

### **III. Obtención y transporte de las muestras de pacientes**

Los esfuerzos del laboratorio por aislar *V. cholerae* O1 pueden verse obstaculizados si las muestras se obtienen en cantidad insuficiente o si se recogen o transportan de manera inadecuada. Por lo tanto, en cualquier estudio de laboratorio es crucial recoger muestras adecuadas, usar un medio microbiológico de transporte apropiado para muestras fecales, y transportar oportunamente las muestras al laboratorio (véase el Cuadro III-1).

#### **A. Obtención de las muestras**

##### **1. Muestras fecales**

Las muestras fecales deben recogerse en las etapas iniciales de cualquier enfermedad entérica, cuando los agentes patógenos suelen estar presentes en mayor número en las heces, y antes de que se inicie la antibioticoterapia.

##### ***Recogida de las heces***

Recoja las heces en recipientes limpios (sin residuos de desinfectantes ni detergentes) con tapas de cierre hermético a prueba de fugas. No deben recogerse muestras del cómodo, pues este puede contener residuos de desinfectante. Para obtener heces líquidas de pacientes con diagnóstico presuntivo de cólera puede usarse una sonda rectal. La sonda estéril se lubrica con líquido estéril, se introduce más allá del esfínter rectal y se mueve suavemente dentro del intestino hasta que por el extremo exterior de la sonda comienzan a salir heces líquidas.

Las heces sin conservador se refrigerarán si es posible y serán procesadas dentro de un plazo máximo de 2 horas después de haber sido recogidas. Cualquier grado de desecación de la muestra o un cambio del pH hacia la acidez disminuirá considerablemente el número de bacilos viables. Si se prevé procesar la muestra más de 2 horas después, utilice una torunda de algodón o un hisopo con punta de poliéster estéril, la cual se sumerge en las heces y se deposita luego en medio de transporte de Cary-Blair (las instrucciones para la inoculación de este medio pueden consultarse en la sección B del presente capítulo). Si en las heces hay moco y fragmentos de epitelio intestinal, se deben tomar muestras de ellos con el hisopo. Las muestras conservadas en medios de transporte microbiológicos no necesitan refrigeración, a menos que haya probabilidades de exposición a temperaturas elevadas (>40 °C).

##### ***Recogida de hisopados rectales***

Humedezca un hisopo estéril con punta de algodón en medio de transporte de Cary-Blair (no deben usarse lubricantes para este propósito), introduzca el hisopo en el esfínter rectal hasta alcanzar el conducto anal y, una vez allí, hágalo girar varias veces. Extraiga el hisopo y examínelo para

Cuadro III-1. Obtención de muestras para el diagnóstico del cólera por el laboratorio

Instrucciones para la toma	Muestras fecales	Muestras de suero
Cuándo recoger	Durante el período de diarrea activa (lo antes posible una vez que ha comenzado la enfermedad)	Suero de la fase aguda, si es posible, en los 3 primeros días; suero de convalecencia, entre 10 y 21 días después del inicio <sup>a</sup>
Qué cantidad recoger	Hisopado rectal o hisopado de heces recién emitidas	De 10 a 15 ml de sangre total en adultos, o de 3 a 5 ml en niños
Método de recogida	Hisopado de heces o hisopado rectal colocado en medio de transporte de Cary-Blair	Recoger la sangre en tubo sin anticoagulante, dejar coagular, centrifugar y colocar el suero en un tubo estéril
Almacenamiento de la muestra después de recogerla	Almacenar a temperatura ambiente o refrigerar a 4 °C	Refrigerar o congelar inmediatamente el suero (no congelar la sangre entera)
Transporte	Cerrar muy bien el envase de la muestra para evitar fugas; enviar en recipiente resistente por un servicio de entrega en 24 horas	Colocar las muestras en recipientes bien cerrados sobre bolsas de hielo o hielo seco, enviar en caja aislada por un servicio de entrega en 24 horas

<sup>a</sup>Los títulos de anticuerpos vibriocidas comienzan a elevarse varios días después del inicio de la enfermedad y alcanzan su punto máximo en el término de 10 a 21 días.

