

DOCUMENTOS TÉCNICOS PARA EL LABORATORIO CLÍNICO

RECOMENDACIONES PARA EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO ETIOLÓGICO DE MENINGITIS BACTERIANAS

AUTORES:

TM. Pedro Alarcón López.

Sección Bacteriología.

Subdepartamento de Enfermedades Infecciosas.

Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

Instituto de Salud Pública de Chile.

Blgo. Daniel Ibáñez Cabrera.

Sección Bacteriología.

Subdepartamento de Enfermedades Infecciosas.

Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

Instituto de Salud Pública de Chile.

REVISORES INTERNOS:

Dr. Juan Carlos Hormazábal Opazo.

Subdepartamento de Enfermedades Infecciosas.

Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

Instituto de Salud Pública de Chile.

Bq. Pamela Araya Rodríguez.

Sección Bacteriología.

Subdepartamento de Enfermedades Infecciosas.

Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

Instituto de Salud Pública de Chile.

Dra. Verónica Ramírez Muñoz.

Subdepartamento Coordinación Externa.

Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

Instituto de Salud Pública de Chile.

REVISOR EXTERNO:

Dra. Dona Benadof Fuentes.

Jefe Laboratorio Clínico y Microbiología Hospital Roberto del Río.

Servicio de Salud Metropolitano Norte.

RECOMENDACIONES PARA EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO ETIOLÓGICO DE MENINGITIS BACTERIANAS

INTRODUCCIÓN:

La meningitis es una enfermedad caracterizada por la inflamación de las membranas protectoras que envuelven el cerebro (meninges) y la médula espinal, sitios anatómicos circundados por el espacio subaracnoideo, por donde circula el líquido cefalorraquídeo (LCR). La meningitis aguda está definida como un síndrome que se presenta con fiebre de inicio súbito, cefalea, rigidez de nuca, náuseas, vómitos y síntomas de disfunción cerebral desde confusión, delirio hasta el coma (1). Esta enfermedad siempre requiere un tratamiento rápido, por la velocidad de su evolución y la posibilidad de secuelas o de muerte.

Las causas son múltiples y entre las infecciosas se incluyen bacterias, virus, hongos y parásitos. También hay causas no infecciosas como cáncer, diabetes, traumatismos o reacción adversa a medicamentos, entre otras (1).

El LCR baña el encéfalo y a la médula espinal y sirve de amortiguador mecánico que protege de traumatismos, regula el volumen de los contenidos intracraneales, es un medio nutriente del sistema nervioso central. Circula por el espacio subaracnoideo, los ventrículos cerebrales y el canal ependimario; dicho líquido, en condiciones normales, es incoloro y transparente como agua de roca, donde los electrolitos que contiene como el sodio, magnesio y cloruro, están más concentrados que en el plasma, mientras que el bicarbonato, glucosa y urea están menos concentrados. Por otra parte, las proteínas solo pasan al LCR en cantidades muy pequeñas. Las infecciones meníngeas alteran la barrera hematoencefálica cambiando la composición del LCR, observándose líquidos turbios, con glucosa baja, proteínas altas y aumento de células sanguíneas como leucocitos, lo que puede ocurrir en infecciones virales, bacterianas, micóticas y parasitarias, entre otras patologías (1).

Los principales agentes productores de meningitis bacterianas son *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* y *Streptococcus agalactiae* (1).

Algunos agentes bacterianos tienen más probabilidades de afectar a ciertos grupos de edad (1,2,3):

- Recién nacidos: *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *E. coli*.
- Lactantes, preescolares y escolares: *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *S. agalactiae*, *M. tuberculosis*.
- Adolescentes y adultos jóvenes: *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*.
- Adultos mayores: *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *S. agalactiae*, *L. monocytogenes*.

OBJETIVO:

El objetivo de este documento es contribuir a unificar criterios en el estudio microbiológico en muestras de LCR frente a casos sospechosos de meningitis bacterianas entre los profesionales de laboratorio clínico.

ALCANCE:

Estas recomendaciones aplican a los laboratorios clínicos del país para el diagnóstico de meningitis bacteriana y que complementa las siguientes circulares ministeriales: circular B51 N°/ 50 del 05 de diciembre de 2011 n°11 del 28 mayo 2012 que establece el sistema de "Vigilancia Epidemiológica de Meningitis Bacterianas" y la circular B51 N°8 del 17 de agosto de 2017 "Vigilancia Epidemiología y Medidas de Control de Enfermedad meningocócica".

