

# RECOMENDACIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS RESPIRATORIAS PARA LAS TÉCNICAS DE INMUNOFLUORESCENCIA Y REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) PARA DETECCIÓN DE VIRUS RESPIRATORIOS

VERSIÓN 2, 2023

### **AUTORES:**

**TM. MG. Alejandra Acevedo Contreras.**

Profesional Sección Virus Respiratorios y Exantemáticos.  
Subdepartamento Enfermedades Virales.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

**TM. Patricio Loyola Segovia.**

Profesional Sección Virus Respiratorios y Exantemáticos.  
Subdepartamento Enfermedades Virales.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

### **REVISORES INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE**

**BQ. Patricia Bustos Alister.**

Jefe Sección Virus Respiratorios y Exantemáticos.  
Subdepartamento Enfermedades Virales.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

**TM. Lilian Vera Delgado**

Encargada de calidad del Subdepartamento Enfermedades Virales.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

**BQ. Rodrigo Fasce Pineda.**

Jefe Subdepartamento Enfermedades Virales.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública.

**Dra. Verónica Ramírez Muñoz.**

Jefe Subdepartamento Coordinación Externa.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

### **REVISORES EXTERNOS**

#### **Comité de Expertos PEEC Virus Respiratorios**

**TM. MG. Belén González Montenegro.**

Magíster en docencia para la educación superior  
Docente escuela Tecnología Médica UNAB  
Tecnólogo Médico.  
Hospital Dr. Exequiel González Cortés.

**Dra. Vivian Luchsinger Farías.**

Medico Magister en Microbiología, Doctora en Ciencias Biomédicas  
Profesora Asociada, Programa de Virología, ICBM. Facultad de  
Medicina.  
Universidad Chile

**Dra. Elba Wu.**

Médico Pediatra Infectóloga.  
Docente Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile,  
Hospital San Juan de Dios.

---

# RECOMENDACIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS RESPIRATORIAS PARA LAS TÉCNICAS DE INMUNOFLUORESCENCIA Y REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) PARA DETECCIÓN DE VIRUS RESPIRATORIOS

---

## RESUMEN

Este documento presenta una actualización de la primera versión del documento técnico: Recomendaciones para la toma de muestras respiratorias para la técnica de inmunofluorescencia para detección de virus respiratorios, publicado por el ISP el 14 de enero 2013 y contiene las recomendaciones de toma de muestras para la técnica de Inmunofluorescencia (IF), PCR en tiempo real y RT-PCR en tiempo real para detección de virus respiratorios, siendo la toma de muestra una etapa clave para el diagnóstico.

Estas recomendaciones emanan desde el Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia, Sección Virus Respiratorios y Exantemáticos del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) y están dirigidas a los laboratorios que realizan la toma de muestra para las técnicas de diagnóstico mencionadas.

Se consideran todas las etapas relacionadas con el manejo de la muestra, conservación y transporte.

## ALCANCE

Estas recomendaciones aplican a todos los servicios y unidades donde se realiza la Toma de Muestra para virus respiratorios.

## INTRODUCCIÓN

El éxito del diagnóstico virológico de los virus respiratorios depende principalmente de la calidad de la toma de muestra, del almacenamiento y de las condiciones de su transporte. La muestra óptima y de mayor rendimiento para la técnica de Inmunofluorescencia es la muestra obtenida por aspirado nasofaríngeo y como segunda opción es la muestra obtenida por tórula nasofaríngea; en el caso de sospechar de COVID-19 en un paciente ambulatorio se recomienda la tórula nasofaríngea como primera opción.

Como los virus requieren de células epiteliales vivas para replicarse y la estructura viral generalmente es lábil a las condiciones ambientales como el calor, la cantidad de virus disminuirá después de ser tomada la muestra, por lo que es importante mantener las muestras siempre en frío. Es de suma importancia que transcurra el menor tiempo posible entre la toma de la muestra y su procesamiento en el laboratorio según la técnica disponible.

