

Documento técnico

Toma y transporte de muestras para diagnóstico por PCR de SARS-CoV-2

18 de mayo de 2020

COORDINACIÓN: Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias.
Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación.

Las recomendaciones incluidas en el presente documento están en continua revisión y serán modificadas si la situación epidemiológica así lo requiriese. Utilice este documento bajo su propia responsabilidad.

Contenido:

1. Justificación	3
2. Objetivo	3
3. Indicación de toma de muestras clínicas	3
4. Tipo de muestras para el diagnóstico	3
5. Equipo de protección individual para la toma de muestras	3
6. Técnica de recogida de la muestra.....	4
7. Preparación de la muestra	4
8. Bibliografía	5
ANEXO 1: Transporte y recomendaciones de manejo de muestras biológicas con infección o sospecha de infección por SARS-CoV-2.....	7
A. Instrucciones para el transporte de muestras biológicas a otro centro diferente al lugar de la toma de muestra	7
B. Manejo de muestras para el personal de laboratorio	11

CONTROL DE REVISIONES Y MODIFICACIONES

Nº Revisión	Fecha	Descripción de modificaciones
0	13/05/2020	Versión inicial

1. Justificación

- En la situación epidemiológica actual debe realizarse la confirmación diagnóstica de todos los casos sospechosos de COVID-19, garantizando la calidad de la atención y la máxima seguridad para el personal sanitario, así como el uso racional de los recursos.

2. Objetivo

- Servir de guía para la toma de muestras clínicas de manejo casos de COVID-19 en aquellos ámbitos en los que cada comunidad autónoma designe para tal fin.

3. Indicación de toma de muestras clínicas

- Las indicaciones de toma de muestra se recogen en la [Estrategia de diagnóstico, vigilancia y control en la fase de transición de la pandemia e indicadores.](#)

4. Tipo de muestras para el diagnóstico

- Las muestras recomendadas para el diagnóstico microbiológico serán preferentemente las referidas al tracto respiratorio superior: frotis nasofaríngeo (de preferencia por ser el lugar donde se detecta mayor carga viral) y/o orofaríngeo. En población pediátrica de corta edad es posible sustituir los frotis por lavado o aspirado nasofaríngeo.
- Las muestras del tracto respiratorio inferior como el esputo (si es posible) o aspirado endotraqueal, lavado broncoalveolar o broncoaspirado se considerarán a juicio facultativo, especialmente en pacientes con enfermedad respiratoria grave. Estas muestras parecen tener mayor rendimiento que las del tracto respiratorio superior especialmente en pacientes con neumonía y pueden ser obtenidas fácilmente en casos de pacientes intubados con ventilación mecánica.
- Las muestras de suero para serología (dos muestras) sólo se realizarán tras la confirmación con PCR positiva para COVID-19. La serología es útil para la confirmación de la respuesta inmune a la infección por coronavirus. La primera muestra debe recogerse a partir del día 7 desde el inicio de síntomas (fase aguda) y la segunda muestra 20-30 días después.

5. Equipo de protección individual para la toma de muestras

- Para la **toma de muestras del tracto respiratorio superior** se deben instaurar las siguientes precauciones:
 - Bata
 - Mascarilla FFP2

- Guantes
- Protección ocular
- En caso **de toma de muestras del trato respiratorio inferior** el personal sanitario debería instaurar las precauciones específicas de transmisión aérea:
 - Bata: impermeable o si no hay disponibilidad utilizar adicionalmente delantal
 - Protección respiratoria con una eficacia de filtración equivalente a FFP2 o FFP3
 - Protección ocular
 - Guantes de manga larga

6. Técnica de recogida de la muestra

- Frotis nasofaríngeo: se realizará la toma de la muestra con el hisopo fino y flexible del kit específico para toma de muestras respiratorias para virus. No debe recogerse con hisopos de alginato de calcio, de algodón ni con mango de madera. Se debe insertar un hisopo más flexible, de dacrón o poliéster, por la fosa nasal y paralelo al paladar. Se introduce el hisopo primero por una nariz hasta alcanzar la rinofaringe y luego por la otra. El hisopo debe alcanzar una profundidad igual a la distancia desde las fosas nasales hasta la abertura externa de la oreja. Se deja el hisopo en ese lugar durante varios segundos para absorber las secreciones. Se retira lentamente el hisopo mientras se gira. Se hacen dos o tres rotaciones de 180º y se mantiene 5 segundos en contacto con la mucosa. Puede verse la técnica en [este vídeo](#). Los hisopos se introducen inmediatamente en tubos estériles que contengan 2-3 ml de medio de transporte viral. Existen hisopos de tamaño pediátrico. La muestra ha de conservarse en nevera hasta su envío al laboratorio.
- Frotis orofaríngeo: se realizará la toma de la muestra con el hisopo grueso y rígido (sin mango de madera) del kit específico para toma de muestras respiratorias de virus. Se sujeta la lengua del paciente con el depresor lingual y se frota con firmeza la pared posterior de la garganta (orofaringe) con el hisopo (al frotar obtenemos células infectadas con el virus). Los hisopos se introducen inmediatamente en tubos estériles que contengan 2-3 ml de medio de transporte viral. Si se toma nasofaríngeo y orofaríngeo al mismo paciente se pueden introducir los dos hisopos juntos en el mismo tubo de medio de transporte. La muestra ha de conservarse en nevera hasta su envío al laboratorio.