DESARROLLO:

Método de recolección y transporte del LCR

- El LCR debe ser obtenido mediante punción lumbar realizada por un profesional médico entrenado mediante una técnica aséptica (4).
- Se recomienda tomar la muestra en tubos estériles cónicos con tapa rosca para evitar el trasvasije.
- Recolectar 2 a 3 ml de LCR en al menos cuatro tubos o frascos estériles:
 - El primer tubo es para exámenes bioquímicos y serológicos.
 - El segundo tubo se utiliza para el estudio microbiológico, debido a que si utilizamos el primer tubo, este tendría mayor potencial de contaminación con la flora de la piel (4).
 - Guardar el tercer tubo en las condiciones descritas más adelante para eventuales estudios posteriores como la reacción en cadena de polimerasa (PCR).
 - El cuarto tubo se destina para estudio citológico.
- Los frascos de hemocultivo pediátricos se pueden utilizar para incubar volúmenes de líquidos estériles, siguiendo las recomendaciones de los fabricantes; en este caso debe venir un tubo con muestra aparte para realizar tinción de Gram (4).
- Realizar el transporte al laboratorio con muestra con la mayor brevedad posible. Se recomienda dentro de 15 minutos y a temperatura ambiente, ya que la mayoría de los microorganismos causantes de meningitis son muy sensibles a los cambios de temperatura (4).

Diagnóstico de Laboratorio:

Se recomienda realizar como mínimo las siguientes pruebas de laboratorio en muestras de LCR de casos sospechosos de meningitis: tinción de Gram, cultivo corriente, estudio citoquímico y pruebas de Látex.

El LCR de un paciente sospechoso de meningitis es una muestra urgente que debe ser procesada de inmediato para determinar el agente etiológico.

Preparación de la muestra:

- Observar y registrar características macroscópicas como aspecto (transparente o turbio), volumen y color.
- Si el volumen es mayor a 1 ml, concentrar el LCR por centrifugación a 3000 rpm o 1000 x g por 15 minutos. Volúmenes inferiores o iguales a 1 ml no se centrifugan, sólo se mezcla en vórtex y se siembra directamente en agar chocolate, en agar sangre soya tripticasa y en caldo tioglicolato (4).
- Observar el color del sobrenadante una vez centrifugado (amarillo, naranja, rosado, verde y marrón), puede estar asociado a distintas causas (5).
- Remover el sobrenadante ayudado de una pipeta Pasteur, el cual se utiliza para detección de antígenos capsulares bacterianos si es requerido.
- Una vez retirado el sobrenadante, mezclar y aspirar el sedimento para extraer una o dos gotas para preparar la tinción de Gram y una gota para sembrar en los medios de cultivo primarios: agar sangre soya tripticasa, agar chocolate y caldo tioglicolato.
- Si se requiere realizar resiembras de la muestra en los medios de cultivo anteriormente señalados para estudio microbiológico se recomienda mantener la muestra en estufa de CO₂ o atmosfera normal a una temperatura de 35°C +/- 2°C, nunca se debe guardar en refrigerador debido a que el frío inhibe el crecimiento bacteriano.

1.- Examen de tinción de Gram para LCR

La tinción de Gram del LCR continúa siendo una prueba importante en el diagnóstico rápido de la meningitis bacteriana, esta tinción se realiza previa al cultivo y debe ser observada por un profesional capacitado siempre dando prioridad frente a otras tinciones de Gram.

La tinción de Gram del LCR muestra la presencia de bacterias en el 60-90% de los pacientes con meningitis bacteriana aguda, aunque su sensibilidad varía en función de la concentración de microorganismos en el LCR y la etiología bacteriana concreta (1,5).

Si se observan bacterias al Gram, esto debe ser comunicado de inmediato al médico tratante por vía telefónica en un primer momento y luego por escrito, como aviso de valor crítico, con el propósito de orientar el esquema terapéutico (2,4).

