

Apéndices

*Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades-CDC,
Organización Mundial de la Salud-OMS*

Parte 8

Apéndice 11. Preservación y almacenamiento de los aislamientos

Muchas veces es necesario examinar los aislamientos en un momento posterior a la infección que generó el cultivo. Por ejemplo, a veces es necesario volver a estudiar un aislamiento con fines epidemiológicos, por ejemplo, cuando se desea saber si un caso nuevo está infectado con la misma cepa de un agente patógeno que había infectado a un individuo en una etapa anterior de la enfermedad. Otro ejemplo podría ser el caso del laboratorio que selecciona anualmente en un momento determinado un número de aislamientos para probar con agentes antimicrobianos adicionales o para estudiar la producción de beta lactamasa; esta práctica podría ayudar a detectar características emergentes en agentes patógenos conocidos. A veces es necesario enviar los aislamientos a laboratorios de referencia para confirmación u otras pruebas, antes de lo cual se deben almacenar, empacar y enviar adecuadamente (apéndice 12). La selección del método de almacenamiento depende del tiempo que deben permanecer guardados los microorganismos, el equipo y los recursos disponibles del laboratorio.

El almacenamiento a corto plazo puede conseguirse con un medio de transporte, congelación o, en algunos casos (y para algunos agentes patógenos), a temperatura ambiente en un medio simple más aceite mineral para prevenir la desecación. Los métodos para almacenar apropiadamente en el corto plazo las diferentes bacterias incluidas en este manual se explican más adelante en este apéndice.

La mejor manera de almacenar aislamientos bacterianos a largo plazo es por liofilización o por congelación. Los métodos específicos apropiados para las bacterias tratadas en este manual se incluyen más adelante en este apéndice. La liofilización (secado por congelación) es el método más conveniente de almacenamiento, debido a que las bacterias liofilizadas pueden almacenarse por largos períodos a 4°C o -20°C y transportarse sin refrigeración.⁴¹ Sin embargo, el equipo requerido es caro y no todos los laboratorios tendrán la posibilidad de liofilizar los aislamientos. (Los laboratorios de referencia que elijan liofilizar las bacterias, siempre deben mantener una preparación congelada, además de cantidades más grandes de cepas liofilizadas, porque es posible que algunas preparaciones liofilizadas no sean viables cuando sean reconstituidas). Los cultivos bacterianos se pueden almacenar congelados o liofilizados en diversos medios de suspensión formulados para ese propósito. Hay muchas fórmulas para medios de suspensión, pero en general se utilizan para liofilización los medios con base de suero, leche descremada o medio de polivinilpirrolidona (PVP), y para congelación, la leche descremada, sangre o un caldo rico en tampón (*buffer*) de triptona soya (BTS) con 15%–20% de glicerol grado reactivo. Por seguridad no debe utilizarse sangre humana (transmisión de

⁴¹ Los cultivos para transportar se deben empacar de acuerdo con las regulaciones para el embarque de la IATA que se presentan en el apéndice 12. No se puede enviar más de 50 mL de cultivo en cada paquete.

VIH y hepatitis); otra razón es la posibilidad de inhibición del crecimiento de los aislamientos por anticuerpos o por residuos de antibióticos.

Debe confirmarse que los cultivos que se prepararán para almacenamiento permanente o de corto plazo son puros antes de proceder con cualquiera de estos métodos. Se debe utilizar cultivos frescos (de crecimiento durante toda la noche) para la preparación de las cepas que se van a almacenar.

Almacenamiento de aislamientos de *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae*

Los tres agentes infecciosos causantes de neumonía y meningitis incluidos en este manual de laboratorio (*H. influenzae*, *N. meningitidis* y *S. pneumoniae*) son frágiles y debe tenerse cuidado en la preparación de su almacenamiento; es necesario mantener la esterilidad durante todo el tiempo que dura el proceso.

Almacenamiento de cepas de *H. influenzae*, *N. meningitidis* y *S. pneumoniae* por períodos cortos

El medio de huevo de Dorset (HD), si está disponible en el laboratorio, es útil para el almacenamiento a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*. En HD, *H. influenzae* y *N. meningitidis* pueden ser almacenados por aproximadamente tres semanas, mientras que *S. pneumoniae* por aproximadamente seis semanas en medio de HD. (En el apéndice 2 se incluyen las instrucciones para la preparación del medio HD). Use crecimiento de toda la noche en agar sangre o agar chocolate para inocular una cuña de 4 mL de medio de HD en un tubo de 7 mL de tapa de rosca.

Si el laboratorio no prepara rápidamente el medio de HD, el almacenamiento a corto plazo para cualquiera de estos tres agentes patógenos puede llevarse a cabo en agar chocolate con suplemento por un plazo de una semana.

- Durante un almacenamiento por un período corto (7 días o menos), la viabilidad es mejor si se inoculan los aislamientos de *S. pneumoniae* y *H. influenzae* en cuñas de agar chocolate, en tubos con tapas de rosca, incubados durante toda la noche a 35°C y mantenidos 4°C. Estas especies bacterianas no sobreviven bien en caldo y sólo sobreviven de 3 a 4 días en las placas primarias de agar.
- Para los aislamientos de *N. meningitidis*, se debe aflojar la tapa de rosca durante el almacenaje, pero dentro de lo posible se deben utilizar tapas con membranas permeables (que se encuentran disponibles comercialmente y permiten intercambio de gases). Una capa de base de TCB podría también ser útil para aumentar la viabilidad a 14 días. Las cuñas de *N. meningitidis* no deben ser refrigeradas.

Los aislamientos de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* pueden también guardarse por períodos cortos en hisopos, almacenados en paquetes de sílica gel; almacenados de esta forma, los aislamientos durarán dos semanas aproximadamente a temperatura ambiente. Los paquetes son económicos y fáciles de utilizar, pero normalmente no están disponibles de fabricantes comerciales. (Una fuente comercial de paquetes de sílica gel es Scientific Device Laboratory, Inc., que se incluye en el apéndice 13). La **figura 90** muestra la forma de utilizar estos paquetes.

