



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología



M. Isabel Sánchez-Romero^{a,*}, Juan Manuel García-Lechuz Moya^b,
Juan José González López^c y Nieves Orta Mira^d

^a Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Majadahonda, Madrid, España

^b Servicio de Microbiología, Hospital Miguel Servet, Zaragoza, España

^c Servicio de Microbiología, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, España

^d Servicio de Microbiología, Hospital Francisc de Borja, Gandía, Valencia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 9 de diciembre de 2017

Aceptado el 15 de diciembre de 2017

Palabras clave:

Recogida y transporte de muestras

Procesamiento

Automatización

R E S U M E N

La interpretación y el rigor de los resultados microbiológicos siguen dependiendo en gran medida de la calidad de las muestras y el procesamiento de las mismas dentro del Servicio de Microbiología. Conocer el tipo de muestra, el momento adecuado y la manera de obtención, su conservación y transporte determinará la rentabilidad de la misma en el proceso infeccioso. En este sentido, la disponibilidad de nuevas técnicas dentro del laboratorio y el manejo, cada vez menos excepcional, de muestras con sospecha de infección por patógenos no habituales nos obligan a revisar y actualizar todos los pasos implicados en el procesamiento de las muestras.

Hoy día, la automatización del laboratorio y la amplia variedad de técnicas rápidas utilizadas han hecho que el diagnóstico microbiológico tenga la rapidez y precisión necesaria para realizar un diagnóstico de calidad y clínicamente relevante; sin olvidar que, en todos los casos, la información clínica es necesaria y de vital importancia para que el microbiólogo pueda aplicar las técnicas diagnósticas disponibles de la manera más eficiente.

© 2018 Elsevier España, S.L.U.

y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory

A B S T R A C T

The interpretation and the accuracy of the microbiological results still depend to a great extent on the quality of the samples and their processing within the Microbiology laboratory. The type of specimen, the appropriate time to obtain the sample, the way of sampling, the storage and transport are critical points in the diagnostic process. The availability of new laboratory techniques for unusual pathogens, makes necessary the review and update of all the steps involved in the processing of the samples.

Nowadays, the laboratory automation and the availability of rapid techniques allow the precision and turn-around time necessary to help the clinicians in the decision making. In order to be efficient, it is very important to obtain clinical information to use the best diagnostic tools.

© 2018 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Keywords:

Collection and transport of samples

Procedure

Automation

Introducción

Para que los resultados proporcionados por el Servicio de Microbiología sean precisos, significativos y clínicamente relevantes, se requiere que todas las muestras microbiológicas que llegan al mismo sean correctamente seleccionadas, recogidas

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: isanchezromero@telefonica.net (M.I. Sánchez-Romero).

y transportadas, ya que esto permite optimizar su análisis e interpretación¹. En los últimos años, se han ido desarrollando equipos automatizados para la siembra de muestras, ampliado el número de técnicas de diagnóstico rápido de tipo inmunológico, de detección de antígenos: víricos, bacterianos, fúngicos o parasitarios, y profundizando en las técnicas de biología molecular y proteómica.

El presente documento pretende servir de guía y ayuda en las actividades que comprenden la fase preanalítica y el comienzo de la fase analítica del diagnóstico microbiológico, donde se realizan las tareas de toma de muestras, transporte y registro en el sistema informático del laboratorio, procesamiento y conservación de las mismas.

Consideraciones generales

La interpretación de los resultados microbiológicos depende, en gran medida, de la calidad de las muestras recibidas para su estudio. Por lo tanto, es necesaria una adecuada gestión de las muestras para conseguir un diagnóstico óptimo en Microbiología².

El síndrome clínico y los posibles agentes etiológicos implicados condicionan no solo el tipo de muestra a enviar, sino también su procedimiento de obtención, transporte, conservación y procesamiento. Igualmente, la información clínica es la que permite al laboratorio aplicar las técnicas diagnósticas disponibles de manera más eficiente. Por ello, es fundamental que exista una estrecha comunicación entre los microbiólogos y los clínicos responsables del paciente, participando activamente en el proceso diagnóstico.

Muestras clínicas recomendadas

Siempre hay que elegir el material biológico en cantidad suficiente que mejor represente el proceso infeccioso del que se quiere conocer el agente etiológico. Las sustancias analizables son todas las muestras biológicas disponibles, desde los líquidos estériles, las muestras de los distintos órganos o sistemas, como heces, orina, esputo, lavado broncoalveolar, aspirados, biopsias y exudados de distintas localizaciones o lesiones superficiales o profundas, y los dispositivos hospitalarios como, por ejemplo, catéteres y prótesis. Se deben obtener en la fase aguda de la enfermedad, preferiblemente antes de iniciar cualquier tratamiento antimicrobiano³, realizando la toma de muestra en el sitio exacto de la lesión con las máximas condiciones de asepsia que eviten la contaminación. La muestra no debe estar en contacto con desinfectantes o antisépticos. Hay que evitar la contaminación con la microbiota comensal para asegurar que la muestra sea representativa del proceso infeccioso a diagnosticar y el transporte al laboratorio debe ser lo más rápido posible¹.

Envases utilizados

Hay una gran variedad de envases en los que se pueden recoger las muestras microbiológicas, siendo una característica común a todos ellos que sean estériles y con cierre a prueba de fugas. Las torundas pueden ser de diferentes materiales²: dacrón, rayón o nylon, algodón (no recomendables para *Chlamydia* spp., *Bordetella* spp. y *Neisseria gonorrhoeae*), alginato cálcico (puede inhibir técnicas de PCR y ser tóxicas para virus) y pueden tener la superficie de absorción lisa o ser flocadas; pueden utilizarse en seco o llevar medio de transporte tipo Amies en gel o en líquido (recomendado para las estaciones de trabajo automatizadas)⁴. El mango debería ser de aluminio o de plástico (rígido o flexible). El tamaño y la forma de la torunda variarán en función de la localización anatómica y el tipo de la muestra a tomar.

Hay sistemas especiales de transporte, como las bolsas, los viales o los tubos con atmósfera de anaerobiosis, los capilares para microhematocrito (*Trypanosoma* spp.), los cepillos en medio de

transporte líquido para el virus del papiloma, el medio de transporte para virus universal (válido también para *Chlamydia* spp., *Ureaplasma* spp., y *Mycoplasma* spp.) o los tubos estériles con fijadores para parásitos o con conservante como ácido bórico-formiato de sodio para el cultivo de orina.

