

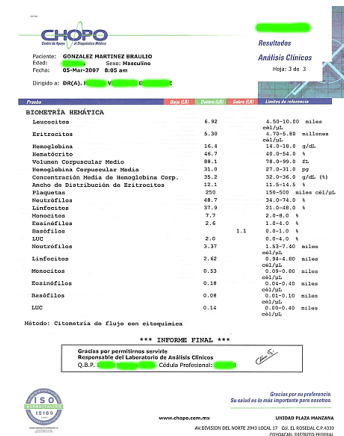
TÉCNICA DE SELECCIÓN Y EXTRACCIÓN DE MUESTRA BIOLÓGICA

1. Obtención de muestras biológicas para análisis clínicos:

El laboratorio de análisis se utiliza para establecer el diagnóstico y el tratamiento de un paciente, su fin es aportar informes analíticos, pero la información del informe depende de la calidad del laboratorio. Así que los técnicos de laboratorio tienen que llevar una correcta utilización del material y de los reactivos, pero son fundamentales la recogida, la manipulación, el procesamiento y la conservación.

1.1 Solicitud de pruebas analíticas:

Los clínicos realizan una solicitud al laboratorio, esa petición normalmente se hace en un impreso especial, en ese impreso se incluyen una relación de las pruebas, tiene que llevar datos del paciente (identificación, nombre, edad, fecha de solicitud del análisis, número de la Seguridad Social), facultativo que hace la petición, y a veces otros datos que al laboratorio le conviene pedir (si es urgente, si el paciente está con tratamiento, en caso de que sea así pedir la dosis del fármaco, pueden pedir la historia clínica, etc.). La mayoría de las veces los impresos son diferente según el tipo de análisis que se solicite, puede haber un impreso para pruebas bioquímicas, otro para análisis hematológicos... pero a veces un único impreso es para todas las peticiones. El paciente ambulatorio, no hospitalizado, acude al laboratorio, previa cita, y entrega los impresos de solicitud de análisis, en la parte de administración del laboratorio, el paciente debe ser informado de a dónde tiene que ir para hacer la recogida de muestras, llegado allí se le asigna un número de entrada que va a figurar en todos los impresos de solicitud y ese número va a figurar también en los tubos o recipientes de recogida de muestras del paciente. Si el paciente está hospitalizado, el personal sanitario de la planta se ocupa de llevar al laboratorio la petición analítica y las muestras, actualmente, se tiende a dar un tratamiento computerizado a las peticiones que llegan al laboratorio, con el que se reducen los errores y hay mayor rapidez en el trabajo, es importante hacer revisiones periódicas en el servicio.



1.2 Recogida de muestras de sangre:



La sangre es el fluido más utilizado en el laboratorio para fines analíticos, se pueden utilizar 3 procedimientos, punción cutánea, punción venosa o arterial, las características de la sangre varían, así que la extracción de una muestra de sangre lleva a una serie de etapas que comienzan identificando al paciente y asignarle un número, y además sirve para reservar la identidad del paciente. Algunas pruebas convienen que el paciente esté en ayunas, o que se haya realizado una dieta previamente, así que el técnico que realice la toma de muestras tiene que asegurarse que el paciente esté en condiciones óptimas para realizar la toma de muestra y tiene que ayudar a que el paciente se tranquilice. Así que la colocación del paciente para realizar esta toma de sangre puede

ser tumbado o sentado, en cualquier caso tiene que ser de manera confortable, con el brazo extendido, se necesitan tubos de recogida, compresor, alcohol 96°-70°, sistemas de vacío o jeringas, lancetas, algodón o gasa. Actualmente la jeringa se usa para extraer una muestra de sangre en pacientes con venas finas o frágiles, además el calibre de la aguja y la capacidad de la jeringa van a depender del tipo de vena y de la cantidad que quiera extraer.

El sistema de vacío es la forma más frecuente de obtención de muestras de sangre, permite que la sangre pase directamente de la vena al tubo, y por lo tanto se mezcla enseguida con el anticoagulante, el lugar de punción y la técnica de extracción depende del tipo de sangre que interese y también del paciente (edad, obesidad, cicatrices extensas, si realiza extracciones frecuentemente...). Una vez que se realiza la punción los tubos se envían al laboratorio para su procesamiento.