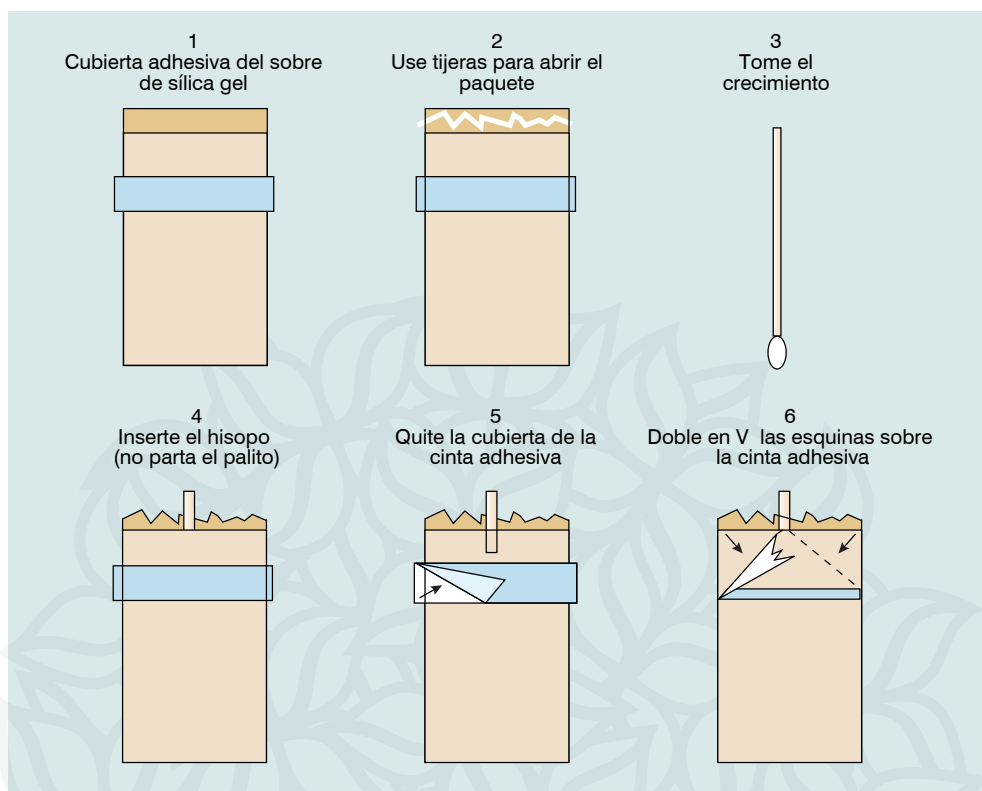


Figura 90. Paquetes de sílica gel para transporte y almacenamiento de corto plazo.

Almacenamiento de cepas de *H. influenzae*, *N. meningitidis* y *S. pneumoniae* por períodos largos

El almacenamiento por períodos largos puede hacerse por congelación o liofilización.

Almacenamiento por congelación

- a) Ponga a crecer un cultivo puro de *H. influenzae* en agar chocolate, y de *S. pneumoniae* y *N. meningitidis* en agar sangre o agar chocolate. Incube las placas en una incubadora de CO₂ o en la jarra con la vela durante 18 a 24 horas a 35°C. Inspeccione la pureza de las placas.
- b) Coseche con un hisopo estéril todo el crecimiento de una placa.
- c) Dispense el crecimiento en un vial criogénico de 2 mL, con tapa de rosca con hilo externo, que contenga 1 mL de sangre estéril desfibrinada y gire el hisopo para desprender los microorganismos. Elimine el exceso de sangre del hisopo rotándolo contra las paredes del vial antes de retirarlo cuidadosamente. Elimine el hisopo en desinfectante.
 - Se puede usar sangre desfibrinada de carnero, caballo o conejo para los tres microorganismos respiratorios. No se debe utilizar sangre humana. También hay otras opciones, como TS con 15%–20% de glicerol grado reactivo o solución de Greaves.
 - **Advertencia:** No se debe utilizar ampollas de cristal (crioviales de cristal) para congelar en nitrógeno líquido porque pueden explotar al retirarlas del congelador.

- d) Si es posible, congele rápidamente la suspensión en un baño de alcohol al 95% con perlas de hielo seco.
- e) Coloque los crioviales en un congelador a -70°C o en un congelador de nitrógeno (-120°C). Se puede utilizar un congelador de -20°C , pero debe esperarse alguna pérdida de viabilidad. Nunca deben utilizarse congeladores con descongelación automática.

Liofilización

Algunos laboratorios pueden contar con lo necesario para la liofilización (secado por congelación).

- a) Siembre los aislamientos de *H. influenzae* en agar chocolate suplementado y *S. pneumoniae* y *N. meningitidis* en agar sangre o agar chocolate. Incube las placas en una incubadora de CO_2 o en la jarra con la vela durante 18 a 20 horas a 35°C . Inspeccione la pureza de la placa.
- b) Coseche el crecimiento de la placa con 1 a 2 mL de leche descremada con un hisopo estéril. Coloque 0,5 mL aproximadamente de la suspensión en un ampolla estéril o en un vial de liofilización. Se pueden preparar varios viales de una misma placa. Mantenga la esterilidad durante todo el tiempo de preparación del vial.
- c) La suspensión celular debe tener una cubierta congelada en las paredes del vial de liofilización. Esto se logra con uno de los siguientes métodos:
 - Guarde el vial de liofilización a -70°C hasta el momento preciso en que se añada la suspensión celular. Añada la suspensión celular y rote rápidamente el vial para congelar la suspensión en la pared. Devuelva el vial al congelador de -70°C hasta que esté listo para colocar a la liofilizadora.
- o
- Si no se dispone de un congelador de -70°C , puede prepararse y utilizarse una mezcla de alcohol (etanol al 95%) y hielo seco para formar una cubierta congelada en las suspensiones celulares. La cubierta congelada se logra colocando la solución celular en el vial de liofilización y rotando el vial en un ángulo de 45°C a 60°C en la mezcla de alcohol/hielo seco.
- d) Coloque los viales en la liofilizadora. Siga las instrucciones del fabricante, porque cada instrumento utiliza diferentes tipos de aparatos. El tiempo de la liofilización dependerá de la capacidad del instrumento y del número de viales que van a ser liofilizados. El promedio requerido por la máquina es de 4 a 5 horas para completar el secado de 10 a 20 viales pequeños.
- e) Como último paso, selle los viales con una antorcha mientras estén todavía conectados a la liofilizadora y al vacío. Los viales pueden almacenarse a 4°C o a temperaturas de congelación después que han sido sellados.

Recuperación de los aislamientos de un almacenamiento a largo plazo

Las muestras liofilizadas de *H. influenzae*, *N. meningitidis* y *S. pneumoniae* pueden recuperarse suspendiendo la preparación en 0,25–0,5 mL de caldo (por ejemplo, caldo de TS, caldo de Mueller-Hinton o BSF). Añada una gota de la suspensión a una placa de medio (placa de agar sangre de carnero o agar chocolate para *H. influenzae*) y cinco gotas aproxi-

madamente a un medio líquido (caldo) que contenga cinco gotas de sangre (de carnero, conejo, cabrito o caballo, pero no sangre humana). Incube la placa y el tubo durante 18 a 24 horas a 35°C y observe el crecimiento. Si hay crecimiento en la placa, se puede eliminar el tubo; sin embargo, si no se observa crecimiento en la placa, pruebe el medio en el tubo y vuelva a incubar. Después de otro período de 18 a 24 horas, la placa debe ser reexaminada para determinar si hay crecimiento. En caso afirmativo, se puede eliminar el tubo; si no hay crecimiento presente, examine la turbidez del tubo (que podría indicar crecimiento). Si el tubo está turbio, se debe volver a probar y a reincubar, pero si no, haga de cuenta que la muestra liofilizada está muerta. (Por esto es que se recomienda mucho preparar una muestra para almacenamiento por congelación a largo plazo, además de la liofilización). Los microorganismos obtenidos de muestras liofilizadas se deben cultivar por lo menos una vez antes de utilizarlos en las pruebas.

Los cultivos congelados deben dejarse descongelar a temperatura ambiente, y debe utilizarse una pipeta Pasteur para extraer del criotubo una pequeña cantidad de inóculo para cultivo. El inóculo puede ser tomado del cultivo congelado antes de que la preparación esté completamente descongelada, pero no debe esperarse a que el cultivo se descongele completamente. (Una vez que la descongelación se completa, el cultivo congelado comenzará a perder viabilidad). Los microorganismos obtenidos de muestras congeladas se deben subcultivar por lo menos una vez antes de utilizarlos en las pruebas.

