiente (Quinn et al., 2011).

Referencias

- Fox, J.G., Anderson, L.C., Otto, G., Pritchett-Corning, K.R., & Whary, M.T. (2015). *Laboratory Animal Medicine*. 3rd ed. Academic Press.
- Greene, C.E. (2012). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th ed. Elsevier.
- OIE (2021). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Organisation for Animal Health.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., FitzPatrick, E.S., Fanning, S., & Hartigan, P.J. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2nd ed. Wiley-Blackwell.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. (2007). *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*. 10th ed. Saunders Elsevier.
- SENASA (2023). *Normativas Sanitarias para Avicultura*. Ministerio de Agricultura, Argentina.

CAPÍTULO 15

Toma de muestras microbiológicas en alimentos

Miguel Ángel Ayala y María Clara Vercellini

Introducción

La toma de muestras microbiológicas en alimentos es una etapa crítica en los programas de control de calidad y vigilancia sanitaria, ya que permite detectar la presencia de microorganismos patógenos o que alteran y contaminan los alimentos, asegurando así la inocuidad alimentaria (ICMSF, 2005). La representatividad de la muestra, el tipo de alimento y las condiciones de transporte e inocuidad son aspectos fundamentales para la confiabilidad de los resultados.

Consideraciones Generales

La correcta toma de muestras requiere de personal capacitado, materiales estériles, y un protocolo riguroso para evitar contaminaciones cruzadas. Las muestras deben ser representativas del lote y mantenerse en condiciones adecuadas de temperatura durante el transporte al laboratorio, generalmente entre 0 °C y 4 °C (FAO/OMS, 2016).

Toma de muestra en carnes

Las carnes frescas, crudas o procesadas presentan un alto riesgo microbiológico debido a su composición rica en nutrientes y humedad. Se recomienda tomar las muestras con hisopos estériles en superficies de contacto o mediante cortes asépticos en el producto. Para análisis cuantitativos, se toman al menos 25 gramos del producto, colocados en bolsas estériles tipo stomacher (ISO 17604:2015).

En canales o piezas grandes, como las reses en mataderos, se utiliza el hisopado de áreas definidas (100 cm²) para monitorear la presencia de patógenos como *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 (EFSA, 2023).

Ejemplo: En una planta frigorífica se realiza la toma de muestra en una media res colgada en cámara de enfriamiento. Se seleccionan cuatro áreas predeterminadas (cuello, pecho, lomo y pernil), se delimitan con plantilla estéril de 100 cm² y se hisopan con movimientos horizontales y verticales. Los hisopos se colocan en tubos con medio de transporte y se mantienen refrigerados para su envío al laboratorio.

Toma de muestra en lácteos

Los productos lácteos, especialmente los no pasteurizados, son susceptibles a la contaminación por *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Brucella spp.* Las muestras deben recogerse en envases estériles, de boca ancha, y preferentemente bajo condiciones de refrigeración. En el caso de quesos, yogures y otros productos sólidos o semisólidos, se toma una porción representativa del lote, asegurando un mínimo de 100 g para ensayos múltiples (APHA, 2015).

Es importante registrar la temperatura del producto al momento de la toma de muestra, así como su estado (fresco, vencido, abierto, etc.), ya que influye en la interpretación de los resultados microbiológicos (FDA, 2020).

Ejemplo: En una planta quesera artesanal se toma una muestra de queso fresco sin pasteurizar. Se utiliza un cuchillo estéril para cortar una porción de 100 g del centro del queso, evitando bordes contaminados por manipulación. La muestra se coloca en un frasco estéril, se etiqueta y se conserva en frío hasta su análisis.

Toma de muestra en embutidos

Los embutidos pueden ser crudos, cocidos o curados, y cada tipo requiere consideraciones específicas. En los crudos, como el chorizo fresco, se busca detectar patógenos como *Salmonella spp* y *Clostridium perfringens*. En los curados, como los salames, se debe considerar la posible presencia de bacterias halotolerantes y mohos.

La muestra debe obtenerse cortando el embutido con cuchillo estéril en un ambiente controlado, evitando la exposición al aire por tiempo prolongado. Se recomiendan entre 25 y 100 g de muestra según el análisis requerido (ICMSF, 2005; ISO 6887-2:2017).

Toma de muestra en verduras

Las frutas y verduras, especialmente las de hoja verde, pueden ser portadoras de microorganismos como *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. debido al contacto con agua contaminada o malas prácticas agrícolas (FAO, 2016).

