



## Centro de Nefrología

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA – FACULTAD DE MEDICINA – HOSPITAL DE CLÍNICAS

Montevideo, 19 de agosto de 2019

**De:** Centro de Nefrología  
**A:** Departamento de Programación y Estimación  
**Asunto:** Previsión anual de estudios bacteriológicos del agua para hemodiálisis 2020

Se solicita la previsión de:

1. 400 muestreos microbiológicos
2. 200 muestreos para búsqueda de endotoxinas bacterianas

### Especificaciones:

- 1- Las tomas de agua para evaluación estarán a cargo de la empresa.
- 2- La empresa deberá cumplir con la metodología para la toma de muestras que se especifica en este documento.
- 3- La metodología para la toma de muestras podrá cambiar según definiciones del Centro de Hemodiálisis del Hospital de Clínicas. Los cambios serán comunicados con adecuada antelación y por escrito.
- 4- La empresa deberá cumplir con la metodología para el estudio microbiológico y determinación de endotoxinas que se especifica en este documento.
- 5- Se realizará una evaluación periódica de la Dirección Técnica del Centro de Hemodiálisis del Hospital de Clínicas.

Metodología de toma de muestras de agua tratada, estudio microbiológico.

### Materiales:

- Frascos estériles de vidrio o plástico (volumen mayor o igual a 100mL).
- Frascos estériles de vidrio conteniendo 0,1 mL de tiosulfato al 3% por cada 100 mL de muestra (para extracción de muestras de agua clorada: OSE, tanque de entrada, filtro de arena, etc).
- Hisopo de algodón, alcohol 95° y encendedor (o sopete) para picos metálicos.
- Hisopo de algodón, alcohol 70° para picos plásticos. Recipiente para descarte (capacidad mínimo 10 L). Conservadora refrigerada.
- Guantes descartables.

### Procedimiento:

1. Lavado de manos.
2. Rotular el frasco indicando el nombre del centro, punto de muestreo, fecha y hora de muestreo, identificar el operador.
3. Abrir la canilla (grifo), dejar correr un volumen de agua mínimo de 10 litros, cerrar la canilla.
4. Limpiar el punto de muestreo con desinfección química o física (térmica):
  - Pico plástico (química y mecánica): desinfectar el pico mediante fricción con alcohol 70° con hisopo, que se repite 3 veces, tiempo de exposición mayor a 15 segundos cada una, permitiendo después su completa evaporación.



Av. Italia 2870 | Piso 14 | CP 11600 | ☎ (+598) 24809850 - 24871515/2463  
nefro@hc.edu.uy



## Centro de Nefrología

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA – FACULTAD DE MEDICINA – HOSPITAL DE CLÍNICAS

- Pico de metal (térnica): embeber el hisopo en alcohol 95°, encenderlo y quemar el pico procurando que la llama penetre también en el interior, esto puede realizarse con soplete (recomendado por practicidad y seguridad).
  - No utilizar desinfectantes del tipo hipoclorito o ácido acético.
5. Abrir la canilla, regular el flujo de agua de manera de obtener un chorro fino sin presión y dejar correr un volumen de agua mínimo de 5L. No cerrar el grifo hasta luego de obtener la muestra.
6. Recolección de la muestra:
- retirar envoltorio del frasco.
  - destapar el frasco manteniendo la tapa en la mano, con la cara interior hacia abajo, sin apoyarla en ninguna superficie ni acercarlo a la ropa.
  - llenar el frasco dejando una porción el mismo libre que permita la homogenización de la muestra.
  - tapar el frasco.
  - cerrar grifo.

NOTAS: Todos los movimientos deberán realizarse sin interrupciones, al abrigo de corrientes de aire y con las máximas precauciones de asepsia. Si se emplean fijadores (conectores rápidos) para abrir la válvula de seguridad y permitir la salida de agua por los puertos de conexión de las máquinas de diálisis, estos elementos deberán haber sido esterilizados previamente (autoclave o gas).

7. Trasladar las muestras al laboratorio en conservadora refrigerada ( $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , SIN CONGELAR), evitando derrames.

8. Las muestras deben procesarse lo antes posible para evitar cambios en la población microbiana de las mismas, máximo de conservación 24 horas.

### Metodología de toma de muestras de agua tratada, ensayo de endotoxinas.

#### Materiales:

- Recipiente de vidrio despirogenizado o recipiente descartable de poliestireno, estéril y apirógeno.
  - Recipiente (balde) capacidad mínima 10 litros.
  - Conservadora refrigerada.
  - Guantes
- descartables.

#### Procedimiento:

1. Lavado de manos.
2. Rotular el frasco indicando el nombre del centro, punto de muestreo, fecha y hora de obtenida la muestra, identificación del operador.
3. Abrir la canilla o grifo de toma de muestra y dejar correr un volumen de agua mínimo 10 litros.
4. Sin cerrar el grifo, retirar el envoltorio, destapar el frasco y recolectar la muestra con las siguientes precauciones:



Av. Italia 2870 | Piso 14 | CP 11600 | ☎ (+598) 24809850 – 24871515/2463  
nefro@hc.edu.uy



## Centro de Nefrología

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA – FACULTAD DE MEDICINA – HOSPITAL DE CLÍNICAS

- mantener la tapa del frasco en la mano.
- no tocar el interior del frasco ni de la tapa con las manos ni con la parte exterior de la canilla.
- completar hasta aproximadamente la mitad de la capacidad del recipiente.