7. Preparación de la muestra

- Todas las muestras se prepararán para su envío al laboratorio en el mismo lugar donde se encuentre el paciente.
- La parte externa de los tubos que contiene la muestra respiratoria deberá limpiarse con un desinfectante de superficies o una toallita impregnada en desinfectante.
- En caso de precisar envío de muestras a otra institución y dado que en el transporte se pueden producir golpes o derramamientos deberán ser tratadas como potencialmente

infecciosas y se considerarán de categoría B (deben ser transportadas en triple embalaje, norma UN3373 según figura en el anexo I, al final de este documento).

- No es imprescindible que el transporte de muestras clínicas para la detección del SARS-CoV-2 a otras instituciones se realice utilizando los servicios de empresas especializadas.

8. Bibliografía

- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition | CDC Laboratory Portal | CDC [Internet]. 2019 [cited 2020 Feb 12]. Available from: https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fbiosafety%2Fpublications%2Fbmbli5%2Findex.htm
- CDC. Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV). February 2020. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
- CDC: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/infection-control.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. Interim Infection Prevention and Control Recommendations for Patients with Known or Patients Under Investigation for 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) in a Healthcare Setting: CDC; 2020. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/hcp/infection-control.html>
- ECDC. Infection prevention and control for the care of patients with 2019-nCoV in healthcare settings. February 2020. Available from <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/nove-coronavirus-infection-prevention-control-patients-healthcare-settings.pdf>
- ECDC: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/nove-coronavirus-infection-prevention-control-patients-healthcare-settings.pdf>
- European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road. ADR 2019. Available from: https://www.unece.org/index.php?id=50858&no_cache=1
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Safe use of personal protective equipment in the treatment of infectious diseases of high consequence Stockholm: ECDC; 2014. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/safe-use-of-ppe.pdf> .
- <https://www.iata.org/en/programs/cargo/dgr/>
- lors de la prise en charge de ces patients 2015. Disponible en: https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/Telecharger?NomFichier=hcsp20150424_infectionMersCovdefcasmopdec.pdf
- NTP 628: Riesgo biológico en el transporte de muestras y materiales infecciosos. Instituto de Seguridad y Salud en el Trabajo. Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos. <https://www.boe.es/eli/es/rd/1997/05/12/664/con>

- Reglamento ADR 2019. <https://www.mitma.gob.es/transporte-terrestre/mercancias-peligrosas-y-perecederas/adr2019>
- UNECE. Instrucción de Embalaje P650. Available from: http://www.safetyway.es/images/PDF/P650_adr.pdf
- WHO. Laboratory biorisk management for laboratories handling human specimens suspected or confirmed to contain novel coronavirus: Interim recommendations. February 2013. Available from: https://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/Biosafety_InterimRecommendations_NovelCoronavirus_19Feb13.pdf?ua=1
- World Health Organization. Infection prevention and control during health care when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected. Interim Guidance Geneva2020. WHO/2019-nCoV/IPC/v2020.1. Disponible en: [https://www.who.int/publications-detail/infection-prevention-and-control-during-health-care-when-novelcoronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected](https://www.who.int/publications-detail/infection-prevention-and-control-during-health-care-when-novelcoronavirus-(ncov)-infection-is-suspected)
- World Health Organization. Infection prevention and control of epidemic-and pandemic prone acute respiratory infections in health care. WHO guidelines 2014. Disponible en: https://www.who.int/csr/bioriskreduction/infection_control/publication/en/

ANEXO 1: Transporte y recomendaciones de manejo de muestras biológicas con infección o sospecha de infección por SARS-CoV-2.