Almacenamiento de aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae*

Las cepas de *N. gonorrhoeae* son frágiles y debe tenerse mucho cuidado a la hora de preparar los cultivos para el almacenamiento; mantenga condiciones estériles durante todo el tiempo que dura este proceso.

Almacenamiento de cepas de *N. gonorrhoeae* por período corto

Los aislamientos de *N. gonorrhoeae* pueden guardarse durante dos semanas a -20°C. (Estos aislamientos no pueden almacenarse a temperatura ambiente o a 4°C; tienen que ser congelados). Los aislamientos almacenados por períodos cortos se deben conservar en caldo TS que contenga 20% de glicerol, al fondo de la bandeja del congelador y no en la puerta ni en la parte anterior de la bandeja, ya que si se abre la puerta del congelador y los aislamientos no están al fondo pueden derretirse y no volverse a congelar adecuadamente. Las cepas pierden rápidamente viabilidad con los ciclos de congelación/descongelación o cuando falla la recongelación.

Almacenamiento de aislamientos de *N. gonorrhoeae* a largo plazo

El mejor método para almacenar aislamientos de gonococos es congelarlos en un congelador a -70°C o en nitrógeno líquido (a -196°C). Las cepas pueden almacenarse como liófilos secos por congelación; sin embargo, este método es caro y requiere mucho trabajo, y los liófilos pueden con el tiempo perder viabilidad.

Almacenamiento por congelación

Para almacenar los aislamientos congelados, use un hisopo estéril para preparar suspensiones densas de cultivos puros de 18 a 24 horas preparados en base de TS que contenga 20% (vol/vol) de glicerina. Las mejores suspensiones se preparan rodando el hisopo sobre las colonias aisladas o al margen de las áreas confluentes de crecimiento. Dispense la suspensión en crioviales (viales para congelación especialmente diseñados para utilizar a temperaturas

muy bajas), pues las ampollas de cristal no deben nunca utilizarse para congelar en nitrógeno líquido, debido a que pueden explotar al sacarlas del congelador.

Una vez que se descongelan las suspensiones congeladas para inocular los cultivos, no deben volverse a congelar; habrá que preparar nuevas suspensiones de microorganismos. Es posible que hasta 99% de las células de una suspensión se destruyan durante la congelación y descongelación del preparado, es decir, ocurre una destrucción física de las células por cristales del medio en suspensión, que se forman durante el proceso de congelación. Una manera de minimizar la pérdida de células durante la congelación es realizando una “congelación instantánea” de la muestra en un baño de acetona o alcohol que contenga hielo seco. Otra opción es tomar una muestra con un asa estéril para bacterias de la parte superior de la preparación congelada, si la suspensión no está descongelada.

Si no hubiere disponible congelador a -70°C ni posibilidad de almacenar en nitrógeno líquido, las suspensiones de gonococos se pueden congelar por un plazo máximo de 2 semanas a -20°C ; las suspensiones congeladas de *N. gonorrhoeae* perderán viabilidad si se almacenan a esa temperatura por más de 2 semanas.

Liofilización

Algunos laboratorios pueden tener recursos para liofilizar (secado por congelación). Para preparar los liofilizados, se suspenden cultivos puros de los aislamientos de 18 a 24 horas en medios especiales para liofilización, y se distribuyen en pequeñas alícuotas (en 0,25–0,5 mL por lo regular en ampollas de liofilización. Similar a lo que sucede en el almacenamiento por congelación, en este proceso aproximadamente el 99% de los microorganismos muere durante el proceso de congelación.

Los aislamientos de gonococos no deben ser suspendidos en leche descremada debido a que los ácidos grasos de la leche pueden ser tóxicos para algunos microorganismos y la densidad de la suspensión no puede determinarse. Las suspensiones son congeladas a -70°C o en baño de etanol/hielo seco y secadas al vacío durante 18 a 24 horas, hasta que se evapore la humedad. Se deben seguir las indicaciones de los fabricantes, debido a que cada instrumento utiliza diferentes tipos de aparatos. La preparación seca debe tener una textura polvorosa; si la preparación tiene una apariencia transparente, como jarabe, se debe eliminar el vial. Se debe abrir y cultivar inmediatamente una ampolla de cada preparación de una cepa para cerciorarse de que la preparación es viable y pura, y para verificar de qué microorganismo se trata y sus características (susceptibilidad a los antimicrobianos). Las ampollas se conservan mejor entre 4°C y 10°C o a -20°C ; no se deben almacenar a temperatura ambiente. Lentamente puede ir entrando oxígeno en las ampollas a través del sello delgado, especialmente en las de paredes delgadas, por lo cual, se deben abrir cada 1 a 2 años para confirmar que la preparación está viable. Si la preparación liofilizada que se volvió a suspender no crece después de incubar durante 48 horas, es necesario preparar nuevas ampollas.

Recuperación de los aislamientos almacenados a largo plazo

Los especímenes liofilizados de *N. gonorrhoeae* pueden ser recuperados si se suspende la preparación en 0,5–1,0 mL de glicerol TS, caldo de Mueller Hinton o BSF, y se inocular en agar chocolate GC. La ventaja de utilizar glicerol TS es que la suspensión puede volverse a congelar mientras que se asegure la pureza en la placa de cultivo; después que se confirma que el cultivo es puro, la suspensión puede ser eliminada adecuadamente o puede prepararse una nueva congelación o liofilización del espécimen. Antes de las pruebas de inoculación, desarrolle al menos un subcultivo del cultivo inicial.

Los cultivos congelados deben descongelarse a temperatura ambiente y utilizados para inocular una placa de agar chocolate GC. Se puede tomar el inóculo del cultivo congelado antes de que la preparación esté completamente descongelada, pero siempre antes de ese momento. (Una vez que la descongelación se completa, el cultivo congelado comienza a perder viabilidad).

Si los recursos están disponibles y el aislamiento almacenado (lío-filizado o congelado) es de otro laboratorio (por ejemplo, no es el mismo laboratorio el que recobró el espécimen almacenado), se sugiere que el medio selectivo GC sea inoculado al mismo tiempo que el chocolate GC. Si el cultivo está contaminado, este paso lo purificará.

Almacenamiento de aislamientos de *Salmonella*, *Shigella* y *V. cholerae*

Los aislamientos de *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrio* permanecerán por lo regular viables durante algunos días en medios sólidos dejados a temperatura ambiente (22°C a 25°C), a menos que el medio se seque o se vuelva ácido. De cualquier modo, si los cultivos se van a mantener por más de unos días, se deben preparar adecuadamente antes del almacenamiento. Como con otras bacterias, la selección de un método de almacenamiento depende del tiempo en que los microorganismos van a mantenerse y del equipo y los recursos de que dispone el laboratorio. Mantenga siempre condiciones estériles durante la preparación de los cultivos para almacenar.