La punción cutánea es el método de extracción más utilizado en niños, sobre todo en recién nacidos y, a veces, en pacientes geriátricos. Esta punción cutánea en recién nacidos se realiza en la superficie externa del talón, en niños mayores de un año, se puede hacer en la superficie palmar de la última falange del segundo, tercer o cuarto dedo de la mano. No se debe pinchar a una profundidad mayor de 2,4 mm. en el talón, y no mayor a 3,1 mm. en el dedo, la técnica comprendería los siguientes pasos:

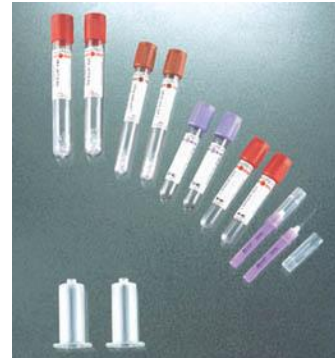
1. Hay que seleccionar el punto adecuado para la punción.
2. Calentar la zona, no a una temperatura mayor de 42°C, se utilizará para aumentar el flujo de sangre.
3. Se limpia con alcohol de 70° o isopropílico y se deja que seque.
4. Se realiza la punción con una lanceta estéril, rápida y casi paralela a la piel.
5. Desechamos la primera gota de sangre, con una presión muy suave del dedo pulgar se regula el flujo de sangre.
6. Recogemos la muestra en tubos capilares, simplemente por capilaridad o con aspiradores.
7. Se sella el capilar con plastilina, esos tubos llevan anticoagulante que está liofilizado.
8. Se lava la zona y se coloca una gasa estéril y se efectúa una leve presión.

La punción venosa es el principal método de obtención de sangre en el laboratorio, pero esta punción se debe realizar en los siguientes pasos:

1. Elegir la vena adecuada, cubital media o sin la cefálica o la basilíca, pero en algunas ocasiones también se usan venas de la muñeca, del tobillo o de la mano.
2. Se limpia con alcohol y se deja secar.
3. Se aplica un compresor colocándolo varios centímetros por la zona de punción con un nudo que se suelte fácilmente. Esto provoca un éxtasis del retorno venoso y entonces las venas se ven mejor y eso facilita la punción. No se debe dejar colocado este compresor más de 2 minutos. El compresor debe ser una goma elástica como mucho 1,2 cm. De ancho.
4. Se pide al paciente que cierre el puño para que las venas sean más palpables.
5. A continuación se fijan las venas por encima y debajo de la zona de punción mediante los dedos índice y pulgar.
6. Se realiza la punción con un ángulo de 30° respecto al brazo, el bisel de la aguja debe estar hacia arriba.
7. La extracción puede hacerse con jeringa o sistema de vacío, si es con jeringa una vez que hemos entrado en la vena se tira muy suave del émbolo hasta que va entrando la



sangre en la sangre en la jeringa, si es con sistema de vacío se introduce el tubo dentro del portatubos con una presión firme con el pulgar se perfora el tapón del tubo mediante la prolongación de la aguja, la sangre entonces pasa al tubo, una vez que está lleno se retira y sin quitar la aguja se pone otro tubo y así sucesivamente. Además se recomienda seguir un orden de extracción, primero se rellenan los tubos sin anticoagulante, luego con anticoagulante, primero citrato, luego heparina, luego los de EDTA (etilen diamino tetraacético) y por último los que tienen oxalato de fluoruro, se hace así para evitar contaminaciones.



8. Una vez recogida la muestra se retira el compresor, se pide al paciente que abra la mano y se saca la aguja de la vena.
9. Con un algodón o gasa estéril se presiona la zona de punción y se mantiene unos minutos.

En una extracción se puede producir una hemólisis de la sangre por:

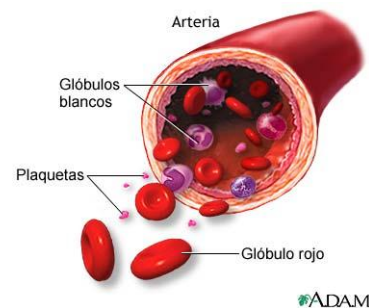
- a) Forzar el paso de la sangre
- b) Agitar los tubos enérgicamente
- c) No dejar secar el desinfectante
- d) Sacar sangre de un hematoma

Hay muchas pruebas que se pueden alterar por hemólisis como el colesterol, la mayoría de las enzimas, el hierro, etc.

Cuando la punción en las venas elegidas resulta imposible podemos recurrir a la vena femoral o yugular en los niños.