A. Instrucciones para el transporte de muestras biológicas a otro centro diferente al lugar de la toma de muestra

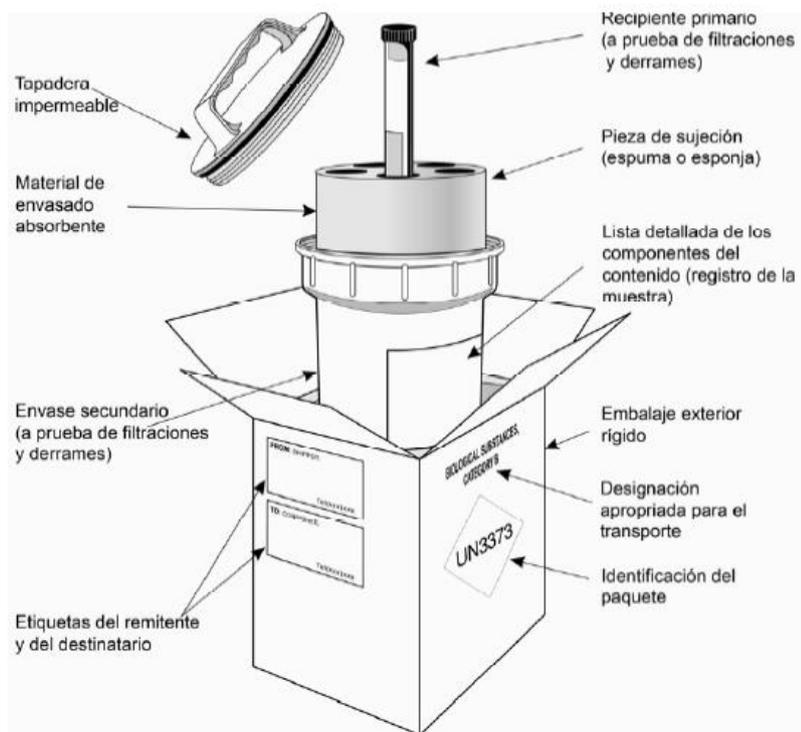
1. Categorización de la muestra:

- Las muestras biológicas procedentes de pacientes infectados o con sospecha de infección por el SARS-CoV-2 son clasificadas como **sustancias infecciosas de categoría B (1)**.

2. Embalaje de las muestras:

- Deben ser transportadas a los centros de diagnóstico de acuerdo a la **instrucción de embalaje P650** del Acuerdo ADR que se aplica a la norma **UN 3373** para el embalaje de sustancias peligrosas (la instrucción de embalaje P650 equivale a la instrucción 650 IATA).
- La norma UN 3733 establece que la muestra sea transportada en **triple envase**, robusto y que soporte golpes y cargas habituales del transporte, incluyendo el trasbordo entre vehículos, contenedores y almacén o la manipulación manual o mecánica. Los embalajes se construirán y cerrarán de forma que se evite cualquier fuga de su contenido, en las condiciones normales de transporte, por vibración o por cambios de temperatura, humedad o presión.
- Para el transporte por superficie no se establece una cantidad máxima por paquete. Para el transporte aéreo se requiere que:
 - La capacidad de los recipientes primarios no supere 1 litro (para líquidos) o la masa límite del embalaje externo (para sólidos).
 - El volumen enviado no supere 4 litros o 4 kg por paquete.
- Estas cantidades excluyen el hielo y el hielo seco cuando sean utilizados para mantener las muestras frías.
- El triple envase constará de:
 - Recipiente primario estanco
 - Embalaje secundario estanco
 - Embalaje exterior rígido

- Ejemplo de sistema de embalaje/ensado triple para el embalaje y etiquetado de sustancias infecciosas de categoría B



- En el caso de que se utilice hielo o hielo seco para refrigerar la muestra, éste NUNCA debe ir en el interior del embalaje secundario.
- La información acompañante a las muestras enviadas debe colocarse entre el embalaje secundario y el embalaje exterior, NUNCA en el interior del embalaje secundario.
- Si se cumplen todos los requisitos establecidos en la Instrucción de embalaje/ensado P650, no se establecen requerimientos de transporte adicionales. La Instrucción P650 comprende todos los requisitos necesarios para el envío de sustancias infecciosas de categoría B.

3. Etiquetado:

- Independiente del medio de transporte, en cada paquete se expondrá la información siguiente:
 - el nombre, la dirección y el número de teléfono del expedidor (remitente, consignador).
 - el número de teléfono de una persona responsable e informada acerca del envío.
 - el nombre, la dirección y el número de teléfono del destinatario (consignatario).
 - la designación oficial de transporte «BIOLOGICAL SUBSTANCE, CATEGORY B».
 - requisitos relativos a la temperatura de almacenamiento (optativo).

- Para los envíos de sustancias infecciosas de categoría B se utiliza la marca que se muestra en la figura.



4. Condiciones de los medios de transporte:

- No es imprescindible que el transporte de muestras clínicas para la detección del SARS-CoV2 se realice utilizando **los servicios de empresas especializadas**. Al tratarse de sustancias infecciosas de categoría B lo necesario es cumplir con las siguientes instrucciones:
 - Utilizar el triple envase del tipo UN3373 y un documento externo (formulario, carta de porte) que indique lo que se transporta.
 - Las empresas de mensajería o personas que transporten sustancias biológicas de categoría B (UN 3373), están obligadas a cumplir con las normas de transporte de la ADR. Este tipo de embalajes no podrán ir dentro de bolsas de mensajería, dado que las etiquetas normalizadas deben estar a la vista.
 - El vehículo debe tener un sistema de anclaje que impida el movimiento del paquete y posibles golpes.
 - El personal del vehículo de transporte alternativo debe recibir información de lo que va a transportar, conocer los riesgos y comprometerse a informar en caso de incidentes.
- **Documentación:** No se requieren documentos con indicación de mercancía peligrosa para las sustancias infecciosas de categoría B.