Procedimiento:

Las láminas portaobjeto para utilizar deben ser idealmente nuevas o muy limpias. Se debe observar cada lámina con objetivo de inmersión (100x) durante 10 minutos, recorriendo todos los campos de la tinción, antes de darla por negativa.

Los elementos a observar son:

- Presencia de bacterias, ya sea su morfología, agrupación (cadenas, racimo, empalizada) afinidad tintorial y localización intra o extracelular, cuantificar como: escaso, regular o abundante.
- Presencia de leucocitos, reconocer mononucleares o polimorfonucleares y cuantificar como: escaso, regular o abundante.
- Presencia de eritrocitos, los cuales, también podemos cuantificarlos como: escaso, regular o abundante.

Interpretación:

En los casos de meningitis bacterianas, en la tinción de Gram se pueden identificar diferentes morfologías y afinidades tintoriales, las cuales, otorgan información sugerente sobre el agente etiológico.

- cocobacilos gramnegativos (*H. influenzae*).
- diplococos gramnegativos intra o extracelulares (*meningococos*).
- diplococos grampositivos lanceolados o en cadenas (*neumococos*).
- bacilos grampositivos finos y cortos (*Listeria monocytogenes*).
- cocáceas grampositivas dispuestas en diplo o en pequeñas cadenas (otros *Streptococcus alfa y beta hemolíticos* distintos de neumococo, *S. agalactiae*, *S. suis*, etc.)

Posteriormente, se dará el diagnóstico de confirmación en base al cultivo bacteriano y la identificación bioquímica.

2.- Cultivo de Líquido Ceforraquídeo (LCR)

El cultivo sigue siendo el “Gold standard” para el diagnóstico, siendo positivo hasta en el 70-85% de los casos. Mediante el cultivo es posible realizar el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana al agente bacteriano causante de la meningitis (3).

Procedimiento:

- Sembrar 1 gota del sedimento en cada uno de los siguientes medios primarios: agar sangre soya tripticasa al 5%, agar chocolate suplementado y se recomienda también adicionar una placa de agar Thayer Martin para el aislamiento selectivo de *N. meningitidis*.
- Inocular caldo de enriquecimiento (caldo tioglicolato) con remanente de LCR utilizando pipeta Pasteur estéril.
- Incubar las placas ya sembradas en atmósfera con CO₂ al 5-10% a 35°C +/- 2°C, colocando un recipiente con agua en el fondo de la estufa para otorgar un ambiente húmedo y así estimular el crecimiento de *N. meningitidis* (6).
- El caldo de cultivo se incuba en atmósfera aerobia a la misma temperatura.
- Si se utiliza vela para crear la atmósfera de CO₂, debe ser incolora ya que los colorantes inhiben el desarrollo bacteriano.
- Observar diariamente las placas y el caldo de cultivo; si el cultivo está negativo, se vuelve a incubar hasta las 72 horas de incubación, donde se informa finalmente como cultivo negativo. El caldo de cultivo debería estar claro sin turbidez para ser considerado como negativo.
- En caso de desarrollo bacteriano proceder a la identificación de acuerdo con metodología estándar.
- Si hay evidencia de desarrollo en el caldo de enriquecimiento (turbidez), se realiza Gram del caldo y se reaisla en agar sangre y agar chocolate (atmósfera enriquecida en CO₂ a 35°C).

Interpretación:

El LCR es un líquido estéril, por lo tanto, cualquier desarrollo bacteriano debe ser considerado como significativo. En el caso de desarrollo de bacterias que habitualmente son contaminantes, se debe informar al médico solicitante, según procedimiento de cada laboratorio; sobre estos hallazgos en el contexto clínico y epidemiológico del paciente, antes de informar como negativo (2).

Frente a discordancias entre un Gram alterado y cultivo negativo, se recomienda volver a sembrar la muestra guardada en estufa según señalado anteriormente; tener presente que, frente a tratamientos anti-bióticos luego de la colección de la muestra, los cultivos pueden resultar negativos.

Características de Cultivos positivos (7):

Streptococcus pneumoniae: el mejor medio para su desarrollo es el agar soya tripticasa con sangre al 5%, observándose colonias grises pequeñas alfa hemolíticas con una leve depresión central, además puede presentar colonias grises verdosas de forma circular con superficie convexa, bordes redondeados, aspecto brillante y mucoide; neumococo también crece en agar chocolate.