La punción arterial sirve para la determinación de gases en sangre que a veces es imprescindible para el diagnóstico de algunas enfermedades, como por ejemplo el estudio de neumonías, embolia pulmonar, etc. En la sangre arterial interesa conocer la presión de O_2 , la presión de CO_2 y la medida del pH, la punción arterial es más difícil que la venosa y comprende los siguientes pasos:

- 1) Tranquilizar al paciente y tenerlo unos minutos en posición de descanso.
- 2) Seleccionamos la arteria adecuada, radial y femoral.
- 3) Para evitar la hiperventilación debido a la ansiedad se suele anestesiarse al paciente.
- 4) Se realiza la punción con una jeringa que lleva heparina. Se comprimen las arterias radial y cubital hasta que la palma de la mano palidezca. Liberamos la arteria cubital y se observa si la mano vuelve a enrojecer si no enrojece no se puede pinchar la arteria (prueba de Allen).
- 5) Se palpa la arteria, se limpia la zona y colocamos el dedo sobre la arteria, al entrar la sangre en la jeringa desplaza el émbolo.
- 6) Retiramos la jeringa y con una gasa presionamos la zona de extracción unos segundos, a veces con un peso.
- 7) Expulsamos las burbujas de aire de la jeringa si las hubiera.
- 8) Retiramos la aguja, tapamos la jeringa y con un movimiento suave de inversión se mezcla la sangre con el anticoagulante. Esta muestra tiene que ser inmediatamente llevada al laboratorio, a veces se pone en un baño con hielo para llevarla. La muestra debe ser analizada lo antes posible porque sino los leucocitos consumen el O_2 y se altera el resultado de la analítica.



ADAM.



Tras localizar el área de pulso, se toma una muestra de sangre de la arteria

ADAM.

1.3 Recogida de muestras de orina:

Para diagnosticar y controlar el tratamiento de enfermedades del tracto urinario o del riñón y de algunas alteraciones metabólicas. El examen de la orina se puede realizar bajo tres puntos de vista: bioquímica, bacteriológica y microscópico:

- Bioquímico, sirve para analizar niveles de metabolitos
- Bacteriológico, sirve para verificar la presencia de microorganismos contaminantes
- Microscópico, interesa para comprobar la presencia de elementos formes en la orina



La recogida de una muestra de orina puede realizarse al azar, en una sola micción, o en un tiempo predeterminado, que se recoja de una forma u otra depende del parámetro que queremos utilizar.

Debemos utilizar un recipiente estéril si se va a realizar un examen microbiológico y químicamente limpio si se va a realizar cualquier otro análisis.

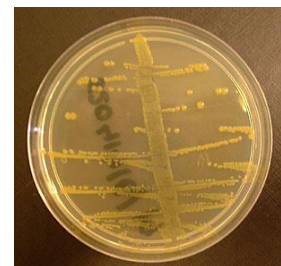
La extracción mediante la colocación de una sonda en la vejiga del paciente puede tener el riesgo de introducir una infección de vejiga.

La recogida al azar es la indicada en los análisis de rutina, se prefiere que la muestra sea de la primera micción y no es importante el volumen, esa muestra sirve para analizar glucosa, proteínas, pH, hematíes, leucocitos, etc. La recogida tiene que hacerse en condiciones higiénicas. Es necesario enjuagarse los genitales con agua y jabón, la orina se recoge directamente sobre el recipiente, tiene que tener una tapa que se ajuste bien y debe llevar la identificación del paciente. En un tiempo predeterminado se realiza según un horario previsto, y es importante que al paciente se le informe del horario al que debe atenerse para recoger una muestra y a veces la dieta previa que debe hacer. Es importante la hora de recogida de la muestra y el volumen, un caso de esta modalidad es la recogida de orina en 24h. En estos casos se debe indicar al paciente que desprece la primera orina de la mañana, y se recoge en recipientes todas las micciones de ese día, incluida la primera de la mañana siguiente. Todo eso es lo que se lleva al laboratorio.



En los casos de diabetes es necesario diferenciar la glucosuria tras cada comida principal, para eso se recoge en un recipiente la orina desde que el paciente se levanta hasta después del desayuno, y se excluye la primera de la mañana, en un segundo recipiente se recoge la orina hasta después de comer, y en un tercero hasta la primera de la mañana del día siguiente, a esto se le llama recogida fraccionada.