## *Obtención y transporte de las muestras de pacientes*

comprobar que contenga materia fecal. Coloque el hisopo en el tubo del medio de Cary-Blair y transpórtelo al laboratorio a temperatura ambiente o refrigerado (4 °C).

### **2. Suero para estudios de anticuerpos**

Obtenga dos muestras de suero (una de la fase aguda y otra de la fase de convalecencia). La de la fase aguda debe recogerse tan pronto como sea posible una vez que ha comenzado la enfermedad (en condiciones ideales, antes de transcurridos tres días), la de la fase de convalecencia, entre 10 y 21 días después del inicio. Además del nombre y la edad del paciente, indique la fecha en que se extrajo la muestra de sangre y la fecha de inicio de la enfermedad.

Recoja las muestras de sangre (10 a 15 ml de adultos y 3 a 5 ml de niños) en tubos sin anticoagulante y déjelas coagular. Centrifugue las muestras y envíe únicamente el suero a analizar. Si no se cuenta con centrífuga, guarde las muestras de sangre en el refrigerador hasta que se forme el coágulo; a continuación, extraiga el suero con todo cuidado mediante una pipeta Pasteur, evitando aspirar los eritrocitos. Coloque el suero sin células en un tubo estéril con tapón de rosca. Si el suero se va a conservar por varios días, es mejor congelarlo que refrigerarlo para evitar la multiplicación de bacterias. Si es posible, envíe las muestras congeladas empacadas en hielo seco o con un paquete frío. Sin embargo, si el suero contiene eritrocitos, no se debe congelar, pues ello ocasionará hemólisis y dificultará el análisis. Si el suero no se centrifugó y se sometió a la técnica de coagulación descrita anteriormente, envíe las muestras refrigeradas (no congeladas), de tal manera que puedan centrifugarse para retirar los eritrocitos remanentes antes de la congelación.

## **B. Medios microbiológicos de transporte**

### **1. Medio de Cary-Blair**

Este es el medio que se prefiere para la conservación y el transporte de *V. cholerae*, debido a que su pH elevado (8,4) es óptimo para esta especie y a que su consistencia semisólida facilita el transporte. El medio de Cary-Blair es estable y después de preparado puede almacenarse hasta por un año en recipientes herméticamente cerrados. Puede usarse para transportar muchos agentes enteropatógenos además de *V. cholerae*. (Las instrucciones para preparar el medio de Cary-Blair aparecen en el Capítulo XI, "Preparación de medios de cultivo y reactivos".)

### ***Inoculación del medio de transporte de Cary-Blair***

Después de recoger la muestra, adoptando las precauciones de asepsia necesarias, introduzca uno o dos hisopos en el medio contenido en el tubo (Figura III-1). Mantenga el algodón del hisopo sumergido en el medio.



Figura III-1. Medio de transporte semisólido de Cary-Blair.

Aplicando las normas de la asepsia, rompa la parte sobrante del palito del hisopo que ha sido tocada por sus dedos. Coloque el tapón en el tubo y apriételo fuertemente. Transporte o almacene el medio inoculado a temperatura ambiente (25 °C) o refrigerado (4 °C).

## 2. Otros medios microbiológicos de transporte

El agua peptonada alcalina (APW) puede emplearse para transportar *V. cholerae* por períodos breves, si no se tiene medio de Cary-Blair. El APW no debe usarse si el subcultivo va a efectuarse más de 6 horas después de la recogida, pues transcurrido ese lapso la multiplicación de otros microorganismos sobrepasará a la de los vibriones.

Si no se cuenta con medio de Cary-Blair, los medios de transporte de Amies (pH 7,4) y de Stuart (pH 7,3) pueden utilizarse para transportar las muestras, pero solo por períodos breves (1 ó 2 días) porque el pH de estos medios no es óptimo para *V. cholerae*. La solución salina amortiguada con glicerol no es apropiada para el transporte de *V. cholerae* y por tanto no debe emplearse.