Neisseria meningitidis: se observarán colonias grises y sin pigmentación, en agar sangre pueden ser redondas, suaves, húmedas, brillantes y convexas, con un borde claramente definido; crecen tanto en agar sangre soya tripticasa como en agar chocolate, evidenciando, además, crecimiento en agar Thayer Martin.

Haemophilus influenzae: por ser una bacteria fastidiosa desde el punto de vista nutricional, se observa crecimiento solo en el agar chocolate, requiere de factores de crecimiento factor X (hemina) y factor V (nicotinamida-adenina-dinucleótido) para su desarrollo; pueden ser colonias opacas, grandes, redondas, incoloras a grises y otras de aspecto mucoide característico de cepas que son serotipables por ser capsuladas.

Streptococcus agalactiae: su mejor desarrollo se observa en el agar soya tripticasa con sangre al 5%, son colonias blancas beta hemolíticas de forma circular, bordes redondeados y superficie convexa.

Listeria monocytogenes: es una bacteria poco exigente, por lo tanto, crece muy bien en agar sangre y chocolate presentando colonias blancas de forma circular y bordes redondeados con una leve beta hemolisis alrededor de la colonia.

Perfil de pruebas bioquímicas esenciales para una correcta identificación de los principales agentes productores de Meningitis Bacterianas

Streptococcus agalactiae:

Prueba	Resultado
Test de CAMP	Positivo
Hidrólisis de Hipurato	Positivo
Aglutinación Látex Grupo B	Positivo

Streptococcus pneumoniae:

Prueba	Resultado
Susceptibilidad optoquina	Halo >14 mm
Solubilidad en bilis	Positivo

Haemophilus influenzae:

Prueba	Resultado
Catalasa	Positivo
Oxidasa	Positivo
Requiere Factor X	Positivo
Requiere Factor V	Positivo
Requiere CO ₂	Positivo
Hemolisis	Negativo

Listeria monocytogenes:

Prueba	Resultado
Catalasa	Positivo
Glucosa	Positivo
Manosa	Positivo
Ramnosa	Positivo
Xilosa	Negativo
Manitol	Negativo
Ribosa	Negativo
Urea	Negativo
Movilidad	Positivo
Nitrato	Negativo
Esculina	Positivo
Hipurato de sodio	Positivo
Lipasa	Positivo

Neisseria meningitidis:

Prueba	Resultado
Catalasa	Positivo
Oxidasa	Positivo
Glucosa	Positivo
Maltosa	Positivo
Lactosa	Negativo
Sacarosa	Negativo
Fructosa	Negativo

3.- Recomendaciones para el uso de test de detección rápida de antígenos

La prueba de látex rápida se usa principalmente para la detección cualitativa del antígeno de *Neisseria meningitidis* grupos A, B, C, Y y W, *Escherichia coli* K1, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* serotipo b y *Streptococcus agalactiae*. El alcance de bacterias de cada kit dependerá del fabricante. El reactivo consiste en partículas de látex de poliestireno que se han recubierto con anticuerpos monoclonales específicos para cada antígeno, las cuales se aglutinan si hay suficiente antígeno homólogo presente en la muestra.

Recomendaciones generales sobre aglutinación de látex para LCR:

- Centrifugar el LCR durante 10-15 minutos a 3000 rpm y recoger el sobrenadante.
- El sedimento debe utilizarse para tinción de Gram y cultivo primario según lo mencionado anteriormente.
- Calentar el sobrenadante de LCR que se utilizará para la prueba a 100 °C durante 3 minutos.
- Retirar del refrigerador (4°C) los reactivos del kit, agitar suavemente cada reactivo de látex hasta que estén homogéneos y a temperatura ambiente.
- Coloque una gota de cada reactivo de látex en una tarjeta desechable provista en el kit o en un portaobjetos de vidrio anillado.
- Añadir 30-50 µl del sobrenadante del LCR a cada reactivo de látex.
- Agite la tarjeta desechable con movimientos ondulatorios durante 2-10 minutos. Si está disponible, se recomienda la rotación mecánica a 100 rpm.
- Evite la contaminación cruzada al mezclar y dispensar reactivos.
- Examine las reacciones de aglutinación bajo una luz brillante sin aumento.
- Considerar siempre las recomendaciones de cada fabricante.