Se deben tomar unidades completas, lechugas, zanahorias, tomates, entre otras, con guantes estériles, o porciones representativas si se trata de productos ya cortados o envasados. En laboratorio, se homogeniza la muestra en diluyente estéril para su análisis. Para productos listos para consumo, se deben analizar muestras compuestas de diferentes unidades del lote (AOAC, 2019).

Ejemplo: En una feria agroecológica se toma una muestra de espinaca recién cosechada. Se seleccionan varias hojas de distintas plantas, se colocan en una bolsa estéril tipo stomacher, se rotula y se mantienen refrigeradas hasta su ingreso al laboratorio para análisis de *E. coli* spp y *Salmonella* spp.

Técnicas de toma de muestra, conservación y transporte

Métodos de toma de muestra

La elección de la técnica depende del tipo de alimento, su estado si es sólido, líquido, empacado, entre otros y el objetivo del análisis es cuantitativo o cualitativo. Las técnicas más empleadas incluyen:

Muestreo con hisopos estériles

Esta técnica es ampliamente utilizada para evaluar la contaminación superficial de alimentos y superficies de contacto. Se emplea un hisopo estéril humedecido con solución salina tamponada o agua de peptona, frotando sobre una superficie delimitada, generalmente de 100 cm², siguiendo movimientos horizontales y verticales (ISO 18593:2018).

Toma de porciones representativas

Para alimentos sólidos como quesos, embutidos, frutas y vegetales, se corta una porción con utensilios estériles en condiciones higiénicas. La muestra debe ser representativa del lote, evitando áreas dañadas o visiblemente contaminadas (APHA, 2015).

Muestreo con pinzas estériles o jeringas

En productos líquidos como leche o jugos, se extrae el volumen requerido mediante jeringas estériles o se vierte directamente en frascos de boca ancha, siempre en condiciones asépticas (FDA, 2020).

Muestreo compuesto

Esta técnica consiste en combinar porciones individuales de varias unidades de un mismo lote, para obtener una muestra global (FAO/OMS, 2016).

Conservación de muestras

Una vez recolectada, la muestra debe conservarse en condiciones adecuadas para evitar alteraciones en la carga microbiana. La refrigeración entre 0 °C y 4 °C es la práctica más común (ICMSF, 2005). Para hisopos u otros elementos recolectores, se colocan en tubos con medio de transporte, como agua de peptona tamponada o solución de Stuart (ISO 18593:2018).

Las muestras deben almacenarse en recipientes estériles (bolsas stomacher, frascos con tapa hermética) dentro de conservadoras con acumuladores de frío, sin contacto directo con el hielo (APHA, 2015).

Transporte al laboratorio

El transporte debe realizarse lo más rápido posible, preferentemente dentro de las 4 a 6 horas siguientes a la recolección. Las principales recomendaciones incluyen:

Etiquetado correcto: cada muestra debe estar identificada con tipo de alimento, fecha, lugar y responsable (ISO 7218:2007).

Registro de temperatura: debe mantenerse el rango de 0–4 °C con termómetros o registradores (FDA, 2020).

Medios de transporte seguros: conservadoras con aislamiento térmico (ICMSF, 2005).

Documentación completa: formulario de remisión con datos del muestreo y condiciones del producto (AOAC, 2019).

Referencias

- AOAC International. (2019). Official Methods of Analysis. 21st ed.
- APHA. (2015). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association.
- EFSA. (2023). Scientific Opinion on the public health risks related to food-borne pathogens in meat. European Food Safety Authority.
- FAO/OMS. (2016). Principios generales para el muestreo de alimentos. Codex Alimentarius.
- FDA. (2020). Bacteriological Analytical Manual (BAM). U.S. Food and Drug Administration.

- ICMSF. (2005). *Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities*. Springer.
- ISO 17604:2015. *Microbiology of the food chain – Carcass sampling for microbiological analysis*.
- ISO 18593:2018. *Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling*.
- ISO 6887-2:2017. *Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products*.
- ISO 7218:2007. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations*.

Los autores

Coordinadores

Ayala, Miguel Ángel

Doctor en Ciencias Veterinarias, Bacteriólogo Clínico e Industrial y Médico Veterinario egresado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP). Director del LAE FCV UNLP. Profesor Titular. Docente de los cursos Introducción a la Ciencia de los Animales de Laboratorio en la carrera de Medicina Veterinarias y Técnicas de Muestreo, Animales de Laboratorio, Gestión y Acreditación del Laboratorio y Prevención y Control de Enfermedades Infecciosas de la carrera de Microbiología de la FCV-UNLP. Coordinador del libro Ciencia y Bienestar de los Animales de Laboratorio, UNLP. EDULP. Tiene varias publicaciones en revistas científicas y presentaciones de trabajos en congresos relacionados con la Ciencia de Animales de Experimentación y Microbiología. Director Estudio de los factores que influyen en el bienestar de ratas y ratones de experimentación durante los procedimientos experimentales Parte 2.

