

PROCED. ASOCIADO LOG001	ANEXO N° 12	VIGENTE DESDE 02/06/2022
TÍTULO: Instructivo para la toma de muestras de superficies y manipuladores.		REVISIÓN 2

OBJETIVO: Establecer una metodología a seguir para la toma de muestras de superficies.

ALCANCE: Superficies con fines analíticos.

INDICE

OBJETIVO	1
ALCANCE	1
CONSIDERACIONES GENERALES	1
TOMA DE MUESTRAS:.....	2
De superficie mediante esponjas	2
De superficie mediante hisopos	2
De superficie mediante hisopos para análisis de SARS-CoV-2.....	2
Hisopado de manos.....	2
ROTULADO Y ENVÍO DE MUESTRAS	3
LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN.....	3
PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	3
Alcohol 70%.....	3
Solución de buffer fosfato.....	3
Solución salina peptonada.....	3
Caldo de Digerido de Caseína Soya Polisorbato 20.....	3
Buffer fosfato salino (PBS) con Tween 80 al 0,1%	4
CONTACTOS	4
REFERENCIAS.....	4
NOTIFICACIÓN DE CAMBIOS:.....	4

CONSIDERACIONES GENERALES

- *No comer ni fumar durante la toma de muestras.*
- *Antes de comenzar la toma, realizar la higiene y desinfección de las manos.*
- *Utilizar elementos de seguridad si lo requiere (cofia, pantalla facial, antiparras o gafas de seguridad, respirador N95, guantes de nitrilo/látex, mameluco hidropelente descartable, cubre calzado, zapato de seguridad). Según los riesgos asociados a las tareas, se podrán ampliar/disminuir los elementos de seguridad utilizados.*
- *Se debe identificar un área determinada de la superficie a examinar. Se debe tener presente que el área muestreada no siempre se define mediante un valor numérico.*
- *Si el área se define mediante un valor numérico, la misma debe especificarse:*
 - *Para el caso de detección de microorganismos patógenos, el área muestreada debería ser lo más grande posible para aumentar la probabilidad de detección. Se recomienda un área comprendida entre 1000 cm² y 3000 cm² (es decir, 0,1 m² a 0,3 m²) siempre que sea posible.*
 - *Para el caso de recuento de microorganismos, el área a analizar puede ser menor que para el caso anterior (por ejemplo < 100 cm²).*
- *Todas las soluciones utilizadas para el análisis deben estar estériles.*
- *Evitar el contacto del interior del envase con la mano descubierta o con guantes.*
- *Enviar una esponja o hisopo por cada microorganismo patógeno que se solicite analizar por muestra. En el caso de los recuentos, se pueden agrupar en una misma esponja/hisopo.*
- *Optimizar distancias y tiempos, reduciendo el traslado de las muestras al mínimo, respetando la cadena de frío, si aplica, entregándolas lo antes posible al laboratorio.*

Nota: De ser necesario, acuerde con CIATI la provisión de esponjas/hisopos, para la toma de muestras, ya hidratados.

TOMA DE MUESTRAS:**De superficie mediante esponjas**

Se recomienda su uso en áreas de gran tamaño (>100 cm²)

- 1) *En el caso de que la esponja no esté hidratada originalmente, hidratarla con aproximadamente 15 ml de Caldo de Digerido de Caseína Soya Polisorbato 20 estéril.*
- 2) Con los guantes puestos, rociarse las manos con alcohol al 70%, o alcohol en gel, con el fin de desinfectarlas.
- 3) Retirar la esponja de la bolsa y tomar la muestra, pasando la esponja por la superficie a analizar, en diferentes direcciones, reiteradas veces.
- 4) Colocar la esponja nuevamente en la bolsa original rotulada adecuadamente.
- 5) Conservar la misma en refrigeración hasta el momento del envío. Enviar la muestra al laboratorio refrigerada en el menor tiempo posible (no congelada).

De superficie mediante hisopos

Se recomienda su uso cuando la superficie a muestrear es pequeña (≤100 cm²) o en superficies de difícil acceso para las esponjas.