Almacenamiento por períodos cortos de *S. Typhi*, *Shigella* y *V. cholerae*

El agar sangre, el agar triptona soya (ATS) y el agar infusión de corazón (AIC) son ejemplos de buenos medios de almacenamiento para microorganismos entéricos. No se debe utilizar medios que contienen carbohidratos (por ejemplo, agar hierro de Kligler [AHK] o agar hierro triple azúcar [AHTA]), porque producen ácido en el metabolismo y reducen rápidamente la viabilidad de los microorganismos. El agar sangre, el ATS y el AIC contienen sal (NaCl), la cual aumenta el crecimiento de *V. cholerae*. (El agar nutriente no se debe utilizar para el crecimiento o almacenamiento de *V. cholerae* porque no contiene sal añadida).

Cuando prepare el medio de almacenamiento, coloque los tubos de medios que estén todavía calientes después de pasar por el autoclave en una posición de cuña, de modo que se forme una cuña corta y un extremo (tope) profundo (2–3 cm). Para inocular, puncione con la aguja de inocular el tope del medio una o dos veces y estríe luego la cuña. Incube el cultivo toda la noche entre 35°C y 37°C. Selle el tubo con tapón de corcho sumergido en parafina caliente o tratado de otra forma para que quede bien cerrado. Almacene los cultivos entre 22°C y 25°C en la oscuridad.

Para evitar que se seque la cuña se puede utilizar aceite mineral estéril. Se debe añadir suficiente aceite mineral estéril para cubrir la cuña, a 1 cm sobre el tope del agar, y subcultivar cuando se necesite, arañando el crecimiento de la cuña, sin necesidad de quitar aceite mineral para el subcultivo. Las cepas de *Shigella*, *Vibrio* y *Salmonella* mantenidas de esta manera en cultivos puros sobrevivirán normalmente durante varios años.

Almacenamiento por períodos largos de *S. Typhi*, *Shigella* y *V. cholerae*

Los aislamientos se pueden almacenar indefinidamente si se mantienen en congelación a –70°C o menos; estas temperaturas pueden alcanzarse en un “congelador ultrabajo” (–70°C) o en un congelador de nitrógeno líquido (–196°C). No se recomienda almacenar los aislamientos a –20°C, porque a esta temperatura, algunos microorganismos perderán viabilidad.

Almacenamiento por congelación

- a) Inocule una cuña de ATS o de AIC (o un medio de crecimiento que contenga sal, u otro medio no inhibidor) e incube entre 35°C y 37°C.
- b) Coseche las células de la cuña y haga una suspensión en el medio para congelar.
- c) Ponga la suspensión en crioviales (viales para congelación especialmente diseñados para temperaturas muy bajas).
 - **Advertencia:** Nunca se debe utilizar ampollas de cristal para congelar en nitrógeno líquido, porque pueden explotar al sacarlas del congelador.

Prepare un baño de alcohol y hielo seco poniendo el hielo seco (CO₂ congelado) en un recipiente de metal a prueba de fuga, que sea suficientemente grande para sostener una gradilla de cultivo de metal; añada suficiente alcohol etílico para sumergir alrededor de la mitad del criovial. Congele rápidamente la suspensión poniendo los viales sellados en el baño de hielo seco hasta que se congelen. (Si no se dispone de hielo seco, puede ponerse un recipiente con alcohol toda la noche al congelador y utilizarlo para la congelación rápida de los viales). Transfiera los viales congelados al congelador.

Liofilización

La mayor parte de los microorganismos puede almacenarse exitosamente después de la liofilización o desecación por congelación. La desecación por congelación comprende quitar el agua de las suspensiones bacterianas congeladas por sublimación bajo presión reducida. Siga las indicaciones de los fabricantes pues cada instrumento utiliza diferentes tipo de aparatos. Los cultivos liofilizados se mantienen mejor a temperatura de 4°C o menos.

Recuperación de aislamientos de almanaceje a largo plazo

Para recobrar un aislamiento del almacenamiento por congelación, saque los cultivos congelados del congelador y póngalos en hielo seco o en un baño de alcohol y hielo seco; transfíralos a un gabinete de laboratorio de seguridad o a un área limpia, si no se dispone de gabinete. Con un asa estéril, raspe de la porción más alta del cultivo y transfiera a un medio de crecimiento, teniendo cuidado de no contaminar el tope o el interior del vial. Vuelva a cerrar el vial antes de que esté completamente descongelado y devuélvalo al congelador. Si se aplican técnicas cuidadosas, la transferencia puede realizarse con éxito varias veces utilizando el mismo vial. Incube por 18 a 24 horas entre 35°C y 37°C; desarrolle por lo menos un subcultivo antes de utilizar el aislamiento para inocular una prueba.

Para recobrar los especímenes liofilizados de *Salmonella*, *Shigella* o *V. cholerae*, inocule un tubo de caldo no selectivo (por ejemplo, caldo de TS o caldo de infusión de corazón) e incube la suspensión durante toda la noche. Subcultive el caldo en un medio de crecimiento no selectivo (por ejemplo, agar TS o AIC) e incube durante 18 a 24 horas entre 35°C y 37°C.

Apéndice 12. Embalaje y embarque de muestras diagnósticas y sustancias infecciosas

Preparación para el transporte de muestras infecciosas y cultivos

El transporte de muestras diagnósticas y de agentes etiológicos (sustancias infecciosas) debe hacerse con cuidado, no sólo para reducir al mínimo el riesgo para los humanos o para el medio ambiente, sino también para proteger la viabilidad de los agentes patógenos. El transporte de artículos infecciosos por sistemas de entrega pública o comercial puede estar sujeto a regulaciones locales, nacionales y (si cruza las fronteras nacionales) regulaciones internacionales.

Si es posible, se deben enviar las muestras de tal manera que lleguen a destino durante el horario de trabajo, para así asegurar un manejo apropiado y una siembra rápida. Lo antes posible, preferiblemente antes de que las muestras sean enviadas, se debe informar al laboratorio que va a recibir las muestras, que éstas ya están en camino.

El transporte dentro del país puede ser por tierra o por aire, según las condiciones locales. Si las muestras se envían por mensajero, éste debe saber la ubicación del laboratorio de destino y la persona específica a quien debe contactar. El expedidor debe identificar por adelantado la forma más rápida y segura de transporte (ya sea por bicicleta, motocicleta, carro, ambulancia o transporte público) y estar seguro de que se dispone de los fondos para reembolsar los costos de combustible o transporte público. Para distancias largas, el transporte más rápido es por carga aérea o servicio de entrega expedita. Debido a que los paquetes de hielo o hielo seco sólo durarán de 24 a 48 horas, deben hacerse los arreglos necesarios para que los paquetes se recojan inmediatamente en el aeropuerto. Cuando las muestras se embarcan por aire, se debe comunicar inmediatamente al laboratorio de destino el número del boleto aéreo, el número del vuelo y las horas y fechas de partida y llegada del vuelo.

Transporte y embarque de cultivos y muestras

Organizaciones regulatorias

El Comité de Expertos de las Naciones Unidas sobre el Transporte de Mercancías Peligrosas continuamente emite recomendaciones para el transporte seguro de mercancías peligrosas. La Organización de la Aviación Civil Internacional (OACI) ha utilizado estas recomendaciones como base para elaborar regulaciones para la seguridad del transporte aéreo de mercancías peligrosas. Las regulaciones de la Asociación de Transporte Aéreo Internacional (IATA) contienen todos los requerimientos de las Instrucciones Técnicas para el Transporte Seguro de Mercancías Peligrosas de la OACI. No obstante, la IATA tiene otras exigencias más restrictivas que las de la OACI. Las aerolíneas que hacen parte de la IATA han adoptado la reglamentación de esa Asociación para el control de las mercancías peligrosas; los encargados del embarque deben cumplir con esa reglamentación y con cualquier otra norma que se aplique en el estado de origen, tránsito o destino.