Hay otra prueba llamada SOG (sobrecarga oral de glucosa) es una prueba que mide el médico para determinar si hay posible diabetes, en este caso al paciente se le administra una determinada cantidad de glucosa, y se hacen distintas tomas de sangre y recogidas de orina a lo largo de la prueba que suelen durar aproximadamente 3 horas.



1.4 Recogida de muestras de heces:

Es útil para el diagnóstico de enfermedades parasitarias, diarrea, casos en los que hay malabsorción, ictericia destructiva, pérdida de sangre en el tracto intestinal...

El examen de las heces comprende la observación macroscópica, análisis químicos, examen bacteriológico y parasitológico de las heces,

Normalmente se excretan entre 100-200g. diarios. La cantidad, el color, la forma y la presencia de moco son datos a tener en cuenta.

La recogida de la muestra de heces se realiza en un recipiente limpio, evitando que se contamine con orina, ya que esta podría afectar a algunos parásitos.

Se recoge a partir del recipiente cara un utensilio de transporte con ayuda de un depresor lingual que estará limpio.

En niños menores de 2 años se utiliza un sistema que consiste en una bolsa de plástico que se adhiere la goma anal del niño, de esta manera se recoge a muestra sin contaminación.

La cantidad de heces recogidas en 24h. no está relacionada con la comida ingerida, porque el aparato gastrointestinal no puede realizarse completamente; por eso, para determinar la excreción fecal de cualquier sustancia en 24h. lo que se hace es recoger las heces de 3 días seguidos, haciendo el promedio de los resultados.

Para el estudio de sangre en heces es conveniente hacer una dieta previa (sin carnes y a base de arroz y pasta).

Se toma una muestra de materia fecal para determinar la presencia del rotavirus



ADAM

1.5 Recogida de otras muestras:

Exudados corporales: la llevarán a cabo los laboratorios de microbiología. A veces, la toma de muestras hay que hacerla intuitivamente porque la lesión no está a la vista.

- Exudados nasofaríngeos: La faringe tiene gérmenes que constituyen la flora saprofita (gérmenes no malignos) pero que pueden causar enfermedades cuando se encuentran aumentados en número. Sin embargo, hay gérmenes que aunque estén en pequeña cantidad no son normales y pueden causar enfermedad. La nasofaringe y los senos nasales son la zona adecuada para realizar la toma de muestra. La técnica para la recogida de la muestra es la siguiente:
 - 1) Bajar la lengua mediante un depresor y con un isopo raspar una pequeña zona lesionada
 - 2) Realizar el cultivo en los medios habituales para realizar el examen bacteriológico.
- Exudados vaginales y uretrales: La flora patológica genital está constituida por gérmenes que aislaremos de las propias lesiones; así que la muestra será tomada del lado justo de la lesión. La técnica es la siguiente:
 - 1) Con el isopo recogemos la muestra de la propia lesión (uretra, vagina...)
 - 2) Preparamos un exudado en fresco para observar la presencia de leucocitos, esporas de hongos o parásitos.
 - 3) Realizamos una segunda toma para realizar un cultivo y llegar a identificar el germen que provoca la lesión.
- Exudados conjuntivales: Se hará casi inmediatamente porque la lágrima lleva la enzima llamada lisozima que si se deja pasar el tiempo puede inactivar el crecimiento del cultivo. La técnica es la siguiente:
 - 1) Arrastrar el isopo por la conjuntiva del ojo, separando un poco el párpado inferior.
 - 2) Realizamos un cultivo en medios adecuados. Se tendrá en cuenta la utilización de isopos y cultivos distintos para cada ojo.
- Exudado ótico: La técnica es la siguiente:
 - 1) Limpiar el canal auditivo con un desinfectante, porque tiene gran cantidad de contaminantes.
 - 2) Introducimos un isopo estéril con cuidado de no dañar el tímpano y arrastrar una pequeña cantidad de exudado.



Figura 3 Conjuntivitis hiperaguda. La secreción aumentada de fibrina ha hecho que ésta precipite adhiriéndose a la conjuntiva generando una pseudomembrana.

- 3) Se siembra directamente. Se tendrá en cuenta utilizar isopos y siembras distintos para cada oído.