Ventajas

Se realiza en pocos minutos y su simplicidad hace que esta técnica esté al alcance de cualquier laboratorio de microbiología.

Existen varios tipos y marcas de kits disponibles en el mercado.

Desventajas

Tienen menor sensibilidad respecto a los otros métodos diagnósticos como son el cultivo bacteriano y la biología molecular.

Tienen un alto costo por lo que es dudosa la relación costo-beneficio.

4.- Estudio Citoquímico y Citológico del LCR: constituyen otros componentes de análisis que incluyen características de apariencia y citoquímicas que son sugerentes de meningitis bacteriana (tabla 1):

- **Líquido de aspecto turbio:** un líquido turbio o de aspecto lechoso, puede indicar un incremento del contenido proteico o lipídico, pero también ser indicativo de infección por la presencia de leucocitos.
- **Proteínas:** > 100 mg/dl; el contenido proteico normal del LCR en adultos es de alrededor de 15 a 40 mg/dl, siendo un poco superior en niños y ancianos. Un incremento del contenido proteico del LCR es indicativo de un daño de la barrera hematoencefálica, provocada por meningitis, hemorragias y diversos desórdenes neurológicos, dentro de los más importantes, es uno de los indicadores más sensibles de patología a nivel del sistema nervioso central (3).

- **Recuento de leucocitos:** > 100 células/mm³; el aumento de neutrófilos a nivel de LCR se relaciona principalmente con meningitis bacterianas, casos tempranos de meningitis viral, tuberculosa, micótica y también casos de hemorragia cerebral.
- **Glucosa:** < 40mg/dl; el contenido de glucosa en el LCR es aproximadamente un 60 a 70% del contenido plasmático, alrededor de 65 mg/dl. Niveles bajos de glucosa en el LCR pueden ser de considerable valor diagnóstico en la determinación del agente causal en meningitis. Los bajos niveles de glucosa en LCR, acompañado de un incremento en el recuento de leucocitos y un alto porcentaje de neutrófilos, son indicativos de meningitis bacteriana (8).

Citoquímico/Citológico del LCR

PARÁMETRO	LCR NORMAL	LCR MENINGITIS BACTERIANA
Aspecto	Claro	Turbio *
Tinción de Gram	Negativa	Diplococos Gram-negativos: <i>Neisseria meningitidis</i> Diplococos Gram-positivos: <i>Streptococcus pneumoniae</i> Bacilos Gram.negativos pleomórficos: <i>H. influenzae</i>
Células	<10 cel/mm ³	>10 cel/mm ³ **
Proteínas	<100 mg/dl	>100 mg/dl
Glucosa	>40 mg/dl ***	<40 mg/d
Cultivo	Negativo	Positivo

Tabla 1

Diferencias bioquímicas y celulares entre un Líquido cefalorraquídeo normal y uno con sospecha de meningitis bacteriana.
Fuente: Manual de procedimientos de laboratorio de la Red Sireva II. 2011

5. Recomendaciones para el informe del cultivo:

Frente a cultivos positivos:

- Si los cultivos presentan crecimiento se debe correlacionar los aislados con la morfología observada en la tinción de Gram y la presencia de leucocitos polimorfonucleares que reflejan el proceso infeccioso.
- Si tenemos un cultivo bacteriano positivo a un agente patógeno meníngeo, informar en lo posible a nivel de especie y realizar las pruebas de sensibilidad a los antibióticos de acuerdo a la muestra de LCR, según las normas estandarizadas CLSI vigente.
- Enviar al médico tratante un informe preliminar con la identificación presuntiva.
- Enviar siempre la cepa aislada del LCR al ISP según Decreto 7/2019.
- Guardar la cepa bacteriana a la espera de su confirmación por el Laboratorio de Referencia.