El embarque por aire de sustancias infecciosas o de muestras diagnósticas debe cumplir con las regulaciones locales, nacionales e internacionales. Las regulaciones para transporte aéreo internacional se pueden encontrar en la publicación de la IATA Reglamentación sobre Mercancías Peligrosas, que se publica anualmente en enero y se actualiza todos los años. La Reglamentación de la IATA se puede obtener en inglés, español, francés y alemán de una de las siguientes oficinas regionales:

Para ordenar la Reglamentación de la IATA en las Américas, Europa, África y el Oriente Medio:

Representante de Servicio al Cliente
Asociación Internacional de Transporte Aéreo
800 Place Victoria, P.O. Box 113
Montreal, Quebec - CANADA H4Z 1M1
Teléfono: 1-514-390-6726 - Fax: 1-514-874-9659
Teletipo: YMQTPXB

Para ordenar la Reglamentación de la IATA en Asia, Australasia y el Pacífico:

Representante de Servicio al Cliente
Asociación Internacional de Transporte Aéreo
77 Robinson Rd. No. 05-00 SIA Bldg.
SINGAPORE 068896
Teléfono: +65-438-4555 - Fax: +65-438-4666
Telex: RS 24200 TMS Ref: TM 2883
Cable: IATAIATA - Teletipo: SINPSXB
Información por Internet: <http://www.iata.org>
Para órdenes por Internet, envíe un e-mail a: sales@iata.org

Regulaciones de embarque para sustancias infecciosas y muestras diagnósticas

En general, los paquetes que van a ser embarcados por vía aérea comercial y carga aérea (tales como Federal Express, DHL y aeronave de pasajeros) están sujetos a la reglamentación de la IATA. Ésta se describe en este apéndice del manual, que brinda también ejemplos de procedimientos aceptables de embalaje de materiales infecciosos. No obstante, debido a que estas regulaciones pueden no reflejar los requerimientos nacionales o los de la IATA para el embalaje y etiquetado de las sustancias infecciosas, es necesario consultar las regulaciones nacionales vigentes y la edición actual de la publicación de la IATA Reglamentación sobre Mercancías Peligrosas, antes de embalar y embarcar sustancias infecciosas por cualquier medio de transporte. Las **tablas 36a y 36b** muestran las etiquetas y embalaje apropiados para el embarque de paquetes de diferente clasificación bajo las regulaciones de la IATA (actualización de 2002). Se requiere un formulario completo de “Declaración del Expedidor para Mercancías Peligrosas” para mandar este tipo de materiales, incluidas las sustancias infecciosas. La forma de usar estos formularios se muestra más adelante en este apéndice.

Tabla 36a. Resumen de las etiquetas y marcas requeridas para la correcta seguridad y embarque de diferentes tipos de paquetes

Paquete Tipo:						(Figura dentro de la Tabla)
Especímenes de diagnóstico	✓		✓			Fig A
Especímenes de diagnóstico en hielo seco	✓		✓	✓		Fig B
Sustancias infecciosas ...con menos de 50 mL ...con más de 50 mL	✓ ✓	✓* ✓*			✓ ✓	Fig C Fig D
Sustancias infecciosas en hielo seco ...con menos de 50 mL ...con más de 50 mL	✓ ✓	✓* ✓*		✓ ✓	✓ ✓	Fig E Fig F
Hielo seco	✓			✓		Fig G

* Si se usa un sobreembalaje

Definición de sustancias infecciosas

De acuerdo con la IATA (2003), las sustancias infecciosas son aquellas que se sabe que contienen o, en forma fundada, se cree que contienen microbios patógenos. Los microbios patógenos son definidos como microorganismos (incluidos: bacterias, virus, rickettsias, parásitos, hongos) o microorganismos recombinados (híbridos o mutantes) que se sabe o razonablemente se cree que causan enfermedades en los humanos o animales.

Definición de muestras para diagnósticos

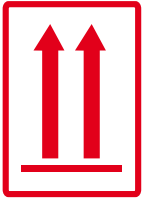
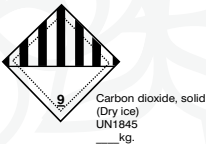
Según la IATA (2003), una muestra diagnóstica se define como cualquier material humano o animal que incluya, pero no se limita a: excreciones, secreciones, sangre y sus componentes, tejidos y fluidos de tejidos que son transportados para fines de diagnóstico o investigación, pero excluye animales infectados vivos.

Las “muestras para diagnóstico” se consideran como tales a menos que la fuente de la muestra humana o animal tenga o pueda tener una enfermedad grave humana o animal que pueda ser rápidamente transmitida de un individuo a otro, directa o indirectamente, y para la cual no estén normalmente disponibles las medidas preventivas y el tratamiento efectivo, en cuyo caso éstas deben ser clasificadas como “sustancias infecciosas”.

Lineamientos para el embalaje y etiquetado de sustancias infecciosas

Las personas que embarcan agentes infecciosos o muestras

Tabla 36b. Descripción de las etiquetas y marcas individuales requeridas para la correcta seguridad y embarque de diferentes tipos de paquetes