5. Medio de conservación en función del tipo de muestra:

Tipo de muestra	Medio de Transporte de Virus	Condiciones de transporte: Muestra biológica categoría B
Muestras Respiratorias		
• Exudado nasofaríngeo/orofaríngeo	Sí	Refrigerado a 4°C en 24-48h
• Aspirado/lavado nasofaríngeo	No	Refrigerado a 4°C en 24h
• Lavado broncoalveolar	No	Refrigerado a 4°C en 24h
• Aspirado endotraqueal	No	Refrigerado a 4°C en 24h
• Esputo	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Otras muestras		
• Suero (2 muestras en fases aguda y convaleciente a partir del día 7 y entre 20-30 días respectivamente)	No	Refrigerado a 4°C
• Biopsia/Necropsia de pulmón	No	Refrigerado a 4°C en 24h
• Sangre completa	No	Refrigerado a 4°C
• Orina	No	Refrigerado a 4°C
• Heces	No	Refrigerado a 4°C

- Si transcurren más de 72 horas hasta el procesamiento de las muestras respiratorias refrigeradas se recomienda su congelación a -20°C o, idealmente a -80°C.

B. Manejo de muestras para el personal de laboratorio

1. Pautas para el personal de los laboratorios clínicos (bioquímica, hematología, inmunología, anatomía patológica, microbiología)

- De forma general: el personal que manipule muestras clínicas rutinarias (hemogramas, pruebas bioquímicas, análisis de orina, serología y otras pruebas diagnósticas en suero, sangre y orina) de pacientes ingresados con diagnóstico o sospecha de infección por SARS-CoV-2 **deberá seguir las pautas estándar y recomendaciones generales de bioseguridad establecidas para los laboratorios de nivel BSL-2.**
- De forma particular: **al igual que con cualquier muestra clínica**, los procedimientos que puedan generar aerosoles de partículas finas (p. ej., vorteados o sonicación de muestras en tubo abierto) deberán realizarse en una campana de seguridad biológica (BSC) de clase II y deberán usarse dispositivos de contención física adecuados (rotores de centrifuga adecuados, cubetas de seguridad para la centrifuga, rotores sellados) ante la eventualidad de una rotura de los tubos que contienen las muestras durante el proceso de centrifugación. Los rotores tienen que ser cargados y descargados dentro de la cabina de seguridad. Deberá reducirse, en la medida de lo posible, todo procedimiento fuera de la cabina de seguridad.
- Después de procesar las muestras, se descontaminarán las superficies de trabajo y el equipo con los desinfectantes hospitalarios habituales. Se recomienda seguir las indicaciones de la OMS y el ECDC para la dilución de uso (es decir, la concentración), el tiempo de contacto y las precauciones de manejo.

2. Pautas específicas para el personal de los laboratorios

- Por el momento no se recomienda el aislamiento del virus en cultivos celulares ni la caracterización inicial de agentes virales a partir de cultivos de muestras con SARS-CoV-2 para los laboratorios de diagnóstico rutinario, a no ser que se realice en un laboratorio de seguridad BSL-3.
- Las siguientes actividades se pueden realizar en instalaciones BSL-2 utilizando prácticas de trabajo estándar para un laboratorio de nivel de bioseguridad BSL-2:
 - Examen anatomopatológico y procesamiento de tejidos fijados con formalina o tejidos inactivados.
 - Estudios de microscopía electrónica con rejillas fijas con glutaraldehído.
 - Examen de rutina de cultivos bacterianos y fúngicos.
 - Tinciones de rutina y análisis microscópico de frotis fijados.
 - Empaquetado de muestras para su transporte a laboratorios de diagnóstico.
 - Muestras inactivadas (p. ej. muestras en tampón de extracción de ácidos nucleicos)
- Las siguientes actividades que implican la manipulación de muestras potencialmente infecciosas deben realizarse, como mínimo, en una cabina de seguridad BSC de Clase II. Se debe realizar una evaluación de riesgo específica del sitio para determinar si se precisan

mayores precauciones de seguridad (por ejemplo, al manipular grandes volúmenes de muestra):

- Alicuotar y / o diluir muestras
- Inactivación de muestras
- Inoculación de medios de cultivo bacterianos o micológicos
- Preparación y fijación química o térmica de frotis para análisis microscópico.