## TERMINOLOGÍA

**dd:** Destilada.

**EPP:** Elementos de protección personal.

**IF:** Inmunofluorescencia.

**PCR en tiempo real:** Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (para virus DNA).

**RT-PCR en tiempo real:** Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción Reversa en tiempo real (para virus RNA).

**STF:** Solución Tampón Fosfato.

**SF:** Suero Fisiológico estéril.

## DESARROLLO

El personal que realiza la toma de muestra primero debe realizar el correspondiente lavado clínico de manos.

La toma de muestra es una actividad considerada de alto riesgo de contagio para el personal de salud que lo realiza, puesto que el paciente se encuentra sin mascarilla, y eventualmente podría toser y/o estornudar durante el procedimiento. Por esto es esencial la protección del personal de salud durante la toma de la muestra con los EPP adecuados y en orden secuencial : primero ponerse delantal o bata desechable, luego respirador N95, seguido por protección facial o antiparras y finalmente guantes\*.

*\* El orden secuencial descrito corresponde a lo indicado por el Ministerio de Salud, Chile en base a lo indicado por la Organización Mundial de la Salud. Aunque podría haber más de un método aceptable para ponerse los EPP. En los establecimientos de salud donde se ha implementado el uso extendido de EPP, los procedimientos de postura y retiro de estos, pueden ser adaptados a tales prácticas.*

**Tipo de muestra: Secreción nasofaríngea, secreción orofaríngea, secreción broncoalveolar, secreción traqueal.**

**Métodos: Aspirado nasofaríngeo, tórula nasofaríngea, tórula orofaríngea, lavado broncoalveolar, aspirado traqueal.**

### Tab. 1

*Tipos de muestra, su respectivo método de obtención y altura de la vía área correspondiente.*

Tipo de muestra	Método	Vía área
Secreción nasofaríngea	Aspirado Nasofaríngeo	Alta
	Tórula Nasofaríngea	
Secreción oro faríngea	Tórula Orofaríngea	Alta
Secreción traqueal	Aspirado traqueal	Baja
Secreción broncoalveolar	Lavado Broncoalveolar	Baja

Para Inmunofluorescencia se debe tomar muestra de secreción nasofaríngea a través de aspirado nasofaríngeo o tórula nasofaríngea con el fin de obtener un alto número de células que permitan realizar la técnica de IF.

Para PCR, el tipo de muestra y, por ende, el método de obtención depende de la localización del paciente, esto es, ambulatorio u hospitalizado. Cuando el paciente es ambulatorio, se debe tomar muestra de secreción nasofaríngea y si esto no es posible por las dificultades anatómicas del paciente, se puede optar por tomar muestra orofaríngea. Si el paciente está hospitalizado y no se puede tomar la muestra de secreción nasofaríngea, la alternativa es obtener secreción traqueal o secreción broncoalveolar mediante aspirado traqueal o lavado broncoalveolar, respectivamente.

## **TOMA DE LA MUESTRA PARA VIRUS RESPIRATORIOS**

El personal que realice el procedimiento de la toma de muestra debe estar debidamente capacitado, conocer la técnica de toma de muestra, el fundamento de porqué se realiza y el uso correcto de elementos de protección personal.

La muestra debe ser obtenida precozmente, en los primeros días de evolución del cuadro respiratorio, con un máximo de 3 a 5 días. Debe mantenerse en baño de hielo o con unidades refrigerantes durante todo el proceso de recolección y manejo de la muestra, hasta su llegada al laboratorio. La muestra debe ser enviada debidamente rotulada con los datos del paciente en el formulario de solicitud de examen.

### **Toma de Muestra por Aspirado Nasofaríngeo (ANF)**

Elementos de protección personal (EPP):

- Pechera o delantal desechable (anti fluidos).
- Respirador N95.
- Protector facial o antiparras (los lentes ópticos no reemplazan estos insumos).
- Guantes de procedimientos que puede ser de látex, vinilo o nitrilo (sin talco).