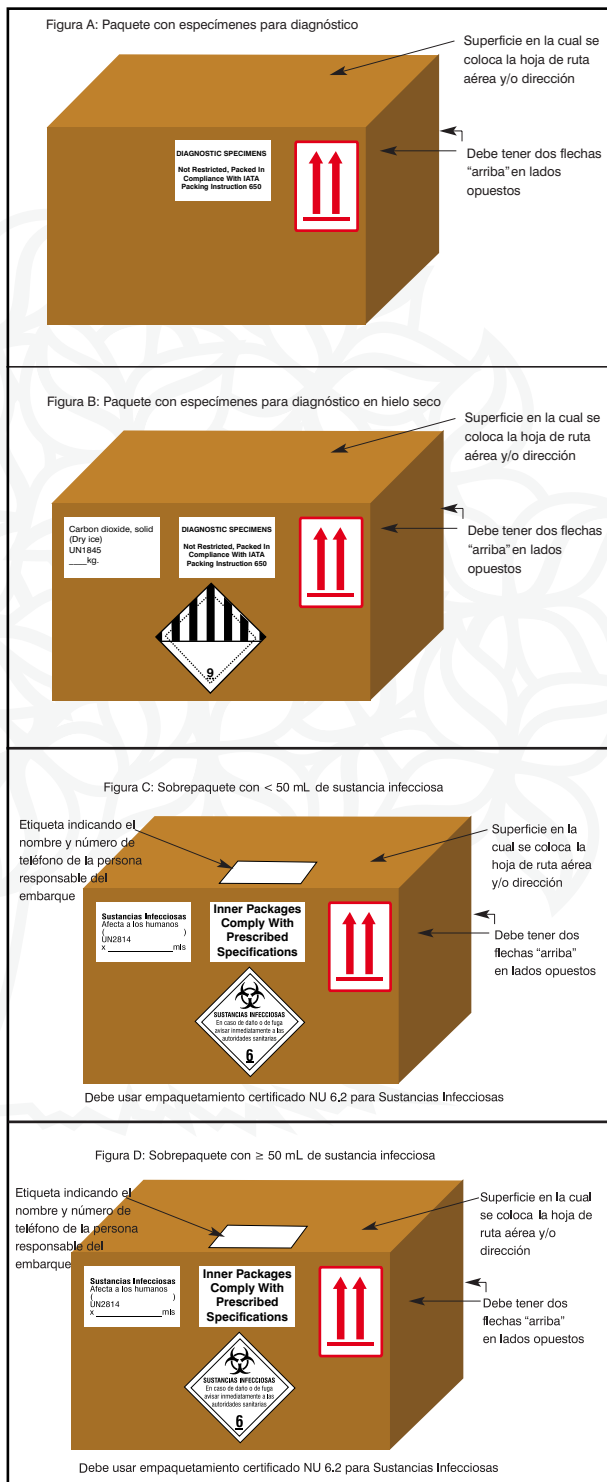
	Esta etiqueta de orientación debe marcar claramente cuál lado es 'Arriba'. Se requieren dos etiquetas en cada caja, cada una en lados opuestos del paquete.
Inner Packages Comply With Prescribed Specifications	Esta marca debe aparecer en el sobrepaquete cuando las regulaciones requieren el uso de empaquetamientos que lleven las Especificaciones de Marcas de NU.
DIAGNOSTIC SPECIMENS Not Restricted, Packed In Compliance With IATA Packing Instruction 650	Esta marca es requerida cuando se embalan especímenes diagnósticos.
	Estas dos etiquetas se requieren cuando se embala una sustancia o espécimen en hielo seco.
	Estas tres etiquetas se requieren cuando se embalan sustancias infecciosas. Por favor note que cuando se embalan sustancias infecciosas usted debe usar Empaquetamiento Certificado de Sustancias Infecciosas NU 6.2.
	Esta etiqueta se requiere cuando se embalan más de 50 mL de una sustancia infecciosa.

para diagnóstico tienen que cumplir con toda la reglamentación local e internacional relacionada con el embalaje y manipulación de estos materiales. Tienen que asegurar que las muestras llegarán a su destino en buenas condiciones y que no presenten riesgos para las personas o los animales durante el transporte.

El embalaje interno para el embarque de las sustancias infecciosas debe incluir:

- El embalaje primario interno a prueba de agua (estanco) de cristal, metal o plástico que tenga un sello a prueba de derrame.
 - Las tapas de rosca deben ser reforzadas con cinta adhesiva.
 - Las placas de Petri no deben ser embarcadas.
- Un embalaje secundario a prueba de filtraciones (estanco) resistente a golpes (la especificación para el empaque de las Naciones Unidas [NU] que ha sido rigurosamente probada y certificada para sustancias infecciosas).
- Material absorbente entre el embalaje primario y el secundario.
 - Si se colocan múltiples embalajes primarios en un solo embalaje secundario, los primeros deben envolverse individualmente para evitar el contacto entre ellos. El material absorbente, tal como lana de algodón, tiene que ser suficiente para absorber el contenido total de todos los embalajes primarios.

Tabla 36b. Descripción de las etiquetas y marcas individuales requeridas para la correcta seguridad y embarque de diferentes tipos de paquetes (continuación)



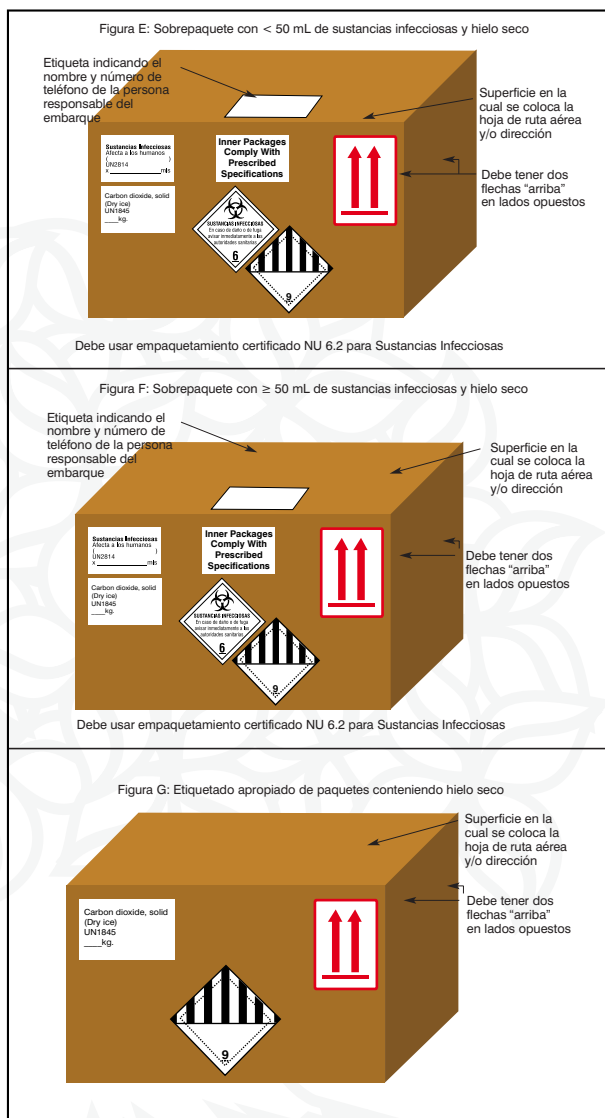
- Una lista del contenido, artículo por artículo, colocada entre el embalaje secundario y el sobre embalaje externo.

Si se trata de múltiples embalajes primarios colocados en un solo embalaje secundario, los primeros deben ser envueltos individualmente o, en el caso de sustancias infecciosas transportadas en nitrógeno líquido, separadas y bien sostenidas, para evitar el contacto entre recipientes. El material absorbente tiene que ser suficiente para absorber el contenido completo de todos los embalajes primarios.

El embalaje externo para el embarque de las sustancias infecciosas debe seguir los requerimientos siguientes:

- Ser suficientemente fuerte para proteger y contener adecuadamente las sustancias que se envían.
- Tener al menos 100 mm (4 pulgadas) en su dimensión externa más pequeña y un tamaño suficiente para acomodar todas las etiquetas en una sola superficie sin que se sobrepongan.
- Marcas externas duraderas y legibles con la dirección y el teléfono del que envía y el destinatario. Las etiquetas de sustancias infecciosas deben fijarse en la parte externa del contenedor externo y tienen que llevar la inscripción "Sustancias Infecciosas. En caso de daño o derrame notifique inmediatamente a las autoridades de salud pública." El embalaje secundario para sustancias infecciosas tiene que estar marcado según lo indica específicamente las Naciones Unidas, señalando que el empaque para embarcar sustancias infecciosas ha sido aprobado y certificado.
- Debe tener una etiqueta con la marca de sustancias infecciosas (NU 2814): "Sustancias Infecciosas, que afectan a los humanos (el género y la especie {o nombre técnico}) x el número total de mililitros o gramos." La especie puede especificarse o sólo indicarse "spp." Estas marcas pueden ser escritas a mano y no requieren de etiquetas adhesivas especiales. El género y especie se pueden escribir con letras cursivas o no, o se pueden subrayar. Por ejemplo:
 - "Sustancia infecciosa, que afecta a humanos (N. meningitidis) x 5,0 mL"