- 1) El hisopo que se encuentra dentro de un tubo estéril, puede estar o no hidratado.
- 2) En el caso de no estar hidratado, humedecerlo con 2 ml de solución *Caldo de Digerido de Caseína Soya Polisorbato 20 estéril.*
- 3) Con guantes puestos, rociarse las manos con alcohol al 70%, o alcohol en gel, con el fin de desinfectarlas.
- 4) Al momento de retirar el hisopo del tubo, presionar la punta del mismo contra las paredes del tubo para remover el exceso de líquido. Hisopar en diferentes direcciones, reiteradas veces. Si se requiere, delimitar la zona a muestrear (por ejemplo, una superficie de 10 x 10, para analizar 100 cm²). Toda la zona delimitada debe ser hisopada.
- 5) Colocar el hisopo nuevamente en su envase original rotulado adecuadamente.
- 6) Conservar el mismo en refrigeración hasta el momento del envío. Enviar la muestra al laboratorio refrigerada en el menor tiempo posible (no congelada).

De superficie mediante hisopos para análisis de SARS-CoV-2

- 1) *Tomar el hisopo contenido en el recipiente primario, hidratarlo en Buffer Fosfato Salino (PBS) con tween 80 al 0,1%, contenido en el microtubo de 1,5 ml.*
- 2) *Presionar sobre las paredes del tubo para retirar el exceso de solución.*
- 3) *Hisopar en diferentes direcciones, reiteradas veces. Si se requiere, delimitar la zona a muestrear (por ejemplo, una superficie de 10 x 10, para analizar 100 cm²). Toda la zona delimitada debe ser hisopada.*
- 4) *Una vez que se haya completado el muestreo, introducir el hisopo nuevamente en el microtubo, cortar la punta del hisopo y cerrarlo cuidadosamente.*
- 5) *Asegurar que cada muestra esté identificada correctamente mediante un rótulo indeleble. Colocar la muestra en una conservadora.*
- 6) *Completar la cadena de custodia correspondiente (PLANILLA TOMA DE MUESTRA AMBIENTALES- AMB001 vigente).*

Hisopado de manos

- 1) El hisopo que se encuentra dentro de un tubo estéril, puede estar o no hidratado.
- 2) En el caso de no estar hidratado, humedecerlo con 2 ml de solución buffer fosfato o solución salina peptonada (en cualquiera de los casos la solución DEBE estar estéril).
- 3) Con guantes puestos, rociarse las manos con alcohol al 70%, o alcohol en gel, con el fin de desinfectarlas.
- 4) Al momento de retirar el hisopo del tubo, presionar la punta del mismo contra las paredes del tubo para remover el exceso de líquido y frotar el hisopo por toda la mano (ambas caras), en diferentes direcciones, reiteradas veces, haciendo hincapié en las zonas comprendidas entre los dedos, así como debajo de las uñas.

- 5) Colocar el hisopo nuevamente en su envase original rotulado adecuadamente.
- 7) Conservar el mismo en refrigeración hasta el momento del envío. Enviar la muestra al laboratorio refrigerada en el menor tiempo posible (no congelada).

ROTULADO Y ENVÍO DE MUESTRAS:

Es indispensable rotular e identificar las muestras inmediatamente luego de la toma. La identificación debe estar hecha con letra clara, con un marcador indeleble directamente sobre el envase (frasco, tubo o bolsa) o por el pegado de etiquetas.

Una vez tomada la muestra enviarla de inmediato al laboratorio. En caso contrario, conservar la misma en refrigeración, en lo posible a una temperatura de $3\pm 2^{\circ}\text{C}$. Enviar la muestra refrigerada, en conservadora limpia conteniendo geles de refrigeración (no congelada).

En todos los casos, las muestras obtenidas se deben examinar lo más rápido posible para evitar cambios en el contenido microbiano. La norma ISO 18593, recomienda un tiempo máximo de 48 h desde la toma de muestra hasta la ejecución del análisis,

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN:

Antes de retirarse del sitio de muestreo, revisar cuidadosamente todos los materiales que estuvieron en contacto con las superficies muestreadas.

Los elementos de protección personal descartables, deberán ser colocados en el recipiente de residuos patogénicos que posee bolsa de color rojo. El recipiente se ubicará en la camioneta y será trasladado hasta el laboratorio. Los residuos serán depositados en el recinto transitorio de residuos patogénicos.

Para la desinfección del vehículo, seguir el procedimiento "Limpieza y desinfección de vehículos-superficies de contacto."

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Alcohol 70%

Mezclar 7 partes de alcohol con 3 partes de agua segura. Por ejemplo, para preparar 500ml, mezclar 350 ml de alcohol 96° (comercial) con 150 ml de agua.