Materiales:

- Kit de aspiración traqueal estéril (tapa rosca, etiqueta, tubo con tapa y conectores).
- Sonda de alimentación de prematuros N° 8.
- Tubos cónicos de 15 ml con tapa rosca.
- Gradilla para tubos.
- Baño de hielo (recipiente con cubos de hielo o con unidades refrigerantes).
- Contenedor para material contaminado.
- Solución tampón fosfato pH 7,2 (STF) estéril, en tubos con 8-10 ml cada uno mantenidos en frío o tubos comerciales.

Equipos:

- Bomba de vacío o jeringa de 5 a 10 ml.



**Fig. 1**

*Materiales necesarios para la obtención de muestra por aspirado. En la imagen una jeringa cumple la función de bomba de vacío.*

### **Procedimiento Aspirado Nasofaríngeo**

1. Abrir el sobre que contiene el Kit de aspiración traqueal y el sobre que contiene la sonda.
2. El tubo sellado del kit de aspiración tiene 2 salidas, una de diámetro mayor y otra de diámetro menor.
3. Conectar la salida de diámetro menor del tubo a la sonda estéril.
4. Conectar la salida del diámetro mayor del tubo a una bomba de vacío o jeringa.
5. Medir la cantidad de sonda que se va introducir en la fosa nasal. Este cálculo se realiza midiendo desde la aleta de la fosa nasal hasta el lóbulo de la oreja.
6. Sin aplicar succión, insertar la sonda por la fosa nasal del paciente hasta el punto calculado anteriormente que debe coincidir con la nasofaringe del paciente.
7. Aspirar suavemente, dejando la sonda en su sitio por unos segundos, y luego retirarla lentamente girando suavemente. Repetir el procedimiento en la otra fosa nasal, desde el punto 6 al 7.
8. Lavar el interior de la sonda aspirando un volumen aproximado de 8-10 ml de solución tampón pH 7,2 frío a través del tubo colector para arrastrar toda la secreción.
9. Cambiar la tapa del tubo colector e identificar el tubo con los datos del paciente.
10. Eliminar el material usado en el contenedor de material contaminado.
11. Enviar la muestra al laboratorio inmediatamente, con el formulario de solicitud de examen.

*La muestra debe mantenerse en todo momento en baño de hielo o con unidades refrigerantes hasta su llegada al laboratorio.*



**Fig. 2**

*Medición de la sonda de aspiración, desde la punta de la nariz hasta el lóbulo de la oreja.*



**Fig. 3**

*Procedimiento para la obtención de aspirado nasofaríngeo. La sonda debe llegar hasta la pared posterior.*

### **Toma de Muestra por Tórula Nasofaríngeo (TNF)**

Para una buena toma de muestra con TNF se deben utilizar tres tórulas, una para cada fosa nasal, que se deben introducir hasta la pared posterior de la rinofaringe. La tercera tórula se debe introducir por la boca hasta la faringe.

Las muestras que, según el flujo de trabajo definido por cada laboratorio, pasen a PCR, deben ser tomadas, además, teniendo la precaución de no contaminar la muestra con agentes inhibidores de esta. Más detalle sobre los inhibidores de PCR se encuentra en el documento técnico del ISP publicado el año 2017 “Recomendaciones para laboratorios que realizan la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR): áreas y flujos de trabajo”

Elementos de protección personal (EPP):

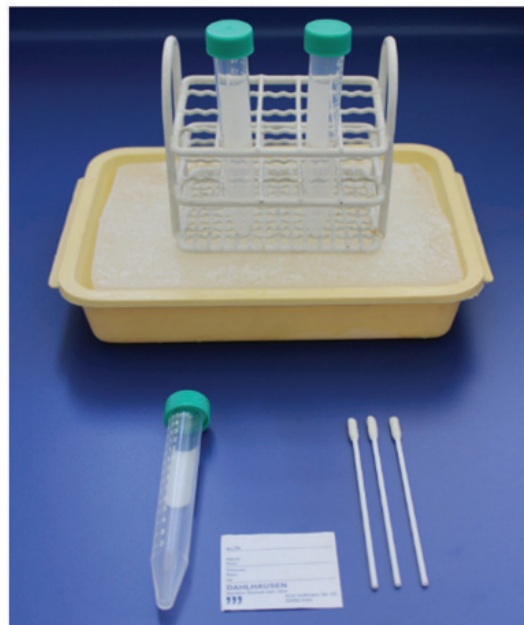
- Pechera o delantal desechable (anti fluidos).
- Respirador N95.
- Protector facial o antiparras (los lentes ópticos no reemplazan estos insumos).
- Guantes de procedimientos que puede ser de látex, vinilo o nitrilo (sin talco).