Tabla 36b. Descripción de las etiquetas y marcas individuales requeridas para la correcta seguridad y embarque de diferentes tipos de paquetes (continuación)



- - “Sustancia infecciosa, que afecta a humanos (*Streptococcus* spp.) x 5,0 mL”
- - “Sustancia infecciosa, que afecta a humanos (VIH) x 0,5 mL”
- Llevar etiquetas con un par (2) de flechas hacia arriba (↑ ↑) en al menos dos lados opuestos de la caja externa para indicar la orientación correcta del paquete, con la tapa hacia arriba. Además de las dobles flechas a los lados, la parte superior de la caja puede también marcarse con la inscripción “Esta tapa hacia arriba” o “Este lado hacia arriba.”
- Llevar una etiqueta que indique “Sólo por carga aérea” si el volumen total del material infeccioso por contenedor externo embarcado es ≥ 50 mL.
- Llevar el nombre y el número de teléfono de la persona responsable del embarque.

Estos requerimientos relacionados con los paquetes de transporte de sustancias infecciosas se ilustran en la **figura 91**.

Lineamientos para embalaje y etiquetado de muestras para diagnóstico

Las muestras para diagnóstico (clínicas) con baja probabilidad de contener agentes infecciosos tienen que ser empacadas de modo que no pueda haber derrames después de una prueba de caída de 1,2 m de la siguiente manera:

- Tener “triple embalaje”, con un recipiente primario (estanco) a prueba de filtraciones, un contenedor secundario a prueba de derrames, y suficiente material absorbente entre los contenedores primario y secundario.
 - El embalaje primario o el secundario debe ser capaz de resistir, sin filtración, un diferencial de presión interna de no menos de 95 kiloPascal cuando esté entre -40°C y $+55^{\circ}\text{C}$ (los fabricantes indican qué embalajes empacados y embarcados cumplen estos criterios). Los contenedores de sustancias infecciosas sobrepasan estos criterios y son por tanto aceptables para embalar y embarcar muestras para diagnóstico.

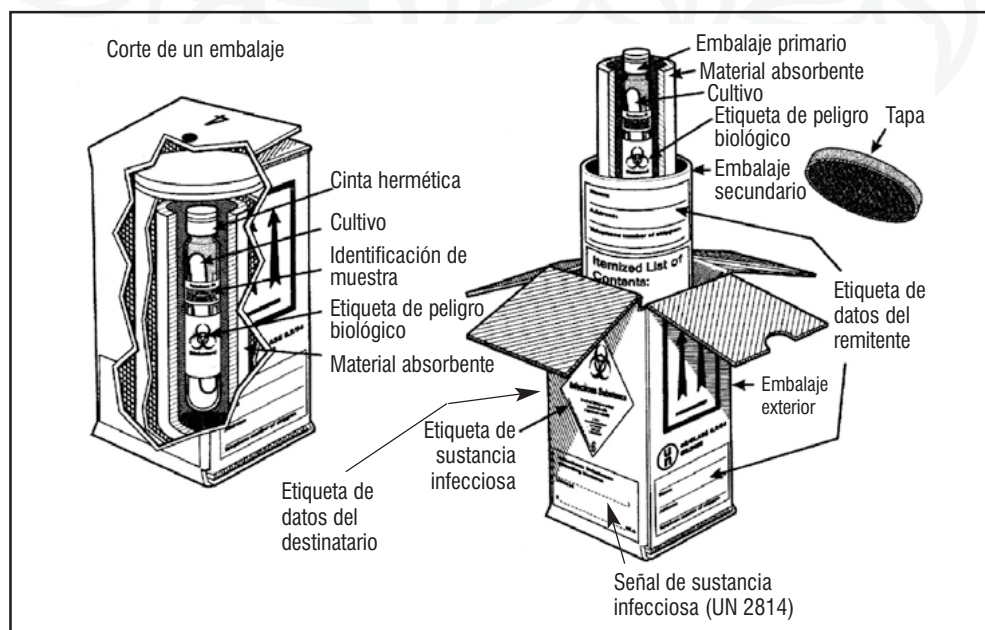


Figura 91. Empaque y etiquetado correctos del embalaje secundario para el embarque de sustancias infecciosas.

- Llevar una lista detallada del contenido entre el embalaje secundario y el embalaje externo.
- Llevar la marca de declaración de muestras diagnósticas en el exterior del contenedor externo. ("Muestras Diagnósticas. NU 3373. Embalado de Acuerdo con la Instrucción 650 de Empaque de la IATA"). Note que esta marca puede estar escrita a mano y no requiere una etiqueta especial adhesiva.
 - Si el envío va a ser por aire, la declaración de las muestras para diagnóstico ("Muestras para Diagnóstico. NU 3373. Embale de acuerdo con la Instrucción 650 de Empaque de la IATA"). Tiene que estar presente en la hoja de ruta aérea y en el embalaje externo.

Los requerimientos de embalaje para el transporte de las muestras diagnósticas se ilustran en la **figura 92**.

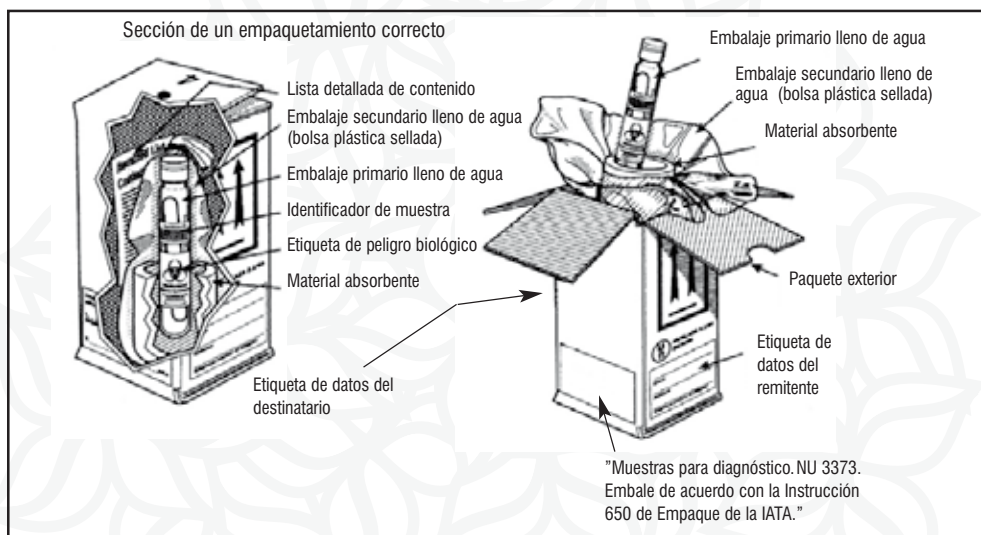


Figura 92. Empaque y etiquetado correctos del embalaje secundario para el embarque de muestras diagnósticas.