Se pueden emplear también frascos de hemocultivos, frascos de lisis-centrifugación, tubos y frascos con cierre de rosca, tubos de vacío con aditivos (EDTA, citrato) o con gel separador (para muestras de suero), placas de Petri estériles y jeringas para la obtención de aspirados.

Recogida de muestras

Las consecuencias de una muestra mal tomada, mal conservada o mal transportada, pueden suponer un fracaso en el aislamiento del agente etiológico o el aislamiento de posibles microorganismos contaminantes que pueden generar tratamientos innecesarios o inadecuados. Puesto que una gran parte de las determinaciones en Microbiología se basan en la capacidad de crecimiento de los microorganismos, las condiciones de recogida y transporte han de asegurar en todo momento su viabilidad¹.

El laboratorio de Microbiología debe elaborar un manual claro y conciso con las normas de recogida y transporte de muestras² que esté a disposición de todos los profesionales que puedan solicitar muestras para estudio microbiológico y, en caso de existir dudas sobre la idoneidad de las muestras o la manera de obtenerlas, se debe contactar siempre con el laboratorio de Microbiología antes de proceder a su recogida.

Recogida de muestras para estudio por métodos convencionales y automatizados

La recogida de muestras para estudios microbiológicos puede variar en función de si estas se van a procesar mediante métodos convencionales o si lo van a ser mediante métodos automatizados. Los sistemas automatizados solo pueden realizar el cultivo a partir de muestras líquidas directamente o en medios líquidos de transporte⁴.

Los envases dependen del tipo de muestra y serán contenedores estériles para muestras de abscesos, catéteres, líquidos estériles (excepto sangre), prótesis, válvulas y otros dispositivos, tejidos y biopsias, heces, orina, semen, raspado de piel, pelo y uñas, y todas las muestras respiratorias. Se utilizará torunda con medio de transporte en gel o líquido (siembra automatizada y técnicas de PCR) en todos los exudados genitales, conjuntivales, exudados de la esfera otorrinolaringológica, heridas, quemaduras y úlceras cutáneas (si no es posible la aspiración). Hemocultivos y médula ósea se enviarán en frascos de hemocultivos (también es posible los líquidos estériles, excepto el LCR). Las extensiones sanguíneas para parásitos en un tubo con EDTA, para determinaciones serológicas en tubos de vacío con gel y para las pruebas de detección de ácidos nucleicos tubos de vacío con EDTA o tubos especializados. Se pueden utilizar como envases las jeringas utilizadas para aspiración de las muestras.

La toma de muestras para estudio de virus se puede realizar con cualquier tipo de torunda excepto las de alginato cálcico o con bastón de madera. El empleo de medio de transporte para virus durante la recogida de las muestras depende en gran medida de la propia muestra; las muestras líquidas como sangre, LCR, orina y líquido de lavado broncoalveolar no lo suelen requerir, por lo que deben ser transportadas y procesadas prestando especial atención a la temperatura óptima y los tiempos de almacenamiento.

Por último, hay algunos envases particulares, como el cepillo en medio de transporte especial para el virus del papiloma o un tubo con heparina para estudio de *Leishmania* spp. en la médula ósea o

la torunda sin medio de transporte para detección antigénica de *Streptococcus pyogenes*.

Respecto al volumen de la muestra, siempre se recomienda lo máximo que se pueda obtener y de la zona más purulenta. El volumen mínimo para inocular una placa o un caldo de enriquecimiento es una gota (0,05 ml) y, como norma general, para el cultivo bacteriológico es necesario al menos 0,5 ml o 0,5 g de material. Por regla general, en las muestras líquidas para cada tipo de determinación se solicitará un mínimo de 1-2 ml y un volumen máximo entre 10 y 20 ml. El volumen para cada frasco de hemocultivo entre 8-10 ml adultos y 1-3 ml niños y las heces formes > 2 g¹.

El procedimiento de toma de muestra se hará de la forma más aséptica posible y siempre que sea factible previo a la toma de antibióticos. Existen muestras para las que se describen métodos peculiares que hay que tener en cuenta y en las que se debería consultar el manual de toma de muestras del Servicio de Microbiología, como la neutralización del jugo gástrico con carbonato sódico para el estudio de micobacterias.

Recogida de muestras para estudio mediante técnicas rápidas

Las pruebas rápidas más empleadas, excluidos los exámenes en fresco y las tinciones son: la inmunofluorescencia, la aglutinación, la inmunocromatografía (ICT), el enzoinmunoanálisis (EIA) y las técnicas de microbiología molecular (PCR en tiempo real y PCR multiplex). Mediante estas últimas se puede detectar un agente infeccioso aislado o varios de forma simultánea (bacterias, virus, hongos, parásitos), incluso genes de resistencia a antibióticos, en un tiempo corto, con escasa manipulación y preparación de las muestras y con resultados precisos. Estas técnicas pueden presentar unos requerimientos específicos (incluido el sistema de transporte y conservación de la muestra) que dependerán de la técnica disponible en cada laboratorio. Se dispone, por ejemplo, de paneles comercializados para diagnóstico de infecciones respiratorias a partir de muestras de aspirado o exudado nasofaríngeo u orina, infecciones gastrointestinales a partir de heces frescas o en medio Cary-Blair, infecciones sanguíneas o de médula ósea a partir de sangre directa con EDTA, suero, medios especiales o de frasco de hemocultivo positivo, infecciones del sistema nervioso central a partir de LCR u orina, infecciones de transmisión sexual a partir de exudado uretral, endocervical u orina e infecciones en piel y mucosas a partir de lesiones cutáneas. También están disponibles técnicas de PCR para el diagnóstico rápido del estado de portador, como puede ser la detección de *Staphylococcus aureus*, de *Streptococcus agalactiae* o bacterias productoras de carbapenemasas en exudados nasal, faríngeo o rectal.

Cada prueba de detección molecular se podrá realizar en unas muestras concretas, presentando requerimientos específicos que diferirán en función de la técnica empleada, por lo que el sistema de recogida y las condiciones de conservación podrán variar dependiendo de las especificaciones del fabricante.

Conservación de la muestra hasta su procesamiento

Medios disponibles, temperatura y tiempo

De forma general, las muestras recogidas para estudios microbiológicos deben enviarse lo más rápidamente posible al laboratorio de Microbiología. Se podrán transportar a temperatura ambiente si no se demora su envío tras su obtención, aunque algunas requerirán hielo para su transporte. En el caso de que no puedan transportarse inmediatamente, se podrán seguir las siguientes recomendaciones generales, aunque con excepciones^{1,3,5}:

- para estudios de microbiología molecular, virus o micobacterias, refrigerar las muestras (2-8 °C);
- las muestras con solicitud de parásitos se mantendrán a temperatura ambiente, excepto el tubo de sangre con EDTA que si no se procesa en 1 h se mantendrá en nevera;
- para el resto de estudios se mantendrán refrigeradas las muestras de orina, heces, catéteres, abscesos, heridas, quemaduras, biopsias, tejidos, exudado vagino-rectal de las embarazadas, aspirado gástrico, oído externo, muestras de origen respiratorio y algunos tipos de exudados y líquidos biológicos (según la petición) si el procesamiento no se realiza en las primeras 2 h;
- y se conservarán a temperatura ambiente las muestras de sangre, médula ósea, LCR, muestras genitales con sospecha de infección bacteriana de transmisión sexual, exudado conjuntival y faríngeo, raspado corneal, humor vítreo, oído interno, aspirado nasofaríngeo, piel, pelo y uñas.

Existen bacterias que son especialmente sensibles a las condiciones ambientales: *Shigella* spp., *N. gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y las bacterias anaerobias; la detección fiable de estas especies requiere un procesamiento inmediato.

Transporte

El transporte de muestras de material biológico dentro de un hospital o centro, de un centro de salud a un hospital, de un laboratorio a otro, de un hospital a otro dentro de la misma ciudad o a otra ciudad se deben gestionar por el propio hospital, por el servicio de salud o por cualquier organización de transportes o agencia que haya sido autorizada. España ha adoptado las recomendaciones descritas por Naciones Unidas en lo relativo al transporte de sustancias infecciosas⁶.

Regulaciones para el transporte internacional de sustancias infecciosas

Las normas internacionales para el transporte de sustancias infecciosas a través de cualquier medio de transporte están basadas en las Recomendaciones del Comité de Expertos de las Naciones Unidas para el Transporte de Artículos Peligrosos (UNCETDG). Estas recomendaciones quedan reflejadas en la legislación internacional por medio de los siguientes reglamentos internacionales de transporte.

- Para el transporte aéreo, la reglamentación internacional jurídicamente vinculante son las Instrucciones Técnicas para el Transporte sin riesgos de Mercancías Peligrosas por Vía Aérea, publicadas por la Organización de Aviación Civil Internacional (OACI). La Asociación Internacional de Transporte Aéreo publica unas normas sobre artículos peligrosos (*dangerous goods regulations* [DGR]) que incorporan las disposiciones de la OACI y pueden añadir restricciones adicionales.
- Para el transporte por ferrocarril en países de Europa, Oriente Medio y Norte de África se aplica el Reglamento relativo al Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Ferrocarril.
- Para el transporte por carretera, el Acuerdo Europeo sobre Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera se aplica en 48 países.
- Para el transporte marítimo, el Código Internacional Marítimo de Mercancías Peligrosas publicado por la Organización Marítima Internacional es de cumplimiento obligado para todas las partes contratantes en el convenio internacional para la Seguridad de la Vida en el Mar (SOLAS).

- Para el transporte por vía postal, el manual del correo postal (*letter posmanual*) publicado por la Unión Postal Universal refleja las recomendaciones de las Naciones Unidas utilizando las disposiciones de la OACI como base para los envíos.
- Regulaciones locales y nacionales para el transporte de sustancias infecciosas.

Los principios en los que se basa un transporte seguro a nivel nacional o local son los mismos que se aplican para el transporte internacional y la finalidad es que la muestra no tenga ninguna posibilidad de salir del embalaje en las circunstancias normales de transporte. En España, el Real Decreto 65/2006, de 30 de enero, establece los requisitos para la importación y exportación de muestras biológicas y la Orden SAS/3166/2009, de 16 de noviembre, sustituye los anexos del Real Decreto de 2006.

Cuando el laboratorio requiera enviar muestras a un centro externo el cual se encuentre dentro de la Unión Europea (UE), la normativa actual establece que el envío solamente debe cumplir con la normativa reflejada para los procedimientos de recogida, embalaje, etiquetado y envío, no siendo necesario ningún documento para que el paquete pueda salir del país.

Si el laboratorio se encuentra fuera de la UE, el promotor tiene 2 opciones: solicitar la inscripción voluntaria en el registro de importadores y exportadores de muestras biológicas o solicitar una licencia de importación y exportación ocasional de muestras biológicas.

Clasificación de las sustancias infecciosas para el transporte

A las mercancías peligrosas se les asignan los números UN y en función de su clasificación de peligrosidad y de su composición se les atribuye las designaciones oficiales de transporte que les corresponden. Las sustancias infecciosas se clasifican con arreglo a la división 6.2 y se asignan a los números UN 2814, UN 2900, UN 3291 o UN 3373, según corresponda. Así, las sustancias infecciosas se dividen en las siguientes categorías.

Categoría A: sustancia infecciosa que se transporta en una forma que, al exponerse a ella, es capaz de causar una incapacidad permanente, poner en peligro la vida o constituir una enfermedad mortal para seres humanos o animales previamente sanos. Corresponden, por tanto, a esta categoría los patógenos pertenecientes al grupo de riesgo 4, incluyendo los agentes identificados como patógenos nuevos o emergentes o las sustancias sobre las que haya dudas acerca de si cumplen o no los criterios de inclusión en esta categoría. Todas aquellas sustancias que pertenezcan a la categoría A y puedan causar enfermedad en seres humanos y en animales se asignarán al UN 2814. **Categoría B:** sustancia infecciosa que no cumple los criterios para su inclusión en la categoría A. Las sustancias infecciosas de la categoría B se asignarán al UN 3373.

Existen muestras que no están sujetas a la reglamentación sobre transporte de mercancías peligrosas, son las siguientes: las que no contengan sustancias infecciosas o que no sea probable que causen enfermedades en seres humanos o animales, las que contengan microorganismos que no sean patógenos en seres humanos o animales, aquellas en las que los patógenos presentes se hayan neutralizado o inactivado de tal manera que no supongan riesgos para la salud, las muestras ambientales (incluidas las muestras de alimentos y de agua) que se considere que no presentan riesgos apreciables de infección, las gotas de sangre seca o las muestras para detección de sangre en materias fecales, la sangre recogida para transfusiones o para preparación de productos sanguíneos, los productos sanguíneos, tejidos y órganos destinados a trasplante y las muestras de pacientes que presenten un riesgo mínimo de contener agentes patógenos si se transportan en un embalaje/envasado

diseñado para evitar cualquier fuga y en el que figure la indicación «*Exempt human specimen*» (muestra humana exenta).

Preparación de envíos para su transporte

Los requisitos de envasado, etiquetado y documentación de muestras infecciosas actualmente vigentes, están determinados por el UNCETDG y se recogen en las instrucciones de embalaje/envasado P620 y P650. Estos requisitos están establecidos en función de si la muestra infecciosa pertenece a la categoría A (UN 2814) o a la categoría B (UN 3373), respectivamente.

Para transportar todas las sustancias infecciosas se deberá utilizar el sistema básico de envasado triple. Este sistema de transporte comprende 3 capas:

1. Recipiente primario. Se trata del recipiente primario a prueba de filtraciones y estanco que contiene la muestra. Este recipiente se debe envolver en material absorbente con capacidad para absorber todo el fluido en caso de rotura o fuga.
2. Recipiente secundario. Recipiente resistente, estanco, a prueba de filtraciones que encierra y protege el recipiente primario. Se pueden colocar varios recipientes primarios envueltos en un recipiente secundario, pero se deberá usar suficiente material absorbente para absorber todo el fluido en caso de rotura o fuga.
3. Recipiente exterior. Los recipientes secundarios se colocan en envases exteriores de transporte provistos con un material amortiguador adecuado. Los recipientes exteriores protegen el contenido de los elementos exteriores, como daños físicos, mientras el bulto se encuentra en tránsito. Ninguna de las caras del recipiente exterior tendrá dimensiones inferiores a 10 × 10 cm.

Cada envase preparado para su transporte deberá estar correctamente marcado y etiquetado e ir acompañado de los documentos de envío pertinentes.

Envasado, marcado, etiquetado y documentación correspondiente a las sustancias infecciosas de categoría A

Las sustancias infecciosas de categoría A solamente pueden ser transportadas en envases que cumplan las especificaciones correspondientes a la clase 6.2 de Naciones Unidas y la Instrucción de envasado P620. En los paquetes que contengan el material a transportar se representan marcas que proporcionan información acerca de su contenido, la naturaleza del peligro que suponen, así como las normas de embalaje aplicadas.

Las marcas de los envases se ubicarán de tal forma que sean claramente visibles y que no las cubra ninguna otra etiqueta o marca. Las sustancias infecciosas de categoría A llevan en el embalaje exterior el número UN2018 «*Infectious substances affecting humans*». Existen 2 tipos de etiquetas: etiquetas de peligro y etiquetas de manipulación. Las que se suelen utilizar en estos embalajes incluyen: etiqueta de peligro para sustancias infecciosas de categoría A y para microorganismos y organismos modificados genéticamente que se ajustan a la definición de sustancia infecciosa de categoría A; etiqueta de peligro para determinados microorganismos y organismos modificados genéticamente no infecciosos (UN 3245) y para dióxido de carbono sólido (hielo seco) (UN 1845); etiqueta de peligro para nitrógeno líquido; etiqueta de manipulación para líquidos criogénicos (gases licuados a temperaturas muy bajas) en el transporte aéreo o etiqueta de orientación para indicar la posición de los cierres de los recipientes primarios, para el transporte aéreo de sustancias infecciosas líquidas de la categoría A en cantidades que superen los 50 ml por recipiente primario. Respecto a la documentación, se necesita por parte del remitente una declaración de mercancías peligrosas, una lista de empaque (o de embarque) o factura proforma en la que se indique la dirección del destinatario,

el número de paquetes y una descripción de su contenido, indicando su peso y valor, y un permiso o declaración (o ambos) de importación o exportación; y un documento sobre conocimiento de embarque aéreo, para el transporte aéreo, o documentos equivalentes, para los envíos por carretera, tren y mar. Además de los documentos señalados, en las mercancías asignadas a los números UN 2814 y UN 2900 se incluirá una relación del contenido entre el envase secundario y el envase exterior.

Envasado, marcado, etiquetado y documentación correspondiente a las sustancias infecciosas de categoría B

Se aplica el sistema de envasado básico triple, incluso para el transporte local por superficie, que debe cumplir plenamente los requisitos de la Instrucción P650. La designación oficial «*Biological substance, category B*» se debe mostrar junto a la marca romboidal para sustancias infecciosas de categoría B. Para este tipo de transporte no se requieren documentos de mercancías peligrosas, solo para envíos internacionales una lista de empaque (o de embarque) o factura proforma, un permiso o declaración de importación o exportación y un documento sobre conocimiento de embarque aéreo, para el transporte aéreo, o documentos equivalentes para los envíos por carretera, tren y mar.

Recepción en el laboratorio de Microbiología

Cada laboratorio de Microbiología debe disponer de unas normas de recepción y aceptación de muestras para diagnóstico microbiológico que los médicos solicitantes deben conocer. Dado que toda muestra clínica es irreplicable, se intentará por todos los medios evitar el rechazo de las mismas, tratando de resolver en la propia sección de registro y recepción de muestras los problemas que pudieran ser causa de rechazo. Cada muestra debe ir acompañada de su correspondiente petición (volante de solicitud o petición electrónica).

En el proceso de recepción de la muestra clínica se requiere:

- Una correcta identificación de la muestra: este hecho es indispensable para poder establecer una correspondencia inequívoca entre el contenedor en el que se encuentra la muestra recibida, la muestra que contiene y el paciente al cual pertenece.
- Que el tipo de muestra recibido sea adecuado para los estudios solicitados.
- Que el volumen o cantidad de muestra sea el necesario para poder llevar a cabo los estudios microbiológicos previstos.
- Que la muestra se haya transportado en el contenedor adecuado y en las condiciones de transporte y conservación necesarios para que su viabilidad no se vea afectada.

Cualquier incidencia aparecida con relación al incumplimiento de alguno de los requisitos necesarios (identificación incorrecta, muestras derramadas, o transporte/conservación inadecuados) para la aceptación de una muestra deberá ser registrada².

En todos los casos, se contactará con el médico peticionario haciéndole conocer la incidencia en la recepción de la muestra para ver si esta puede ser solucionable o, si no es posible, se solicitará una nueva muestra. Dependiendo de la importancia de la misma, se puede optar a llevar a cabo su procesamiento antes de la resolución de la incidencia, con el objeto de que no se deteriore la muestra.

Aparatos y materiales

Algunos de los equipos habituales convencionales necesarios en el procesamiento de una muestra para estudio microbiológico son: cabinas de bioseguridad (varios niveles según tipo de laboratorio),

estufas (distintas temperaturas y atmósferas), congeladores, neveras y centrífugas. De manera periódica (preferiblemente a diario), debe controlarse la temperatura (y humedad/presión de CO₂ si fuera necesario) de cada estufa/nevera/congelador al inicio de la jornada de trabajo con un termómetro situado permanentemente en el centro de cada equipo. Las revisiones, así como cualquier tipo de incidencia, de los aparatos o el material deben estar detalladas en la hoja de mantenimiento de equipos dentro del plan de calidad del laboratorio y se deben cumplir rigurosamente.

Tras la automatización del procesamiento serológico, surgieron nuevos instrumentos de automatización parcial (inoculación y siembra) y recientemente se han comercializado los procesadores automáticos de trabajo «todo en uno» (etiquetado, agitación, apertura y cierre del contenedor, inoculación, siembra, identificación y antibiograma) que pueden conectar con incubadoras en diversas condiciones, trabajar en estaciones conectadas con un procesador central y ofrecer identificación por imagen de alta resolución. La mayoría de los sistemas automatizados procesan muestras líquidas incluyendo torundas en medio de transporte líquido, exudados, aspirados, líquidos estériles y orinas. Globalmente evitan errores de etiquetado, accidentes laborales, ahorran tiempo y permiten reorganizar el trabajo de los técnicos del laboratorio⁷.

Actualmente existen 3 plataformas automatizadas^{4,8}: WASP (Walk Away Specimen Processor) de Copan Diagnostic, InoQUA de Becton Dickinson Kiestra y FMLA (Full Microbiology Laboratory Automation) de bioMérieux (ha cesado su distribución en España). Entre las características que comparten los 2 primeros, aparecen un nódulo central de inoculación, un sistema de apertura y cierre automatizado del contenedor, agitación/vórtex de la muestra, la posibilidad de realizar extensiones para tinción de Gram, inocular caldo en tubo y preparación de placas para espectrometría de masas (MALDI-TOF). Algunas de las principales diferencias es que el método de inoculación es automático mediante asa metálica reutilizable (WASP) o automático y manual con bola magnética (InoQUA).

Medios de cultivo y reactivos

En general, la mayoría de las muestras se inoculan en medio agar sangre de cordero. Además, para las muestras normalmente estériles, del tracto respiratorio y del tracto genital, oído, exudado conjuntival, heridas superficiales, profundas y abscesos, se añade una placa de agar chocolate. A las muestras de orígenes no estériles se añade una placa de agar MacConkey². Existen medios específicos para determinados patógenos como el medio de BCYE (*Legionella* spp.), Agar Granada (*S. agalactiae*), medio BCSA (*Burkholderia cepacia* complex), Agar Helicobacter (*Helicobacter pylori*), entre otros, y además se pueden utilizar medios selectivos, especialmente útiles para aislar determinados patógenos del resto de la microbiota, como el agar Columbia CNA (colistina-nalidíxico) que selecciona microorganismos grampositivos inhibiendo la microbiota gramnegativa, o los medios selectivos para el coprocultivo que contienen compuestos inhibitorios para la microbiota normal no patógena. La mayoría de estos medios selectivos utilizan compuestos orgánicos y tinturas como tóxicos químicos selectivos sobre determinadas bacterias. Asimismo, el uso de antibióticos incluidos en el medio, solos o en combinaciones, facilita la supresión del crecimiento de un tipo de bacterias o varias, ejemplo: medio de Thayer-Martin (*N. gonorrhoeae*). Algunos componentes permiten la diferenciación de los patógenos de forma específica según reacciones metabólicas que se expresan como cambios de pH y en otros casos estas reacciones producen cambios de color en las colonias crecidas en medios cromogénicos. Existe una gran variedad de medios cromogénicos comercializados para el aislamiento de diferentes microorganismos (*Acinetobacter* spp., *Candida* spp., *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, enterobacterias productoras

de betalactamasas de espectro extendido o resistentes a carba-penemas, enterococos resistentes a la vancomicina, *Listeria* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *S. aureus* resistente a la meticilina, *S. agalactiae* y *Vibrio* spp.).

Los medios líquidos de enriquecimiento, como el caldo tioglicolato o caldo infusión cerebro corazón, se utilizarán en muestras estériles, heridas superficiales, profundas y abscesos. Los medios para anaerobios como el agar sangre para anaerobios (*Brucella* agar), agar sangre lacada-vancomicina-kanamicina o el agar *Bacteroides bilis* esculina (BBE) se utilizarán en abscesos, biopsias, heridas y líquidos estériles (excepto el LCR).

Cada laboratorio debe realizar una vigilancia de la calidad de los medios de cultivo que utiliza, tanto de los preparados en el propio laboratorio como de los que se adquieran comercialmente utilizando preferentemente cepas de colección (ATCC, CECT).

Los reactivos utilizados en la fase de siembra de las muestras comprenden aquellos que son necesarios para realizar los exámenes en fresco como el agua destilada, la solución salina o la tinta china; los empleados en las diferentes tinciones realizadas sobre las muestras como la tinción de Gram (aunque en la actualidad existen teñidores automatizados disponibles en el mercado), los sistemas generadores de distintas atmósferas de incubación y los reactivos comerciales necesarios para la realización de las técnicas rápidas usadas en el laboratorio.

Procesamiento de las muestras

El laboratorio debe establecer un sistema de priorización en el procesamiento de las muestras, en función de criterios previamente definidos (demanda del clínico, carga asistencial y asistencia continuada), aunque es obvio decir que cualquier muestra requerida de forma urgente tiene que tener un procesamiento inmediato y que todas las muestras deben procesarse en cabinas de bioseguridad⁹.

De manera general, siempre se deben procesar primero (en 20 min tras su recepción) los LCR, las muestras de líquidos y cavidades estériles, las muestras quirúrgicas y las pruebas rápidas de detección antigénica, en este orden. A este grupo le siguen muestras con un tiempo limitado de procesamiento, como son el cultivo de micobacterias o las pruebas para detección de ácidos nucleicos, las muestras de tejidos o aspirados recientes (en una hora tras su recepción) y las muestras respiratorias (pueden permanecer 1 h a temperatura ambiente y 2 h si se conservan a 4 °C sin que pierdan viabilidad los microorganismos, excepto el lavado broncoalveolar, que se debe procesar en los primeros 20 min tras su recepción). Las muestras de heces deben enviarse en medio de transporte si el procesamiento no puede realizarse en un periodo de tiempo entre 30 min y 1 h. Por último, se sembrarán las orinas (pueden conservarse hasta 8 h a 4 °C) y las torundas con medio de transporte. Los hemocultivos pueden mantenerse a temperatura ambiente hasta 4 h tras su recepción.

Procesamiento convencional: cultivo

Dentro del procesamiento convencional de las muestras que lleguen al laboratorio de Microbiología, se pueden establecer 4 fases bien diferenciadas que deben realizarse siguiendo este orden:

1. *Fase de pretratamiento*: cuando esta sea necesaria, existen distintas técnicas como la centrifugación (líquidos estériles), la homogenización (biopsias y tejidos) o la sonicación (prótesis), que se aplicarán dependiendo del tipo de muestra y de la solicitud realizada.
2. *Inoculación de los medios de cultivo*: la siembra manual se realizará utilizando la técnica de aislamiento para la mayoría de las muestras y la técnica de recuento para aquellas que necesitan un

recuento de colonias (p. ej., orina). Es necesario procesar primero las muestras para anaerobios y se aconseja inocular primero los medios menos selectivos para evitar que se arrastre alguna sustancia inhibitoria a otro medio. Los medios se seleccionarán según el tipo de muestra y la sospecha diagnóstica del posible agente causal a detectar¹ (bacterias, anaerobios, hongos, etc.).

3. *Preparación de las extensiones*: es necesario realizar extensiones para tinción de Gram de la mayoría de las muestras, incluyendo muestras respiratorias, exudados de heridas, abscesos, muestras de orígenes normalmente estériles y según petición, muestras de orina y genitales. En el caso de líquidos estériles, en especial el LCR, se recomienda citocentrifugar la muestra para preparar las extensiones; en caso de muestra insuficiente, se priorizará el cultivo sobre la tinción.
4. Finalmente, *la incubación* que se puede realizar en distintas atmósferas: aerobiosis, para la mayoría de los microorganismos y medios de Agar sangre y MacConkey, enriquecida con un 5-7% de CO₂ para los medios de agar chocolate y Thayer-Martin, microaerofílica para el aislamiento de *Campylobacter* spp. y *H. pylori* y anaerobiosis para búsqueda de anaerobios y medios agar *Brucella*, agar lacada vancomicina kanamicina (ASKVL) y agar bacteroides bilis esculina (BBE).

En cuanto a las temperaturas, aunque la mayoría de los cultivos bacterianos se incuban a 35 °C-37 °C (temperatura establecida en los equipos automatizados). Algunas excepciones las constituyen las muestras en las que se sospecha *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycobacterium chelonae* y *Mycobacterium haemophilum*, que crecen entre 35° y 33 °C. Para el aislamiento de *Campylobacter* spp. se requiere una incubación de 42 °C y 35 °C (*Campylobacter fetus*), y los hongos habitualmente se incuban a 30 °C¹⁰.

El tiempo de incubación dependerá en gran parte de las diferentes solicitudes (bacterias, micobacterias, hongos, virus), ya que los tiempos de recuperación de los distintos microorganismos pueden ser diferentes. De manera general, para el cultivo bacteriológico ordinario la mayoría de las muestras en el laboratorio se deben mantener al menos durante 48 h, excepto las muestras de orina, que se incuban habitualmente solo 24 h. Algunas muestras de heridas, líquidos estériles o material protésico hay que mantenerlas en incubación hasta 7-10 días para recuperar microorganismos de lento crecimiento como *Propionibacterium* spp., e incluso 12 semanas si se sospecha *M. ulcerans*. En el caso de los cultivos de hongos, la duración variará en función de la sospecha clínica, cuando esta es para los más habituales como *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp. o *Fusarium* spp., se mantienen durante 7 días, pero algunos hongos dermatofitos y dimórficos (*Histoplasma* spp.) requieren periodos más prolongados y se incuban hasta 3-4 semanas.

Procesamiento automatizado

Actualmente, existen varios modelos de sembradores automáticos capaces de inocular la muestra y sembrarla, de destapar y tapar los contenedores, de etiquetar las placas a inocular, de inocular medios de enriquecimiento y de preparar las extensiones a teñir. Las ventajas de utilizar estos procesadores radican en la mejora de la trazabilidad, la reducción de errores humanos en el etiquetado, menos riesgo de accidentes al manipular las muestras, ahorro de tiempo de los técnicos de laboratorio que pueden dedicarse a otras actividades, ahorro de tiempo análisis-resultado, ahorro económico y ventajas al obtener una mayor rapidez en el diagnóstico etiológico y en el informe de sensibilidad antibiótica para los pacientes¹¹.

En los modelos disponibles, las diferencias entre ambos sistemas pueden estar relacionadas con el modo de inoculación; WASP utiliza asa para inocular la muestra y sembrarla y el sistema Ino-qlA recoge la muestra con una punta de pipeta y siembra con

una bola magnética. En ambos sistemas se han evaluado y confirmado las ventajas de la siembra del urocultivo respecto al método convencional, cuando los recuentos son altos¹².

El sembrador Inoqula BD tiene la mayor capacidad, 612 placas, y puede cargar 12 tipos de medios diferentes. Es capaz de procesar diferentes tipos de envases de muestras con apertura y cierre automatizado. El sistema de siembra por bola magnética permite sembrar hasta 400 placas en 1 h y sembrar 5 placas simultáneamente. Es capaz de incubar placas en anaerobiosis y posee filtro HEPA interno para eliminar las partículas del aire que puedan contaminar las placas y las muestras.

El sembrador WASP (Copan) consta de 2 robots que funcionan de forma independiente para recibir la muestra, seleccionar los medios a sembrar cada muestra, agitar, abrir el contenedor e inocular y volver a cerrar y transferir la muestra y el medio inoculado a una fila de muestras «procesadas». También posee un filtro HEPA interno. Utiliza 2 asas metálicas, que mientras una inocula y siembra, la otra es incinerada para ser reutilizada, y de este modo reduce costes sin riesgo de contaminaciones cruzadas. La presencia de un carrusel donde almacena los medios líquidos inoculados y de 4 dispensadores para antibiograma proporciona un plus de versatilidad y funcionalidad.

Técnicas rápidas

Tinciones: el examen en fresco y las tinciones (Gram, Zhiel-Neelsen, auramina, Giemsa, Field, etc.) son las primeras herramientas de diagnóstico rápido empleadas en Microbiología. La tinción de Gram es probablemente la más utilizada y, aunque plantea problemas de sensibilidad y especificidad, es muy útil realizada por profesionales expertos y en determinadas muestras (LCR).

Inmunocromatografía y EIA: las técnicas inmunológicas de detección de antígenos se fundamentan en la afinidad antígeno-anticuerpo y permiten detectar la presencia de microorganismos o fragmentos de los mismos en las muestras clínicas. Son técnicas especialmente útiles en aquellos casos en los que el microorganismo causal crece lentamente o no crece en los medios de cultivo¹³. Dentro de las técnicas inmunocromatográficas se encuentran disponibles: la detección del antígeno polisacárido capsular de *S. pneumoniae* y del antígeno soluble del serogrupo 1 de *Legionella pneumophila* en orina, las técnicas de detección cualitativa simultánea de rotavirus, adenovirus, astrovirus y norovirus, las técnicas para la detección de *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. en heces, las de detección de antígeno de grupo A de *S. pyogenes*, el test de detección de la proteína F de fusión del virus respiratorio sincitial (VRS), el de detección de *H. pylori*, la prueba de detección cualitativa de antígenos de *Plasmodium* spp. circulantes en sangre venosa¹⁴, centrada en el antígeno de la proteína rica en histidina II específica de *Plasmodium falciparum* y un antígeno panmalárico común a *P. falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium malariae* (no detecta *Plasmodium knowlesi*), entre otros, y el Dermatophyto test strip, que utiliza anticuerpos monoclonales específicos frente al polisacárido de la pared celular de los dermatofitos¹⁵.

Además, en la actualidad existen técnicas de EIA y de ICT para los virus gripales A y B, para el virus respiratorio sincitial y para adenovirus. Los resultados obtenidos mediante ICT son equiparables con los obtenidos con las técnicas de EIA en sensibilidad y especificidad; sin embargo, la sensibilidad de estas técnicas con respecto a la inmunofluorescencia es menor. Hoy en día se dispone de EIA rápidos de membrana (tipo «jaboneras») para el diagnóstico de las infecciones producidas por *Clostridium difficile*, detectando el antígeno glutamato deshidrogenasa solamente o simultáneamente con las toxinas A y B en muestras fecales.

Técnicas basadas en la detección de ácido nucleicos: las técnicas moleculares están desempeñando actualmente un papel principal en la detección e identificación de microorganismos patógenos. Se están comercializando en formatos cerrados, automatizados, de fácil manejo, cercanos al paciente (tipo *point of care*) y de emisión muy rápida de resultados. Cada vez se amplían más los menús de estas plataformas que abarcan la detección de múltiples agentes y que conducen a una mejora en el rendimiento, en los tiempos de respuesta y en el coste-efectividad de la aplicación de esta tecnología en los laboratorios de Microbiología¹⁶.

Al mismo tiempo, otros métodos moleculares adicionales, como los secuenciadores de nueva generación y las pruebas basadas en la proteómica, se han introducido en el diagnóstico microbiológico y están acelerando la transición entre el diagnóstico convencional al diagnóstico molecular. La detección molecular de patógenos gastrointestinales o la identificación por secuenciación o la epidemiología por tipificación molecular, son ejemplos de la aceleración que se está llevando a cabo en este campo.

Entre las técnicas de microbiología molecular, se han desarrollado técnicas rápidas de detección de los principales patógenos causantes de infecciones graves como bacteriemia o meningitis. Así, existen pruebas de hibridación de ácidos nucleicos que mediante sondas identifican los microorganismos presentes en los hemocultivos como el panel del sistema Nanosphere Verigene.

Entre los sistemas que utilizan PCR a tiempo real se incluyen: el sistema BD Max (BD diagnostics) para detección de bacterias como *Bordetella* spp., gonococo o *C. difficile*, parásitos como *Trichomonas vaginalis*, hongos como *Pneumocystis jirovecii* o virus respiratorios y gastrointestinales y el sistema GeneXpert (Cepheid) para detección de *Mycobacterium tuberculosis*, *S. aureus* sensibles y resistentes a la metilicina, detección de cepas de *C. difficile* toxigénico/O27 en heces, o de la presencia de enterobacterias productoras de diferentes tipos de carbapenemasas.

El sistema FilmArray (Biofire), es una PCR anidada en dos etapas que presenta paneles de diagnóstico cualitativo de ácidos nucleicos para múltiples bacterias y levaduras lo que permite identificar a los agentes causales de bacteriemia a partir de un hemocultivo positivo, así como las dianas que codifican mecanismos de resistencia. Así mismo presentan un panel para diagnóstico (detección e identificación simultánea) de agentes específicos de meningitis o encefalitis en LCR, un panel para detección de infecciones gastrointestinales (bacterias, virus y parásitos) y un panel para detección de agentes causantes de infección respiratoria (vírica y bacteriana).

Existen sistemas totalmente automatizados, como el Cobas Amp (Roche) y el M2000 (Abbot), basados en una PCR múltiple más detección por sondas fluorescentes; y por último, el PNA-FISH (AdvanDX), técnica de hibridación de ARN ribosómico de microorganismos específicos con sondas péptidos de ácidos nucleicos con detección *in situ* con microscopio de fluorescencia.

Almacenamiento de las muestras tras su procesamiento

El almacenaje de las muestras procesadas debe incluir el tiempo suficiente para resolver cualquier tipo de reclamación o poder ampliar alguna petición por parte del clínico responsable o del microbiólogo que está procesando la muestra. La mayoría de las muestras (estériles y no estériles) deben guardarse a 4 °C, dejando las muestras estériles un mínimo de 7 días y siendo suficiente para el resto de las muestras el almacenaje entre 2 y 4 días. Las biopsias para determinación de *H. pylori* deben guardarse a –80 °C y las muestras destinadas a PCR o cultivo de virus se deben almacenar de manera preferente a –70 ° o –80 °C y en segunda opción a –20 °C.

Recogida y transporte de las muestras con sospecha de microorganismos de gran relevancia en salud pública

Se consideran microorganismos con gran interés y repercusión para la salud pública aquellos agentes etiológicos de enfermedades emergentes como virus del Ébola, virus Zika, o los que pueden ser potencialmente usados en ataques bioterroristas (*Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, *Yersinia pestis*, *Burkholderia pseudomallei*), que además de constituir una amenaza para la sociedad, constituyen un reto diagnóstico para los laboratorios de Microbiología¹⁷.

El manejo de estas muestras se realizará en función del nivel de bioseguridad del laboratorio, siendo la seguridad en el manejo de las mismas prioritaria y fundamental¹⁸. La manipulación de las muestras solamente debe ser realizada por personal entrenado y cualificado, que se debe encargar además de la custodia y organización del transporte de las mismas. Para responder a estos eventos biológicos, el microbiólogo clínico debe estar entrenado y conocer el nivel de bioseguridad de su propio laboratorio, los principios de recogida de muestras, conservación y transporte de estos patógeno, los criterios para reconocer o sospechar las enfermedades emergentes o los intentos de bioterrorismo, los niveles de seguridad para los distintos patógenos que pueden estar implicados en estas situaciones, el conocimiento de los protocolos de consenso y fundamentalmente de la cadena de custodia de estas muestras en su propia institución.

Las condiciones de bioseguridad deben ser las más altas de las que disponga el laboratorio o el hospital y que, como mínimo, debe incluir instalaciones con presión negativa, habitaciones o cabinas de seguridad biológica de clase II y equipos de protección individual adecuados (bata de apertura posterior y capucha o mono con capucha, calzas, pantalla facial, mascarilla FFP3 o FFP2 y dobles guantes)¹⁹, que corresponderían a laboratorios de nivel de bioseguridad tipo 2, a los que pertenecen la mayoría de los laboratorios de Microbiología de los hospitales de nuestro país.

Previamente a la extracción de las muestras, se debe avisar con anterioridad al microbiólogo para preparar todo el material necesario y desplazarse a las inmediaciones del área habilitada de acceso restringido, ya que nunca se debe utilizar el tubo neumático para el envío de estas muestras y él además será el garante de comprobar que el tubo primario se introduce asépticamente en el envase secundario y terciario para su envío a laboratorios de mayor nivel de bioseguridad, cumpliendo las especificaciones correspondientes a la clase 6.2 de Naciones Unidas y la Instrucción de embalaje/envasado P620⁶.

La obtención de muestras se realizará de la forma habitual, manteniendo las condiciones asépticas de forma rigurosa y el transporte debe ser inmediato. En el caso de bacterias y muestras de sangre del virus del Ébola²⁰, se podrá realizar a temperatura ambiente, para el resto de virus y bacterias si se van a procesar tras un periodo superior a 2 h se realizará entre 2° y 8 °C.

Las pruebas a realizar en el laboratorio deben limitarse al mínimo imprescindible y la técnica microbiológica a emplear será escrupulosa, evitando riesgos de aerosolización, derrames o salpicaduras. En caso de centrifugación manual, se deberá disponer de cubetas o rotores herméticamente cerrados, los cuales, una vez finalizada la centrifugación, se abrirán en el interior de la cabina de bioseguridad. El manipulador deberá estar tranquilo, sin presión, y supervisado por una persona con conocimientos técnicos. Las muestras de los casos confirmados de este tipo de infecciones, en el momento de su eliminación, se deben considerar como residuos sanitarios del grupo III.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB Jr, et al. A guide to utilization of the Microbiology Laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013. Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis*. 2013;57:e22–121.
- Sánchez-Carrillo C, Guerrero-Gómez C. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. 2003. 1a. Sánchez-Carrillo C. (coordinador). Procedimientos en Microbiología clínica. Cernado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
- Linscott AJ. Specimen, collection, transport and acceptability. En: Leber AL, editor. *Clinical microbiology procedures handbook*, 1-3, 4th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2016. 2.1.1-2.1.29.
- Doern CD, Holfelder M. Automation and desing of the clinical microbiology laboratory. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, editores. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2015. p. 43-53.
- Tyrrell KL, Citron DM, Leoncio ES, Goldstein EJ. Comparison of the Copan eSwab system with an agar swab transport system for maintenance of fastidious anaerobic bacterium viability. *J Clin Microbiol*. 2016;54:1364.
- Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2015-2016. World Health Organization, Switzerland, 2015. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149288/1/WHO_HSE_GCR_2015_2_eng.pdf
- Croxatto A, Prod'hom G, Faverjon S, Rochais Y, Greub G. Automation in clinical bacteriology: What system to choose? *Clin Microbiol Infect*. 2016;22:217–35.
- Croxatto A, Dijkstra K, Prod'hom G, Greub G. Comparison of inoculation with the Inoqua and WASP automated systems with manual inoculation. *J Clin Microbiol*. 2015;53:2298–307.
- Pérez JL, Alados LC, Gómez E, Leiva J, Rojo E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 2014. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cernado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponibles en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
- Gadea I, Cuenca M, Martín E, Pemán J, Pontón J, Rodríguez Tudela J.L. Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudio de sensibilidad a los antifúngicos. 2006. 21. Gadea I (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cernado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2006. Disponible en <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
- Dauwalder O, Landrieve L, Laurent F, de Montclos M, Vandenesch F, Lina G. Does bacteriology laboratory automation reduce time to results and increase quality management? *Clin Microbiol Infect*. 2016;22:236–43.
- Iversen J, Stendal G, Gerdes CM, Meyer CH, Andersen CO, Frimodt-Møller N. Comparative evaluation of inoculation of urine samples with the Copan WASP and BD Kiestra Inoqua instruments. *J Clin Microbiol*. 2016;54:328–32.
- Alonso C, Bartolomé R, Domínguez J, Matas L, Rabella N. Técnicas rápidas de detección de antígeno. 2005. 19. Domínguez J (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cernado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2005. Disponible en <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
- World Health Organization 2014. Malaria rapid diagnostic test performance: Results of WHO product testing of malaria RDTs: round 5. Ginebra: WHO.
- Wakamoto H, Miyamoto M. Development of a new dermatophyte-detection device using immunochromatography. *J Med Diagn Meth*. 2016; 5:216.
- Buchan BW, Ledebner NA. Emerging technologies for the Clinical Microbiology Laboratory. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27:783–822.
- OMS. Enfermedades epidémicas y pandémicas. Disponible en: <http://who.int/csr/disease/es>.
- American Society for Microbiology (ASM). Sentinel level clinical laboratory protocols for suspected biological threat agents and emerging infectious diseases. Disponible en: www.asm.org/index.php/guidelines/sentinel-guidelines.
- Sharp SE, Loeffelholz M. Biothreat agents. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, editores. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2015. p. 217–25.
- SEIMC Código: GEGMIC 01, 2014. Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el virus Ébola.