**Materiales:**

- 3 tómulas de dacrón, rayón, rayón rebobinado o poliéster para IF (2 tómulas cuando se sospecha de SARS-COV-2).
- Tubos cónicos de 15 ml con tapa rosca.
- Tubo tapa rosca con medio de transporte viral (MTV), en caso de no disponer de ello puede ser medio de transporte Universal (MTU) o tubos con 8-10 ml de STF (todos deben ser estériles) mantenidos en frío.
- Gradilla para tubos.
- Baño de hielo (recipiente con cubos de hielo o unidades refrigerantes).
- Contenedor de material contaminado.

Cuando la toma de muestra sea para la técnica de PCR, no utilizar tórula de algodón, ni mangos de madera porque pueden inhibir la PCR.

Actualmente existen marcas que comercializan kit que incluyen tórula estériles, frascos con tapa rosca y medios de transporte. Sin embargo, estos materiales se pueden adquirir por separado y los medios de transporte pueden ser de elaboración local asegurando su esterilidad.



**Fig. 4**

*Materiales necesarios para la obtención de muestra Tórula Nasofaríngea.*

### **Procedimiento para la toma de muestra por TNF**

1. Identificar un tubo con medio de transporte con los nombres, apellidos y número de Rut del paciente al que se le tomará la muestra.
2. Pedir al paciente que se siente cómodamente con la espalda apoyada en el respaldo de la silla o camilla, con la cabeza ligeramente inclinada hacia atrás (en un ángulo de 70°). Inmovilizar en esa posición.
3. Introducir la tórula por el piso de fosa nasal hasta tocar la pared posterior de la faringe.



4. Hacer girar suavemente la tórula en esa posición, para obtener la mayor cantidad posible de células epiteliales.
5. Colocar la tórula en el tubo, sumergiéndola en el STF o medio de transporte viral.
6. Corte lo que sobra del mango de la tórula para poder cerrar herméticamente el tubo de transporte.
7. Repetir la operación de los puntos 1 al 3 con la segunda tórula en la otra fosa nasal.
8. Introducir la tercera tórula por la boca, cuidando de no tocar la lengua, introducir hasta tocar la pared posterior de la faringe y frotar en esa posición. (Obviar este paso si la sospecha diagnóstica es SARS-COV-2)
9. Todas las tórulas se sumergen en el mismo tubo con STF con el objeto de concentrar la mayor cantidad de muestra obtenida.
10. Tapar tubo que contiene las tórulas.
11. Eliminar el material usado en el contenedor para material contaminado.
12. Enviar la muestra al laboratorio inmediatamente, con el formulario de solicitud de examen.
13. La muestra debe mantenerse en todo momento en baño de hielo o con unidades refrigerantes hasta su llegada al laboratorio.

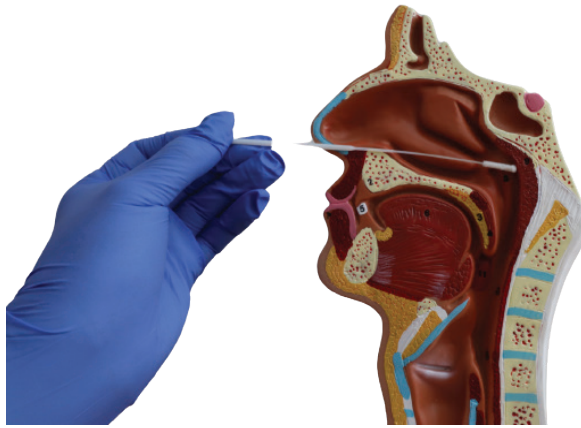
Mantener la muestra en cadena de frío es importante para mantener la estabilidad de ésta y asegurar un resultado de calidad.