Solución de buffer fosfato

Preparación de la solución stock de fosfato

Pesar en un vaso de precipitado 17 g de KH_2PO_4 , y adicionarle 450 ml de agua destilada. Disolver con agitación. Ajustar el pH a 7.1 ± 0.1 con NaOH 1N. Transferir cuantitativamente a un matraz de 500 ml y llevar a volumen con agua destilada. Homogeneizar bien. Distribuir en botellas y esterilizar durante 15 minutos a $121\pm 3^{\circ}\text{C}$.

Preparación de la solución buffer fosfato de trabajo

En una botella de vidrio conteniendo 1000 ml agua destilada estéril adicionar 1.25 ml de la solución stock anteriormente preparada

Solución salina peptonada

Pesar en un vaso de precipitado 1 g de digerido enzimático de caseína y 8,5 g de cloruro de sodio. Disolver los componentes en 1000 ml de agua destilada. Si es necesario, calentar. Distribuir en frascos y esterilizar durante 15 min a $121\pm 3^{\circ}\text{C}$. Si fuese necesario, ajustar el pH de modo que el mismo, luego de la esterilización sea 7.0 ± 0.2 a 25°C .

Caldo de Digerido de Caseína Soya Polisorbato 20

Composición

<i>Digerido pancreático de caseína</i>	<i>20 g</i>
<i>Lecitina de soya</i>	<i>5 g</i>

Preparación

Pesar en un vaso de precipitado 25 g del polvo y adicionarle 960 ml de agua destilada. Disolver con agitación. Agregar 40 ml de polisorbato 20 (Tween 20). Dejar reposar 5 minutos. Calentar agitando frecuentemente y llevar a ebullición para lograr la disolución completa. Ajustar el pH a 7.0 ± 0.2 . Distribuir en botellas y esterilizar durante 15 minutos a 121 ± 3 °C.

Buffer fosfato salino (PBS) con Tween 80 al 0,1%

Composición

Cloruro de Sodio (NaCl)	8 g
Potasio dihidrógenofosfato (KH_2PO_4)	0,2 g
Disodio hidrógenofosfato (Na_2HPO_4)	1,15 g
Cloruro de potasio (KCl)	0,2 g
Tween 80	1 g
Agua destilada	1000 ml

Preparación

Disolver los componentes, excepto el Tween 80, en la cantidad de agua indicada. Agregar el Tween 80. Homogeneizar. Si es necesario, ajustar el pH a 7.3 ± 0.2 . Distribuir en microtubos (600 μ l en cada uno), colocar cinta indicadora de autoclavado a cada microtubo y esterilizar durante 15 minutos a 121 ± 3 °C. Esta solución se puede almacenar a 5 ± 3 °C por un máximo de 6 meses.

CONTACTOS

Ante cualquier consulta, comuníquese con CIATI:

Tel. 0299 – 4899680, e-mail: ingresocentenario@ciati.com.ar, mariob@ciati.com.ar, marianaw@ciati.com.ar o juano@ciati.com.ar

REFERENCIAS

- ISO 18593:2018. Microbiología de la cadena alimentaria. Métodos horizontales para toma de muestras de superficies.
- ISO 6887-1:2017. Microbiología de la cadena alimentaria. Preparación de las muestras de ensayo, suspensión inicial y diluciones decimales para examen microbiológico. Parte 1: Reglas generales para la preparación de la suspensión inicial y las diluciones decimales.

NOTIFICACIÓN DE CAMBIOS:

Resumen de los cambios realizados:

Rev. N°	Descripción de las modificaciones	Fecha de vigencia
1	Se agrega en Consideraciones generales instrucción asociada a cantidad de muestra.	22/10/2020
2	Se agregan ítems Índice, Objetivo, Alcance, Toma de muestra de superficie mediante hisopos para análisis de SARS-CoV2 y Limpieza y desinfección. Se actualizan instrucciones de los ítems Toma de muestra (sobre esponjas, solución hidratante); Consideraciones generales y Preparaciones de soluciones (composición del caldo de digerido de caseína soya polisorbato 20 y del PBS con Tween 80 al 0,1%) y Contactos.	02/06/2022

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
VIRIGINIA JAUREGUIBERRY	JUAN OTEIZA	MARIO BOTTO