## C. Muestras directas sin conservador

Si no se pueden usar medios microbiológicos de transporte, una opción consiste en impregnar de heces líquidas un trozo de papel de filtro, gasa o algodón y colocarlo en una bolsa de plástico. La bolsa habrá de cerrarse muy bien para que la muestra conserve la humedad y no se seque. La adición de varias gotas de solución salina a la bolsa puede ayudar a evitar la

deseccación. La refrigeración durante el transporte es aconsejable pero no necesaria.

#### **D. Transporte de las muestras**

El transporte o envío de muestras para estudios diagnósticos por sistemas de reparto públicos o comerciales puede estar sujeto a reglamentos locales o nacionales. El transporte de muestras no debe representar un peligro para los seres humanos o el ambiente y debe proteger la viabilidad de los presuntos agentes patógenos. En el capítulo XII, "Almacenamiento y envío de los aislamientos", se dan instrucciones acerca del envío internacional de muestras para estudios diagnósticos y de agentes causales.

En caso de no existir reglamentos específicos, se sugiere regirse por las siguientes normas para el transporte de muestras para estudios diagnósticos:

- Colocar cada muestra en un envase primario apropiado (tubo de ensayo, recipiente para heces, medio de transporte, vial de suero).
- Colocar los recipientes primarios en un recipiente secundario no desechable, impermeable y con suficiente material absorbente (por ej., algodón en rama, toallas de papel) para absorber cualquier posible derrame del recipiente primario.
- Las muestras pueden refrigerarse si se colocan en una caja junto con bolsas de material refrigerante congelado (las cuales pueden adquirirse en el comercio o improvisarse). Si se opta por usar hielo en vez de bolsas de material refrigerante, el agua de deshielo no debe introducirse en los tubos que contienen las muestras ni gotear del recipiente secundario. Cuando se use hielo, los recipientes con las muestras se colocarán dentro de bolsas impermeables de plástico que puedan cerrarse herméticamente.
- Las muestras congeladas solo pueden mantenerse en ese estado si se empacan en hielo seco (CO<sub>2</sub> sólido). Se debe emplear suficiente hielo seco para mantener la muestra congelada hasta que la reciba el laboratorio que la procesará (generalmente, entre un tercio y la mitad de la capacidad del envase de embarque). Los tubos de vidrio no deben entrar en contacto directo con el hielo seco; protéjase las muestras colocando entre este y los tubos una capa de papel de embalar u otro material amortiguador.
- Empacar las muestras en hielo seco o hielo ordinario fijándolas de manera tal que no puedan rodar dentro del recipiente una vez que se haya acabado el hielo.
- Las muestras que no se refrigeran ni se congelan también deben protegerse contra la posibilidad de calor o frío extremos.

### *Obtención y transporte de las muestras de pacientes*

- Seleccionar los medios de transporte más rápidos y confiables para evitar retrasos en el envío. Si se mandan por avión muestras congeladas, obtener previamente la aprobación de la compañía aérea para usar hielo seco, ya que a medida que este se derrite libera CO<sub>2</sub> en forma de gas. De ser posible, programar la entrega en un día hábil y en horas de oficina.
- Si las muestras se despachan por correo, empacarlas según los requisitos postales nacionales o internacionales (véase el Capítulo XII). Cerciorarse de adjuntar toda la información y documentación necesaria para cada muestra.

---

### **Bibliografía**

Cary SG, Blair EB. New transport medium for shipment of clinical specimens. I. Fecal specimens. *J Bacteriol* 1964; 88:96-8.

CDC. Recommendations for the collection of laboratory specimens associated with outbreaks of gastroenteritis. *MMWR* 1990;39 (No. RR-14).

Global Task Force on Cholera Control. Guidelines for cholera control. Geneva: World Health Organization, 1992; publication no. WHO/CDD/SER/80.4 rev 4.

World Health Organization. Manual for the Laboratory Investigations of Acute Enteric Infections. Geneva: World Health Organization, 1987; publication no. WHO/CDD/83.3 rev 1.