Frente a cultivos negativos:

- Se debe enviar el LCR al ISP cuando tenemos cultivos negativos de LCR a las 24 horas con citoquímico alterado y con diagnóstico de meningitis.
- El laboratorio debe conservar siempre la muestra analizada, ya sea manteniéndola en estufa de cultivo si requiere resiembra o refrigerada si es para un posterior estudio molecular (PCR).
- Informar siempre el cultivo negativo indicando el número de horas o días de incubación, es decir, negativo a las 72 horas de incubación, además, se debe informar la tinción de Gram, indicando si hay presencia o ausencia de leucocitos y bacterias, en el caso que no hubiera correlación y existiera una tinción de Gram positiva con cultivo negativo, se debería incubar al menos 7 días más para descartar el crecimiento de algún organismo fastidioso.

6. Envío de cepas y/o muestras al ISP:

Los laboratorios locales de establecimientos públicos y privados deberán enviar al Laboratorio de Referencia Nacional, Sección Bacteriología del ISP lo siguiente:

6.1.- Cultivos bacterianos positivos: toda cepa aislada de LCR y líquidos estériles de *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae* y *L. monocytogenes*, según lo establece el Decreto 7/2019 (9).

Se deben enviar las cepas en condiciones de triple embalaje a través de las prestaciones *Neisseria meningitidis* Invasor Vigilancia código ISP 2127030, *Streptococcus pneumoniae* Invasor Vigilancia código ISP 2110026, *Haemophilus influenzae* Vigilancia código ISP 2110085, *Listeria monocytogenes* Vigilancia código ISP 2110079, *Streptococcus agalactiae* Invasor Vigilancia código ISP 2127031, adjuntando el Formulario B1 "Formulario de Envío de cepas", el cual debe ser debidamente completado con la información solicitada.

Se debe enviar solo una cepa por paciente priorizando siempre la aislada de LCR.

El medio de transporte en el cual se envíe la cepa, dependerá únicamente de la bacteria aislada, deberá ser de cultivos frescos no más de 24 horas de crecimiento y a temperatura ambiente.

<i>S. pneumoniae</i>: Medio Amies con carbón activado, también puede ser en placa de agar soya tripticasa con sangre al 5% o agar chocolate.
<i>N. meningitidis</i>: Medio Amies con carbón activado, también puede ser en placa de agar soya tripticasa con sangre al 5% o agar chocolate.
<i>H. influenzae</i>: Medio Amies con carbón activado o en una placa de agar chocolate.
<i>L. monocytogenes</i>: Medio Amies con carbón activado, medio Stuart, también puede ser en placa de agar soya tripticasa con sangre al 5%, agar chocolate o agar nutriente en tubo o placa.
<i>S. agalactiae</i> u otras bacterias del género <i>Streptococcus</i> : Medio Amies con carbón activado, también puede ser en placa de agar soya tripticasa con sangre al 5% o agar chocolate.

6.2- Muestras de Líquido Cefalorraquídeo: con cultivos negativos a las 24 horas de incubación y con un citoquímico alterado sugerente de meningitis bacteriana (6), además, cuyos casos fueron ingresados a la Vigilancia de Meningitis Bacteriana. El ISP realizará la técnica de RT-PCR para *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae* y *L. monocytogenes*.

En los casos sospechosos donde no se logra confirmar el agente etiológico por el laboratorio local (cultivos negativos), este deberá enviar una muestra de líquido cefalorraquídeo o sangre (en caso de no contar con muestra de LCR) al Instituto de Salud Pública.

En los casos que el laboratorio local obtenga una PCR positiva para alguno de los microorganismos señalados anteriormente y con cultivo negativo, debe enviar la muestra de LCR o sangre al ISP para su confirmación por motivos de vigilancia y notificación al Ministerio de Salud.

6.2.1 Condiciones de la muestra de LCR o sangre:

La muestra reservada para estudio molecular debe ser recolectada en un criotubo estéril, o bien tubo estéril de poliestireno con tapa rosca (no recolectar muestras en tubos de vidrio ya que afectan las pruebas moleculares). Se debe enviar sólo una muestra por paciente (la primera muestra tomada).

No se debe enviar muestra de sobrenadante que haya sido utilizada para estudio microbiológico.

La muestra debe ser rotulada con los datos del paciente. La muestra debe almacenarse refrigerada a 4°C por un periodo máximo de 4 días, o bien congelada a -20°C por 15 días como máximo (10). El almacenamiento debe realizarse en un refrigerador o congelador limpio y libre de cultivos positivos o cepas bacterianas, cualquiera sea su índole.