Milocco, Silvana

Médica Veterinaria recibida en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP). Realizó la Especialidad en Ambiente y Patología Ambiental dictada por la UNLP y la Universidad de los Estudios de Siena (Italia). Master's in sciences with major in Veterinary Medicine (SLU, Suecia). Profesora Adjunta del curso Introducción a la Ciencia de los Animales de Laboratorio de la carrera de Medicina Veterinaria y de los cursos Técnica de Muestreo, Animales de Laboratorio y Gestión de Plagas y Biorremediación de la carrera de Microbiología de la FCV-UNLP. Editora del libro "Ciencia y tecnología en experimentación y protección animal" McGraw Hills, 2001. Tiene varias publicaciones en revistas científicas y presentaciones de trabajos en congresos relacionados con la Ciencia de Animales de Experimentación y Microbiología

Autores

Almirón Johana Pamela

Se recibió como Médica Veterinaria en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata. Auxiliar Diplomada en la cátedra de Animales de Laboratorio. Docente del curso Introducción a la Ciencia de los Animales de Laboratorio en la Carrera de Medicina Veterinaria y Técnica de Muestro de la Carrera de Microbiología de la FCV-UNLP. Actualmente, realiza su tesis doctoral titulada Prevalencia de infección por *Corynebacterium kutscheri* en colonias de ratones en bioterios de Argentina, en el Laboratorio de Animales de Experimentación (LAE_FCV_UNLP).

Carriquiriborde, Martín

Licenciado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (FCNyM, UNLP). Profesor Adjunto de la Cátedra de Animales de Laboratorio, Docente de los cursos Técnica de Muestreo y Animales de Laboratorio de la Carrera de Microbiología e Introducción a la Ciencia de los Animales de Laboratorio, Fac. de Cs. Veterinarias, UNLP. Microbiological contaminations of laboratory mice and rats in conventional facilities in Argentina. Rev Argentina Microbiología. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.05.003>. 2020. Potential therapeutic targets for growth arrest of colorectal cancer cells exposed to PTHrP. Molecular and Cellular Endocrinology <https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.07.005>. 2018. Patogenicidad microbiana en Medicina Veterinaria. Volumen: Bacteriología. Capítulo Mecanismos de patogenicidad bacterianos. 2018. Autor de varios capítulos del libro Ciencia y Bienestar de los Animales de Laboratorio, UNLP. EDULP.

Pacha Andrea Silvia

Licenciada en Biología Orientación en Zoología, egresada de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo y Bacterióloga Clínico e Industrial egresada de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos de los cursos Técnicas de Muestreo y Gestión y Acreditación del Laboratorio de la carrera de Microbiología de la FCV-UNLP. Autora del trabajo Evaluación de la contaminación por microorganismo humanos en superficies inertes de un aula- laboratorio de microbiología. XVI Congreso Argentino de Microbiología.

Vercellini, María Clara

Dra. en Ciencias Veterinaria y Médica Veterinaria egresada de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata. Profesora Adjunta en el Laboratorio de Animales de Experimentación. Docente del curso Introducción a la Ciencia de los Animales de Laboratorio en la carrera de Medicina Veterinaria de la FCV-UNLP. Se desempeña como profesional de apoyo en el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE- CONICET). Participa como miembro de CICUAE de la Facultad de Ciencias Naturales de la UNLP desde 2023. Realizó su tesis doctoral en el Laboratorio de Parásitos y Patógenos de Peces, Moluscos y Crustáceos del CEPAVE y el Laboratorio de animales de experimentación (LAE)

Ayala, Miguel Ángel

Técnicas de muestreo / Miguel Ángel Ayala ; Silvana Nora Milocco ; Coordinación general de Miguel Ángel Ayala ; Silvana Nora Milocco. - 1a ed. - La Plata : Universidad Nacional de La Plata ; La Plata : EDULP, 2026.

Libro digital, PDF - (Libros de cátedra)

Archivo Digital: descarga

ISBN 978-950-34-2785-9

1. Microbiología. I. Milocco, Silvana Nora II. Ayala, Miguel Ángel, coord. III. Milocco, Silvana Nora, coord. IV. Título.

CDD 636.089

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata

48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina

+54 221 644 7150

edulp.editorial@gmail.com

www.editorial.unlp.edu.ar

EduLP integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2025

ISBN 978-950-34-2785-9

© 2025- EduLP

n
naturales


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA