	Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud	GCR-IMB-08
		Versión: 02
	Instructivo para el Envío de Muestras de la Sección de Micobacteriología del LCRSP	

1. OBJETIVO

1.1. Establecer los procedimientos adecuados para el envío, embalaje y transporte de muestras/cepas biológicas que garanticen la viabilidad y bioseguridad de las mismas, para el análisis de micobacterias.


2. ALCANCE

2.1. Aplica a los laboratorios locales, regionales y todo establecimiento de salud de Caja de Seguro Social, Ministerio de Salud y privado que envíen muestras para la sección de Micobacteriología del ICGES.


3. CONTENIDO

Prueba	Tipo de muestra	Volumen requerido	Condiciones de envío (tiempo y temperatura)	Envase o contenedor requerido
1. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>: Xpert MTB/RIF- Xpert MTB/RIFUltra	Espuito	2 – 4 mL, con un mínimo de 1 ml de muestra.	Las muestras deben refrigerarse a 2–8°C, por un máximo de 10 días. Sin embargo, para espuito si fuera necesario, las muestras pueden ser almacenadas a 35°C, por hasta 3 días, posterior se debe mantener a refrigeración.	Espuito y lavados bronquiales deben enviarse en recipiente de plástico de boca ancha, herméticamente cerrados, a prueba de derrame, paredes transparentes.
	Lavados Bronquiales			


	Elaborado por	Revisión	Aprobación
Nombre	Equipo de Micobacteriología	Licda. Annie Díaz / Licdo. Juan Domínguez	Mgter. Samantha Rosas
Puesto	Tecnólogos médicos Sección de Micobacteriología	Unidad de Gestión de Calidad/Sección de Micobacteriología	Jefa de la Sección de Micobacteriología

	Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud	GCR-IMB-08
		Versión: 02
	Instructivo para el Envío de Muestras de la sección de Micobacteriología del LCRSP	

Prueba	Tipo de muestra	Volumen requerido	Condiciones de envío (tiempo y temperatura)	Envase o contenedor requerido
	Líquido cefalorraquídeo y muestras semifluidas	1 – 3 mL	Volúmenes mayores de 5 ml, centrifugar a 3000g por 15 minutos, trabajar precipitado.	Envase estéril de 10-15 ml de capacidad y tapa rosca de cierre hermético.
2. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>: Detección por PCR en tiempo Real	Espudo Secreción traqueal Lavados bronquiales	2 – 4 mL, con un mínimo de 1 ml de muestra.	Preservar las muestras de la luz solar, desecación y calor. Mantener en refrigeración (2°- 8°C) hasta el momento del envío. Muestras tomadas dentro de las 24 horas pueden ser enviadas a temperatura de 2°C hasta 25°C.	Recipiente de plástico de boca ancha, herméticamente cerrados, a prueba de derrame, paredes transparentes.
	Tejidos y huesos	1 gramo mínimo	Deben ser enviados en solución salina o buffer PBS. Mantener en refrigeración (2°- 8°C) hasta el momento del envío.	Recipiente de plástico de boca ancha, herméticamente cerrados, a prueba de derrame, paredes transparentes.
	Lavado gástrico	3 mL mínimo	Enviar de inmediato o agregar 1 mg de bicarbonato de sodio por cada ml de contenido gástrico y enviar de 2-8 °C, lo más pronto posible.	Recipiente de plástico de boca ancha, herméticamente cerrados, a prueba de derrame, paredes transparentes.
3. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>:				

	Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud	GCR-IMB-08
		Versión: 02
	Instructivo para el Envío de Muestras de la sección de Micobacteriología del LCRSP	

Prueba	Tipo de muestra	Volumen requerido	Condiciones de envío (tiempo y temperatura)	Envase o contenedor requerido
Detección por PCR en tiempo Real	Sangre	2.5 mL	Mantener en refrigeración (2°-8°C) hasta el momento del envío, lo más pronto posible.	Recolectar en tubos con ACD o EDTA.
	Orina	Sedimento Neutralizado	Enviar sedimento neutralizado con 1mg de bicarbonato de sodio y mantener entre 2° y 8°C, lo más pronto posible.	Envase de 10-15 ml de capacidad.
	Líquidos	1 – 3 mL	Enviar de 2-8 °C, lo más pronto posible. Volúmenes mayores de 5 ml, centrifugar a 3000g por 15 minutos, trabajar precipitado.	Envase estéril de 10-15 ml de capacidad y tapa rosca de cierre hermético.
	Tejidos en parafina	1 gramo mínimo	Enviar lo más pronto posible. Temperatura ambiente.	Enviar la cápsula con el tejido dentro de un envase estéril que evite el deterioro o daño de la muestra.
4. Baciloscopía: Tinción de Ziehl-Neelsen, y	Espuito	2 mL mínimo (muestra ideal de 3 – 5 mL)	Preservar las muestras de la luz solar, desecación y calor. Mantener en refrigeración (2°-8°C) hasta el momento del envío (<u>hasta 7 días después de la toma</u>).	Recipiente de plástico de boca ancha, herméticamente cerrados, a prueba de derrame, paredes transparentes, no es
	Lavado bronquial			
5. <i>Mycobacterium sp.</i>: cultivo en medio de				

	Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud	GCR-IMB-08
		Versión: 02
	Instructivo para el Envío de Muestras de la sección de Micobacteriología del LCRSP	

Prueba	Tipo de muestra	Volumen requerido	Condiciones de envío (tiempo y temperatura)	Envase o contenedor requerido
6. Baciloscopía: Tinción de Ziehl-Neelsen	Lowenstein Jensen		Muestras tomadas dentro de las 24 horas pueden ser enviadas a temperatura de 2°C hasta 25°C.	necesario que sea estéril.
	Lavado Gástrico	La totalidad que se logre recolectar, se deben enviar mínimo 3 muestras tomadas en días consecutivos.	Envío inmediato al laboratorio; Si no es posible el procesamiento inmediato, debe neutralizarse con 1 mg de bicarbonato de sodio al 8% y conservarse de 2 – 8°C.	
	Orina	Se debe enviar el sedimento urinario . Se deben recolectar de 3 a 6 muestras de 50 mL mínimo. Cada muestra se trabaja por separado.	El envío debe hacerse de inmediato, para asegurar la viabilidad del bacilo es recomendable que se envíe todo el sedimento urinario obtenido luego de centrifugar toda la muestra a 3000g por 15 min, este sedimento debe ser neutralizado con 1 mg bicarbonato de sodio o fosfato trisódico anhidro, debe conservarse de 2 – 8°C y mantener esta condición en el envío, <u>no puede exceder las 24 horas</u> .	Envase estéril de 10 - 15 mL de capacidad y con tapa con rosca de cierre hermético.



Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

GCR-IMB-08

Versión: 02

Instructivo para el Envío de Muestras de la sección de Micobacteriología del LCRSP

Vigencia: 05-01-2022

Prueba	Tipo de muestra	Volumen requerido	Condiciones de envío (tiempo y temperatura)	Envase o contenedor requerido
7. Baciloscopía: Tinción de Ziehl-Neelsen 8. <i>Mycobacterium sp.</i>: cultivo en medio de Lowenstein Jensen	Líquido cefalorraquídeo; líquido pleural; líquido ascítico; líquido pericárdico; líquido articular; otros líquidos	La cantidad que se pueda recolectar por el médico. Luego de extraído en una jeringa, puede colocarse en un recipiente estéril y agregar 2 gotas de citrato de sodio al 10% o de oxalato de potasio 10%, por cada 10 ml de muestra.	<p>LCR el envío inmediato o lo más pronto posible, conservar a 2-8°C.</p> <p>Líquido pleural, ascítico, pericárdico, articular; inmediato o dentro de 5 días de recolectado, conservar de 2-8°C.</p>	Envase estéril de 10 - 15 mL de capacidad y con tapa con rosca de cierre hermético.
	Biopsias y Material Resecado	1 g mínimo	<p>El material debe ser enviado en 1 o 2 ml de solución salina o agua destilada estéril para evitar desecación; el envío debe ser inmediato. De no poder hacerse, se puede conservar de 2 – 8°C, lejos del alcance de la luz.</p> <p>En biopsia de endometrio, la muestra debe consistir en raspado uterino tomado durante la primera fase del ciclo menstrual o en el período de ovulación.</p>	Envase estéril.
Baciloscopía: Tinción de Ziehl-Neelsen				



Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud


Instructivo para el Envío de Muestras de la sección de Micobacteriología del LCRSP

GCR-IMB-08

Versión: 02

Vigencia: 05-01-2022

Prueba	Tipo de muestra	Volumen requerido	Condiciones de envío (tiempo y temperatura)	Envase o contenedor requerido
<i>Mycobacterium sp.</i>: cultivo en medio de Lowenstein Jensen	Pus	Todo el material que se pueda recolectar.	La muestra debe ser enviada inmediatamente, de no poder enviarse, conservarse de 2 – 8°C. Conservar de 2 – 8°C y evitar contacto con la luz, se debe mantener estas condiciones durante el envío.	Envase estéril, es preferible no usar hisopos para evitar la desecación. En caso de utilizarlos, antes de la toma de muestra deben ser humedecidos con solución fisiológica o agua destilada estéril.
	Sangre	5-10 ml adulto, 3-5 ml niño. Anticoagulante: heparina. No se recomienda EDTA. Centrifugar a 2000 RPM x 20-30 min. Descartar sobrenadante y resuspender el sedimento en 1ml de agua destilada.	El envío debe ser inmediato.	Si el envío es inmediato se puede utilizar un tubo plástico seco estéril con tapa a rosca de cierre hermético.
4. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>: Identificación por inmunocromatografía	Cepas puras de Micobacterias (cultivadas en	1 tubo que contenga la cepa con crecimiento puro.	Se debe enviar de preferencia el tubo primario. Evitar enviar pases.	Medios de cultivo sólido LJ. Tubos de MGIT.

	Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud	GCR-IMB-08
		Versión: 02
	Instructivo para el Envío de Muestras de la sección de Micobacteriología del LCRSP	

Prueba	Tipo de muestra	Volumen requerido	Condiciones de envío (tiempo y temperatura)	Envase o contenedor requerido
	medios líquidos o sólidos).		<p>Conservación: Si no puede enviar las cepas inmediatamente, guardar a temperatura ambiente o en refrigeración de 2-8°C hasta su envío.</p> <p>Envío y embalaje: La cepa o aislamiento debe venir embalada con el sistema de triple embalaje y puede enviarla en refrigeración o temperatura ambiente (2°-35°C).</p>	Botellas Bact/Alert
11. <i>Mycobacterium sp.</i> Identificación por hibridación reversa	Cepas puras de Micobacterias (cultivadas en medios líquidos o sólidos).	1 tubo que contenga la cepa con crecimiento puro.	Se debe enviar de preferencia el tubo primario. <u>Evitar enviar pases.</u>	Medios de cultivo sólido LJ. Tubos de MGIT. Botellas Bact/Alert
12. Complejo <i>M. tuberculosis</i>: Prueba de sensibilidad primera línea por método de hibridación reversa.	Cepas puras identificadas como <i>M. tuberculosis</i> , cultivadas en medios sólidos o líquidos.		<p>Conservación: Si no puede enviar las cepas inmediatamente, guardar a temperatura ambiente o en refrigeración de 2-8°C hasta su envío.</p>	
13. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>: Prueba de sensibilidad de segunda línea por el método de hibridación reversa.	Cepas puras identificadas como <i>M. tuberculosis</i> , cultivadas en medios sólidos o		<p>Envío y embalaje: La cepa o aislamiento puede enviarla en refrigeración o temperatura ambiente (2°-35°C).</p>	



Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud


Instructivo para el Envío de Muestras de la sección de Micobacteriología del LCRSP

GCR-IMB-08

Versión: 02


Vigencia: 05-01-2022

Prueba	Tipo de muestra	Volumen requerido	Condiciones de envío (tiempo y temperatura)	Envase o contenedor requerido
14. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> : Prueba de sensibilidad a drogas de primera línea método fluorométrico MGIT 320.	líquidos que presenten resistencia a Isoniazida y/o Rifampicina.		Tubos embalados correctamente utilizando un envase secundario para proteger los tubos de roturas.	
15. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> : Prueba de sensibilidad a drogas de segunda línea método fluorométrico MGIT 320.	Cepas puras identificadas como M. tuberculosis, cultivadas en medios sólidos o líquidos que presenten resistencia a Isoniazida y/o Rifampicina.	1 tubo que contenga la cepa con crecimiento puro.	Se debe enviar de preferencia el tubo primario. <u>Evitar enviar pases.</u> Conservación: Si no puede enviar las cepas inmediatamente, guardar a temperatura ambiente o en refrigeración de 2-8°C hasta su envío.	Medios de cultivo sólido LJ. Tubos de MGIT. Botellas Bact/Alert
16. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> : Prueba de sensibilidad a drogas de primera línea método de Proporciones de Canetti				
17. <i>Mycobacterium tuberculosis</i> : Prueba enzimática para droga de Pirazinamida (PZA)			Envío y embalaje: La cepa o aislamiento debe venir embalada con el sistema de triple embalaje y puede enviarla en refrigeración o temperatura ambiente (2°-35°C). Tubos embalados correctamente utilizando un envase secundario para proteger los tubos de roturas.	

	<p>Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud</p> <hr/> <p>Instructivo para el Envío de Muestras de la sección de Micobacteriología del LCRSP</p>	GCR-IMB-08
		Versión: 02
		Vigencia: 05-01-2022

Prueba	Tipo de muestra	Volumen requerido	Condiciones de envío (tiempo y temperatura)	Envase o contenedor requerido
<p>18. <i>Mycobacterium leprae</i>: Tinción por BAAR</p>	<p>Extendidos o frotis de rapados intradérmicos de 5 sitios anatómicos diferentes, incluyendo: ambos lóbulos de oreja derecha e izquierda, codo derecho e izquierdo y 1 o 2 lesiones, las cuales deben venir acompañadas del formulario correspondiente, indicando los tipos de muestras y las placas debidamente identificadas.</p>	<p>5 frotis de 5 sitios anatómicos diferentes con lesión cutánea.</p>	<p>Los frotis o extendidos ya deben venir tomados de su unidad. Protegidos de la luz y sin ningún agente de fijación (metanol). Y con identificación en cada placa del sitio anatómico.</p>	<p>Las láminas o cualquier recipiente rígido que garantice la integridad de la muestra y de la placa durante el transporte y que la proteja de la luz.</p>

Nota 1: Recordar que toda muestra o cepa debe enviarse acompañada con su formulario para Solicitud para Diagnóstico de Tuberculosis. En caso de envío de cepas, adicional al formulario también se debe enviar el formulario **Lista de envío de cepas al LCRSP GCR-PMB-46-F1** y para el envío de muestras, el **Listado de Envío de Muestras para Diagnóstico de Micobacterias al LCRSP GCR-PMB-46-F2**, con la información de cada una de las cepas/muestras enviadas. En el caso de estudio para identificación de *Mycobacterium leprae*, se debe llenar el **Formulario de Solicitud de Diagnóstico de Lepra GCR-PMB-53-F1**.

	Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud	GCR-IMB-08
	<hr/> Instructivo para el Envío de Muestras de la sección de Micobacteriología del LCRSP	Versión: 02
		Vigencia: 05-01-2022

EMBALAJE/ENVASADO, ETIQUETADO Y DOCUMENTACIÓN CORRESPONDIENTE A CULTIVOS DE *Mycobacterium spp.* Y BACILOSCOPIAS POR VIA TERRESTRE

- 1. Recipiente primario:** Tubo de vidrio de Lowenstein Jensen y/o medio líquido envuelto por completo en papel parafilm o con papel plástico celofán.
- 2. Material de envasado absorbente:** puede emplearse papel toalla, algodón o gasa, en el fondo del envase secundario.
- 3. Envase secundario:** Debe ser a prueba de filtraciones o derrames, material de plástico, por ejemplo: envase de tiras reactivas de orina o algún envase plástico donde el tubo primario pueda mantener una posición vertical.
- 4. Envase terciario:** Puede emplearse una hielera, de no contar con las cajas de embalaje exterior establecidas por las Normas IATA.
- 5. Lo anterior debe estar acompañado con el formulario de envío y el de solicitud de investigación micobacteriológica.**

BACILOSCOPIAS

- 1. Las placas para diagnóstico por lepra de raspados de tejidos, deben ser enviadas con los criterios arriba señalados.**

OBSERVACIONES:

- 1. El costo de los envíos por operarios o transportistas privados deben ser asumidos por cada Institución expedidora. La devolución de los mismos debe estar incluida en dicho contrato.**