Espustos: Dan información sobre neumonía y tuberculosis. La muestra válida es la que procede de la primera expectoración del día, porque es la que tiene mayor contenido purulento o mucoso. La técnica es la siguiente:

- 1) El paciente recogerá la muestra en un recipiente estéril, descartándose las que tienen saliva.
- 2) Se lleva la muestra al laboratorio y se procesa.



Hay métodos que facilitan la recogida de muestras:

- Ayudarse con percusión para que la secreción se despegue
- Realizar inhalaciones de suero salino fisiológico.

Hemocultivos: La presencia de microorganismos en sangre refleja que hay una infección activa y diseminada cara otros tejidos, por lo que es más importante comunicar rápidamente los resultados para hacer un tratamiento eficaz. Si el cultivo es negativo se descartará una infección bacteriana.

Esta técnica se llevará a cabo en pacientes con fiebre de origen desconocida y de más de 3 días, cuando hay un cuadro de septicemia, enfermos debilitados o después de una intervención quirúrgica.

No se debe realizar un hemocultivo si el paciente está con un tratamiento antibiótico, porque este hace que los gérmenes supervivientes no crezcan bien en los medios de cultivo aunque sí sean capaces de restablecer el cuadro. La técnica para un hemocultivo es la siguiente:

- 1) Tomamos 3 muestras seriadas durante 24 o 48 h. y es preferible tomar la muestra un poco antes de que suba la fiebre. Nosotros lo haremos cuando haya un poco de fiebre.
- 2) Haremos la extracción estéril utilizando 2 agujas, una se desechará después de realizar la extracción y la otra se utilizará para taladrar.
- 3) Utilizaremos anticoagulante citrato para que no se formen coágulos y los gérmenes no queden atrapados en ellos.



En el mercado existen equipos estériles que contienen una aguja que se mete en el frasco en el que se hace el cultivo y que lleva presión negativa para facilitar la entrada de sangre. Puede tener una atmósfera enriquecida con CO₂, y llevará también anticoagulante.

La aguja irá metida en una especie de tubo de goma y en el otro extremo del tubo hay una aguja que es la que se utiliza para hacer la extracción. Cualquier vena asequible servirá para hacer la extracción, pero en los niños se preferirá la vena yugular.

2. Manipulación de muestras biológicas:

Una vez que la muestra se obtuvo esta tiene que llegar al laboratorio adecuado, esta etapa es delicada para muestras como por ejemplo la sangre porque las células sanguíneas y elementos formes son muy frágiles, durante la manipulación de las muestras se ha de ser cuidadoso para evitar pérdidas o derrames, cambios de identificación, rotura de tubos... Además los técnicos que operan con las muestras deben protegerse con equipos adecuados. El sistema de transporte depende del centro sanitario, es diferente en un hospital o en un laboratorio central.

2.1 Sistema de transporte de muestras:

El laboratorio donde se realiza el análisis de la muestra puede estar más o menos alejado del centro donde se hace la recogida, la extracción de la muestra, y esto va a condicionar el sistema de transporte.





Así por ejemplo en un hospital las muestras se suelen transportar utilizando un sistema de tubos neumáticos, y esto son unos compartimentos forrados de goma espuma de unos 10 cm. Con capacidad para varias muestras, y se desplazan a lo largo de una especie de tubería, que van desde las diferentes secciones del hospital o desde donde se haga la toma de muestras hasta el laboratorio, en otros hospitales se utilizan la entrega en mano, en la que una persona del centro se encarga de recoger las muestras y las lleva personalmente al laboratorio, pero esto conlleva

mayor tiempo en el transporte, más posibilidades de accidentes con las muestras, mayor exposición de la muestra a cosas no controladas. Las condiciones de transporte con el tubo neumático están controladas y son parecidas independientemente de donde venga la muestra.

En el caso en el que las muestras vienen a un laboratorio centralizado desde zonas que están situadas fuera del centro, para eso se utilizan unas cajas de transporte resistentes y reutilizables, en este caso los tubos se meten en gradillas, y se meten en las cajas de transporte. Los envases grandes se transportan en una especie de bolsas de plástico cerradas, cuando la muestra necesite refrigeración entonces se usan cajas en las que el interior es de acero inoxidable y se coloca un refrigerante comercial.

En el caso de que las muestras tengan un agente infeccioso tienen que tener unas normas, el tapón del contenedor primario tiene que ir sellado con una especie de cinta adhesiva, ese contenedor tiene que ir enrollado en un material absorbente y luego se introducen en otro



contenedor y este está realizado a prueba de aplastamientos y escapes.