En el escenario de que las muestras de cultivo de LCR y sangre del paciente sospechoso permanezcan negativas a las 72 horas, se deberá enviar a la brevedad al laboratorio de Microbiología Molecular de la Sección Bacteriología, la muestra de LCR reservada para estudio molecular, en condiciones de triple embalaje con la prestación Meningitis bacteriana Vigilancia en cultivos negativos código ISP 2127010, adjuntando el Formulario B2 "Formulario de Envío de Muestras Clínicas", el cual debe ser debidamente completado con la información solicitada.

Esta muestra deberá enviarse en forma refrigerada (en contenedor térmico con unidades refrigerantes), en el mismo contenedor en el cual fue almacenada originalmente (criotubo). Se debe evitar al máximo la manipulación de la muestra, utilizándose en todo momento guantes nuevos y limpios. Se recomienda realizar este procedimiento en gabinete de bioseguridad. En caso de no contar con gabinete extremar medidas para evitar la contaminación de la muestra.

El sobre que contiene el Formulario y la caja que contiene la muestra deben venir rotulados del siguiente modo (11):

Destinatario	Instituto de Salud Pública de Chile Sección Bacteriología Atención: Jefe Sección Bacteriología Av. Marathon N° 1000, Ñuñoa, Santiago Fonos: 22 575 5433 – 22 575 5201	 UN 3373
Remitente	Nombre del profesional que envía la cepa. Nombre del Hospital o Clínica Dirección Ciudad Teléfono	
		Conservar de 2 a 8 °C

En el caso que se envíe una cepa, esta debe venir con el mismo rotulo, pero la conservación es a temperatura ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Tunkel A, van de Beek , Scheld W.M. Meningitis aguda. In Bennett JE, Dolin , Blaser. Mandell, Douglas, and Bennett's - Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. 8th ed.: Elsevier; 2015. p. 1142-1185.
2. Church DL. Aerobic Bacteriology. In Leber AL, editor. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 4th ed. Washington, DC: ASM Press,; 2016. p. USA.
3. Sanchíz Cárdenas, Collado Caparrós, Téllez García, Reyes Domínguez. Meningitis bacteriana aguda. Protocolos diagnósticos y terapéuticos de la Asociación Española de Pediatría. 2021; 1: p. 611-625.
4. BARON EJ. Specimen Collection, Transport, and Processing: Bacteriology. In JORGENSEN JH, PFA-LLER MA. Manual of Clinical Microbiology,; 2011. p. 270-315.
5. SEEHUSEN DA, REEVES MM, FOMIN DA. Cerebrospinal Fluid Analysis. AMERICAN FAMILY PHYSI-CIAN. 2003 septiembre 15; 68(6): p. 1103-1108.
6. Diagnóstico de laboratorio de las Meningitis Bacterianas causadas por Neisseria meningitidis. Manual de procedimientos de laboratorio de la red SIREVA II. São Paulo-Brasil: Instituto Adolfo Lutz - Organi-zación Panamericana de la Salud; 2011.
7. Procop GW. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. septima ed. Philadel-phia; 2017.
8. Gómez Lagos R, Pellegrini Pinto P, Retamales Castelletto E, Valenzuela Barros. RECOMENDACIONES PARA EL ANÁLISIS DE LÍQUIDOS BIOLÓGICO. DOCUMENTO TECNICO. SANTIAGO: INSTITUTO DE SALUD PUBLICA DE CHILE, Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.; 2016.
9. DECRETO 7:REGLAMENTO SOBRE NOTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES TRANSMISIBLES DE DE-CLARACIÓN OBLIGATORIA Y SU VIGILANCIA. Decreto. Santiago-Chile: MINISTERIO DE SALUD, SUBSECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA; 2019.
10. <https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/full-manual.pdf>. [Online].; 2011 [cited 2022 septiembre 27]. Available from: <https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/full-manual.pdf>.
11. Jiménez Salgado , Ramírez Muñoz. GUÍA TÉCNICA PARA EL TRANSPORTE DE SUSTANCIAS INFEC-CIOSAS HACIA EL INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA. GUIA TECNICA. SANTIAGO-CHILE: INSTITUTO DE SALUD PUBLICA, BIOMEDICO; 2021.