Evitar la toma de este tipo de muestra en pacientes que presenten hemorragias nasales frecuentes y abundantes.



**Fig. 4**

*Toma de muestra por Tórula Nasofaríngea. Obsérvese el ángulo de 70° en que debe estar la cabeza del paciente.*



**Fig. 5**

*Toma de muestra con detalle anatómico del área a la que debe llegar la tórula. Esta debe ir paralela a la base de la fosa nasal hasta llegar a la pared de la faringe.*

### **Procedimiento para la toma de muestra con Tórula Orofaringea**

El torulado Orofaringeo se considerará como una muestra alternativa al Torulado Nasofaringeo, cuando esta no es posible de obtener por problemas anatómicos del paciente.

1. Inserte la tórula en la faringe posterior y las áreas amigdalinas.
2. Frote la tórula sobre ambos pilares amigdalinos y la orofaringe posterior.
3. Evite tocar la lengua, los dientes y las encías, para ello puede ayudarse de un baja lengua.
4. Coloque la tórula, con la punta primero, en el tubo de transporte.
5. Corte lo que sobra del mango de la tórula para poder cerrar herméticamente el tubo de transporte.
6. Cierre el tubo que contiene la tórula.

### **Toma de muestra de Lavado Broncoalveolar y Aspirado Traqueal**

La prioridad para la toma de muestra es el Torulado Nasofaringeo y el Aspirado Nasofaringeo. El equipo médico debe analizar si se requiere otro tipo de muestras como Lavado Broncoalveolar o Aspirado Traqueal, las que deben ser obtenidas siguiendo todas las normas de bioseguridad requeridas para ambos procedimientos.

Para ambos procedimientos los guantes a utilizar deben ser estériles.

### **Toma de muestra de Lavado Broncoalveolar**

Elementos de Protección Personal (EPP)

- Pechera o delantal desechable (anti fluidos).
- Respirador N95.
- Protector facial o antiparras (los lentes ópticos no reemplazan estos insumos).
- Guantes de procedimientos que puede ser de látex, vinilo o nitrilo (sin talco).

**Materiales:**

- Broncoscopio (estéril)
- STF o SF (estériles).
- Jeringa estéril.
- Frasco tapa rosca que asegure un cierre hermético (tanto el medio como el contenedor deben estar estériles).
- Baño de hielo (recipiente con cubos de hielo o unidades refrigerantes).

**Procedimiento para la toma de muestra de Lavado Broncoalveolar**

1. Colocar al paciente en decúbito supino.
2. Instalar broncoscopio al lado del paciente.
3. Introducir el broncoscopio a través de la boca o nariz.
4. Instalar en bolos de 5-10 ml de STF o SF hasta el volumen total deseado a través del canal interno del broncoscopio, tras encajarlo en el bronquio elegido.
5. Aspirar las secreciones con la misma jeringa con la presión adecuada para no colapsar las paredes bronquiales.
6. Tapar el tubo colector e identificar el tubo con los datos del paciente
7. Apagar el broncoscopio.
8. Lavarse las manos.

**Toma de muestra de Aspirado Traqueal**

Elementos de Protección Personal (EPP)

- Pechera o delantal desechable (anti fluidos).
- Respirador N95.
- Protector facial o antiparras (los lentes ópticos no reemplazan estos insumos).
- Guantes de procedimientos que puede ser de látex, vinilo o nitrilo (sin talco).

**Materiales:**

- Sonda de aspiración.
- Bomba de vacío o jeringa en su reemplazo.
- STF o SF (estériles).
- Jeringa estéril.
- Frasco tapa rosca que asegure un cierre hermético (tanto el medio como el contenedor deben estar estériles).
- Baño de hielo (recipiente con cubos de hielo o unidades refrigerantes).