Si se envía una muestra de un laboratorio a otro el que lo envía tiene que facilitar información e instrucciones para su manipulación, y que el laboratorio que lo recibe tiene que cumplir. Cada laboratorio tiene sus propios criterios para aceptar o rechazar una muestra pero en general rechazan la muestra que no están identificadas, rechazan también las muestras que están recogidas en un tubo que no es el adecuado, suelen rechazar las muestras bemoizadas o las que no sean transportadas debidamente.

2.2 Procesamiento de las muestras:

Se entiende por procesamiento de las muestras el período de tiempo comprendido desde que las muestras llegan al laboratorio hasta que son analizadas. Este proceso influye en la calidad de un análisis y se puede llevar a cabo en cada laboratorio, en el mismo lugar que donde se va a analizar o bien se puede centralizar todas las muestras y distribuirlas después para su análisis. Los grandes centros sanitarios utilizan la centralización, este sistema centralizado se realiza con ayuda de terminales de ordenador que facilitan el trabajo, pero en realidad el procesamiento consta de una serie de etapas que son técnicas preparatorias de las muestras.

- Se comienza por sacar las muestras de las cajas.
- Se marcan las muestras con etiquetas, que normalmente se utilizan etiquetas con códigos de barras, así se identifican fracciones alícuotas de las muestras, porque una muestra se puede utilizar en varias secciones.
- Se separan las muestras urgentes para que sean analizadas y procesadas con prioridad.
- Precentrifugación, consiste en clasificar las muestras según el tipo de procesado que les vayamos a dar y eso va a depender de las determinaciones que vayamos a realizar.



- Centrifugación, es necesaria en todo procesamiento, se realiza con las centrifugas y en condiciones estándar, así se obtiene distintas fracciones en función del gradiente de densidad, una vez clasificadas y centrifugadas se distribuyen en tubos, que previamente están identificados y la última etapa es colocar esas fracciones de muestra en gradillas y repartirlas por las distintas secciones del laboratorio. Cada laboratorio debe tener un manual de procesamiento donde se indican todos los procedimientos, y deben estar al alcance de todo el personal del laboratorio, en el que se indican todas las etapas.



3 Procesamiento de las muestras:



A temperatura ambiente las reacciones biológicas transcurren unas 4 veces más rápidas que como lo hacen en el organismo, así que las muestras se conserva bien si el tiempo desde que se obtuvieron hasta que se hace el análisis no es mayor a 1 h. de no ser así la muestra se debe mantener refrigerada entre 4-6 °C pero no se debe refrigerar la sangre para preparar suero o plasma por la siguiente razón, porque podría aumentar mucho los niveles de potasio porque el frío frena o inhibe la bomba Na/K. Los tubos con sangre total deben estar tapados hasta el análisis. El suero o el plasma si se puede

refrigerar, una vez separado de la parte forme de la sangre o incluso congelar a -20 °C según lo que queramos analizar y lo que vayamos a tardar en analizarlo.

La conservación de la muestra de orina es esencial para su integridad porque la orina sufre descomposición microbiológica y alteraciones químicas, normalmente se refrigeran o se les añade un conservante. Si se va a analizar en la orina sustancias que son sensibles a la luz la orina se recoge en un recipiente de color ámbar o sino en un recipiente envuelto con papel de aluminio. Algunos elementos que puede haber en la orina como hematíes, leucocitos o bilirrubina se pueden descomponer rápidamente.

Las heces y otras muestras biológicas, sobre todo cuando son destinadas para análisis bacteriológicos o parasitológicos deben conservarse en unas condiciones requeridas por el germen a estudiar.

3.1 Efectos de la conservación sobre las muestras:



En las muestras conservadas en refrigerador durante mucho tiempo se va a producir una proliferación bacteriana y este aumento va a producir una degradación sobre la muestra.

La congelación a largo plazo también origina alteraciones en las muestras porque actúa sobre sistemas enzimáticos y además produce cambios en la concentración de algunos componentes, por ejemplo las proteínas que son moléculas grandes pueden sufrir cambios en su estructura debido a los cristales de hielo que se originan al congelar,

se comprobó que cuanto más lentamente se realiza la congelación mayores son los efectos negativos porque son mayores los cristales formados.

La descongelación de la muestra ha de hacerse lo más rápidamente posible y no se debe hacer recongelar la muestra.