5. Tapar el frasco, luego cerrar el grifo.

6. Trasladar las muestras inmediatamente al laboratorio en conservadora refrigerada ( $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , SIN CONGELAR) y evitando derrames.

7. Las muestras deben procesarse lo antes posible, pueden conservarse refrigeradas hasta 24 horas, pueden ser congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta una semana, o según indicación del proveedor del reactivo.

NOTA 1: El vidrio y el poliestireno son los materiales recomendados para la recolección de muestras para ensayo de endotoxinas, por ser los que minimizan la adsorción de las mismas a la superficie del envase.

NOTA 2: No todos los recipientes plásticos están libres de endotoxinas detectables, y algunos tipos de materiales pueden contener sustancias extraíbles que pueden interferir con este ensayo.

### Metodología de toma de muestras de líquido de diálisis para análisis microbiológico.

#### Materiales:

- Guantes limpios.
- Apósito o Gasa estéril.
- Alcohol 70°.
- Recipiente para descartar líquido.
- Frasco estéril de 100 ml o más.

#### Procedimiento:

1. Las muestras de líquido de diálisis pre dializador deben obtenerse del punto más accesible y con menos posibilidades de contaminación con que cuente el equipo. Puede ser la conexión del equipo al dializador (pre hemodializador), conector rápido azul o puerto diseñado para este procedimiento que se encuentra en la manguera en algunos modelos de equipos de diálisis. Este puerto (lo encontramos en modelos nuevos) está diseñado para minimizar la contaminación del mismo, y es fácil de desinfectar.

- Se desinfecta el puerto con alcohol 70° y se deja secar al aire.
- Se obtiene con jeringa una muestra de líquido de diálisis, que se descarta, se obtiene en una nueva jeringa, una nueva muestra de que se coloca en el recipiente estéril.

2. Los equipos deben estar en rinse (enjuague) para tomar la muestra si queremos controlar la calidad microbiológica del equipo.

3. Los equipos deben estar en funcionamiento (con concentrados) para controlar la calidad microbiológica del líquido de diálisis.

4. Según modelo de equipo:



Av. Italia 2870 | Piso 14 | CP 11600 | ☎ (+598) 24809850 – 24871515/2463  
nefro@hc.edu.uy



## Centro de Nefrología

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA – FACULTAD DE MEDICINA – HOSPITAL DE CLÍNICAS

- Se desinfecta el puerto, conector rápido venoso o salida directa del equipo, con alcohol 70° y se deja secar al aire.
- Se obtiene con jeringa una muestra de líquido de diálisis, que se descarta, se obtiene en una nueva jeringa, una nueva muestra de que se coloca en el recipiente estéril.
- Se desconecta del equipo la silicona, se realiza desinfección, se obtiene con jeringa una muestra de líquido de diálisis que se descarta, y luego se toma nueva muestra en nueva jeringa que se coloca en el frasco previamente destapado y evitando contaminaciones.
- Se desinfecta conector rápido, se obtiene con jeringa una muestra de líquido de diálisis que se descarta, y luego se toma nueva muestra en nueva jeringa que se coloca en el frasco previamente destapado y evitando contaminaciones.
- En caso de evento pirogénico, para obtener una muestra post dializador, se desconecta el conector rápido, se deja correr el fluido durante 30-60 segundos y se obtiene la muestra en recipiente estéril.
- En caso de alteraciones identificadas o contaminación de equipos de diálisis, deben realizarse los estudios microbiológicos, dejar el o los equipos sin utilizar, ejecutar plan de desinfecciones de los mismos y seguimiento microbiológico tomando las muestras de control no antes de las 48 hs post intervención.

### Metodología de estudio microbiológico de muestras de agua y líquido de diálisis.

- El estudio microbiológico se realizará de preferencia con técnica de filtración con membrana u otro método validado de testeo bacteriológico. En este método, se filtra un volumen de muestra de líquido (agua o LD) conocido a través de un filtro de 0,45µm. El filtro es transferido asépticamente a la superficie de una placa de agar.
- En el caso de siembra en placa, un inóculo de por lo menos 0,2 mL de muestra es esparcido homogéneamente sobre la superficie de la placa de agar. No debe usarse asa calibrada.
- El medio de cultivo utilizado debe ser TSA, TGEA, R2A, u otros equivalentes. Agar sangre o chocolate no deben ser usados. Se incuban las placas a 35°C durante 60 a 72 hs.
- Podrán utilizarse otras combinaciones de tiempo y temperatura que provean resultados equivalentes.
- Ningún método provee el recuento microbiano total.
- Debe especificarse la presencia de heterotróficos, *Pseudomonas fluorescens/pútida*, *Pseudomonas aeruginosa*.

### Metodología de análisis para determinación de endotoxinas en agua tratada.

El test de endotoxinas se realiza mediante el ensayo de LAL (*Limulus amoebocyte lysate*). Puede realizarse de dos formas: ensayo cinético, o gel-clot assay.

Dr. Ricardo Silvarino  
Prof. Adj. Centro de Nefrología  
Jefe de Diálisis Crónica

Dr. OSCAR NOBOA  
Profesor Director  
Centro de Nefrología  
Facultad de Medicina