## Procedimiento para la toma de muestra de Aspirado Traqueal

1. Conectar la sonda de aspiración al tubo del aspirador manteniendo la envoltura protectora de la sonda.
2. Conectar el aspirador.
3. Con una mano sujetar el tubo del aspirador y retirar la envoltura protectora de la sonda.
4. Instalar de 3-5 ml de STF o SF en la cánula si las secreciones son espesas.
5. Introducir la sonda de aspiración a través del tubo endotraqueal sin ejercer aspiración.
6. Aspirar de forma intermitente, realizando movimientos rotatorios de la sonda a la vez que se extrae.
7. Enjuagar la sonda y el tubo del aspirador en la botella de SF tras finalizar el aspirado.
8. Tapar el tubo colector e identificar el tubo con los datos del paciente.
9. Desechar sonda y guantes y recoger el equipo.
10. Apagar el aspirador.
11. Lavarse las manos.

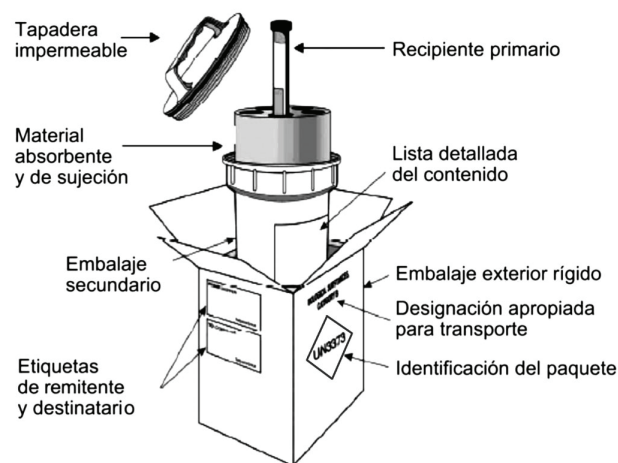
## Almacenamiento y transporte de muestra

Las muestras deben mantenerse, desde el momento de su obtención hasta el análisis, en una cadena de frío a 4°C.

El procesamiento de la muestra debe realizarse antes de las 72 horas luego de haber sido tomada, en caso que esto no sea posible se debe congelar a -70° C.

Si requiere enviar la muestra congelada (-70° C) a algún centro de derivación o al ISP, entre el contenedor secundario (por fuera de este) y el contenedor terciario o embalaje exterior debe poner abundante hielo seco que asegure la cadena de congelación de la muestra.

Para el transporte, el tubo que contiene la muestra debe ser puesto en una bolsa de cierre hermético y luego en un recipiente rígido. Si será enviado al ISP debe venir además en un tercer contenedor para cumplir con el sistema de triple embalaje y que sea identificado visualmente como “Riesgo Biológico” y rotulado como “transporte de material infeccioso categoría UN3373”, de acuerdo a la guía técnica de transporte de sustancias infecciosas al ISP.



**Fig.6**

*Requisitos de Embalaje para Sustancia Infecciosa Categoría (Fuente: Curso para Expedidores. Embalaje/Envasado de Sustancias Infecciosas. Organización Mundial de la Salud. 2017-2018).*

## REFERENCIAS

1. Instituto de Salud Pública. Recomendaciones para la toma de muestras respiratorias para la técnica de Inmunofluorescencia para detección de virus respiratorios. Versión 1. 14 enero 2013.
2. Hand Hygiene Technical Reference Manual. World Health Organization 2009.
3. Organización Mundial de la Salud. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza, Ediciones OMS, 2011.
4. Paulina J., Joanna C., Elzbieta R., Dariusz G. The effectiveness of common respiratory viruses detection by indirect immunofluorescence test in samples from upper respiratory tract. Central European Journal of Immunology 2011; 36(1)
5. K. Loens, L. Van Heirstraeten, S. Malhotra-Kumar, H. Goossens and M. Leven. Optimal Sampling Sites and Methods for Detection of Pathogens Possibly Causing Community- Acquired Lower Respiratory Tract Infections Journal of Clinical Microbiology, 2008, 47 (1):21-31.
6. Rita Y. T. Sung, Paul K. S. Chan, Kai C. Choi, Apple C. M. Yeung. Comparative Study of Nasopharyngeal Aspirate and Nasal Swab Specimens for Diagnosis of Acute Viral Respiratory Infection. Journal of Clinical Microbiology, 2008, 46(9): 3073-3076
7. Irving, S., Vandermause, M., Shay, D., y Belongia, E. Comparison of Nasal and Nasopharyngeal Swabs for Influenza Detection in Adults. Clinical Medicine Research. 2012 ;10(4):215-218.
8. Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19. 08 julio de 2020.
9. Sociedad Chilena de medicina intensiva. GUÍA PARA LA TOMA DE MUESTRAS RESPIRATORIAS DE VÍA AÉREA ALTA.
10. Subsecretaria de Redes Asistenciales, Ministerio de Salud. Circular C37 N°01. Protocolo de Referencia para correcto uso de equipo de protección personal en pacientes sospechosos o confirmados de COVID-19. 18 Marzo 2020.
11. Centro para el control y prevención de enfermedades. Use equipo de protección personal (EPP) cuando atienda a pacientes con COVID-19 confirmado o presunto. Ficha técnica, disponible en [https://www.cdc.gov/coronavirus/2019ncov/downloads/A\\_FS\\_HCP\\_COVID19\\_PPE\\_ESP.pdf](https://www.cdc.gov/coronavirus/2019ncov/downloads/A_FS_HCP_COVID19_PPE_ESP.pdf).
12. Organización Mundial de la Salud. Infection prevention and control of epidemic- and pandemic-prone acute respiratory infections in health care. 2014.
13. Organización Panamericana de la Salud. Pasos para ponerse el equipo de protección personal (EPP), incluida la bata. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/Equipo-de-proteccion-personal-2015-1-A3-ESP.pdf>
14. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 20191 (2019-nCoV). 28 Enero 2022.
15. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html#handling-specimens-safely>, visitado el día 05/01/2023.
16. Instituto de Salud Pública. Guía técnica para el transporte de sustancias infecciosas hacia el Instituto de Salud Pública.. Marzo 2021.
17. Instituto de Salud Pública. Documento técnico para el Laboratorio Clínico: Recomendaciones para laboratorios que realizan la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (pcr): áreas y flujos de trabajo.. Enero 2017.

## ANEXO

### PREPARACIÓN 1

#### PREPARACIÓN SOLUCIÓN TAMPÓN FOSFATO (STF). 20 X, pH 7, 2

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Fosfato Disódico Anhidro)	2,192 g	10,960 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O (Fosfato de Bihidrógeno Sódico)	0,630 g	3,150 g
NaCl (Cloruro de Sodio)	17,0g	85,0 g
H <sub>2</sub> O dd c.s.p	100 mL	500 mL

Procedimiento:

1. Colocar aproximadamente la mitad del volumen total que se va a preparar de agua dd, en un vaso de precipitado, con agitador magnético.
2. Pesar y agregar las sales en el orden indicado agitando hasta disolución total, agregando más agua si es necesario.
3. Controlar pH-metro.
4. Enrasar en matraz aforado al volumen deseado.
5. Envasar en porciones de 25 mL.
6. Esterilizar en autoclave a 121°C 10 lb x 15 min.
7. Almacenar a 4°C.
8. Antes de utilizarlo agitar a mano el reactivo y corroborar que no haya turbidez. Si existe turbidez eliminar.

### PREPARACIÓN 2

#### PREPARACIÓN SOLUCIÓN TAMPÓN FOSFATO 1X, pH 7,2

Procedimiento:

1. En un matraz de 500 mL, enrasar una porción de 25 mL de STF 20X, con agua bidestilada estéril.
2. Controlar pH: si este es inferior a 7,25, ajustar con NaOH 1 N; si es superior a 7,25, ajustar con HCl 1 N.

Nota: no se excluye la compra de soluciones comerciales.