Lineamientos para el embalaje y etiquetado de las muestras embarcadas en hielo seco (CO₂)

El hielo o hielo seco deben ser colocados por fuera en un paquete aparte del embalaje secundario. Es necesario colocar soportes interiores para asegurar que el paquete secundario se mantenga en su posición original después de que el hielo se disipe. Si se está utilizando hielo, el empaque tiene que ser a prueba de filtración. Si se está utilizando hielo seco, éste debe ser embalado de acuerdo con la Instrucción 904 de Empaque de la IATA: el embalaje externo tiene que permitir la salida del dióxido de carbono (CO₂). El cartón y el poliestireno (*Styrofoam*) son dos ejemplos de materiales adecuados para empacar el hielo seco. En un clima templado, 6 libras de hielo seco aproximadamente se disiparán en un período de 24 horas, por lo cual, al menos debe colocarse esa cantidad de hielo seco (y preferiblemente más) para un embarque/envío de 24 horas; esta cantidad debe ser ajustada en casos de clima cálido y según el tamaño de la caja. Las cajas grandes requieren más hielo seco para mantener la congelación. En el transporte aéreo el máximo de hielo seco permitido en un contenedor externo simple es 200 kg (aproximadamente 440 libras).

Los paquetes que contienen hielo seco tienen que ser debidamente marcados con las palabras "Dióxido de carbono, sólido (hielo seco) NU1845 (y peso neto del hielo seco en kg)", y una etiqueta Clase 9 preimpresa "Miscelánea de Mercancías Peligrosas", como se muestra en la **tabla 36**.

Cuando se utiliza una sobrecubierta externa, ésta tiene que estar marcada de la siguiente manera: “Los paquetes internos cumplen las indicaciones requeridas” (debido a que las marcas de especificación de las Naciones Unidas no serán visibles en la sobrecubierta externa).

Lineamientos para llenar el modelo de “Declaración de Embarque para Mercancías Peligrosas”

Todos los embarques de materiales peligrosos, incluidas las sustancias infecciosas, tienen que ir acompañados de dos copias originales, completas del modelo de “Declaración de Embarque para Mercancías Peligrosas”, insertadas en la bolsa entre los otros documentos del embarque. En la **figura 93** se presenta un ejemplo del modelo de Declaración de Embarque para Mercancías Peligrosas, con la información necesaria para completarlo. Para reducir el riesgo de que un embarque sea rechazado y devuelto al laboratorio de origen, es importante recordar lo siguiente:

- La reglamentación internacional requiere de marcas diagonales sombreadas, impresas en rojo en los márgenes izquierdo y derecho; no se pueden utilizar formularios fotocopiados.
- Los formularios tienen que ser completados en inglés, aunque la traducción puede ir en el mismo formulario.

SHIPPER'S DECLARATION FOR DANGEROUS GOODS (Provide at least two copies to the airline)

Shipper: Name of Shipper, Company Name, Complete address (no P.O. Boxes), Telephone number (include area code), Person responsible (name and telephone)

Consignee: Name of Recipient, Company Name, Complete address (Not a P.O. Box), Telephone number (include area code), Person responsible (name and telephone)

Two completed and signed copies of this Declaration must be handed to the operator.

TRANSPORT DETAILS: This shipment is within the provisions prescribed for: ☒ AIRCRAFT AND CARGO ☐ AIRCRAFT ONLY. ☐ SEA ☐ RAIL ☐ ROAD. ☐ INLAND WATERWAY. ☐ COMBINATION. City, State, Country

WARNING: Failure to comply in all respects with the applicable Dangerous Goods Regulations may be in breach of the applicable law, subject to legal penalties. This Declaration must not, in any circumstances, be completed and/or signed by a consolidator, a forwarder or an IATA cargo agent.

NATURE AND QUANTITY OF DANGEROUS GOODS: Dangerous Goods Identification

Proper Shipping Name	Class or Division	UN or ID No.	Packing Group	Subsidiary Risk	Quantity and Type of packing	Packing Inst.	Authorization
Infectious substance, affecting humans (GENUS SPECIES)	6.2	UN2814			1 FIBREBOARD BOX x _____ ml	602	
Carbon dioxide, solid (Dry ice)	9	UN1845			1 FIBREBOARD BOX x _____ ml OVERPACK USED	904	

Additional Handling Information: Prior arrangements as required by the ICAO and IATA Dangerous Goods Regulations 1.3.3.1 have been made.

I hereby declare that the contents of this consignment are fully and accurately described above by the proper shipping name and are classified, packaged, marked and labelled/declared, and are in all respects in proper condition for transport according to applicable International and national governmental regulations.

Name/Title of Signatory: _____, Nombre del remitente, título, nombre de la Compañía
Place and Date: _____, Fecha de envío
City, State, País
Signature: _____, Firma
(see entry sheet)

Annotations in figure:
- "use el número de la Hoja de Ruta Aérea del paquete REQUERIDO" points to Air Waybill No.
- "Tachar el cuadro que NO SE USE (las sustancias infecciosas usualmente no son radioactivas) REQUERIDO" points to the Radioactive box.
- "Tachar el cuadro que NO APLIQUE (si la cantidad es > 50 mL, el transporte debe realizarse en un avión de carga)" points to the Aircraft Only box.
- "Si el paquete contiene hielo seco, incluir lo siguiente:" points to the Dry Ice entry.
- "Si las señales especificadas por NU no son visibles debido al doble empaquetamiento, el paquete secundario debe incluir:" points to the OVERPACK USED box.
- "REQUERIDO" points to the Prior arrangements section.

Figura 93. Información requerida para completar correctamente el modelo de “Declaración de Embarque para Mercancías Peligrosas”.

- Debe utilizarse nomenclatura, términos y ortografía específicos. Por ejemplo, hay que referirse a una caja de cartón como “caja de fibreboard” (en inglés) (ortografía: R antes de E) y tiene que haber una coma después del término “sustancias infecciosas”, en la declaración “sustancias infecciosas, que afectan a los humanos” (véase la **figura 93**).
- El nombre de la persona responsable del embarque tiene que aparecer en uno de los registros de direcciones; si la persona responsable del embarque no es la que embarca o recibe, hay que incluir junto al nombre el número de teléfono de la persona responsable.
- En la parte del formulario “Detalles para el Transporte”, tache la opción que no corresponda.
- Si el embarque es de menos de 50 mL, tache “sólo para carga aérea”.
- Si el embarque es de 50 mL o más, tache “carga aérea y de pasajero”.
- En la parte del formulario “Naturaleza y Cantidad de Mercancías Peligrosas”:
 - El nombre correcto para el embarque de sustancias infecciosas es “Sustancias infecciosas, que afectan a los humanos (nombre técnico).” El nombre técnico de la(s) sustancia(s) infecciosa(s) tiene que ser incluido entre paréntesis después del nombre correcto del embarque; no obstante, el de la especie específica no se requiere y “spp” puede seguir al género. Es por ello que el nombre técnico para la sustancia infecciosa *Neisseria meningitidis* puede aparecer en la lista como “(*Neisseria meningitidis*)” o “(*Neisseria* spp.)”. Se permiten las letras itálicas, pero no son necesarias para los nombres del género y la especie.
 - Para las “Sustancias infecciosas, que afectan a los humanos (nombre técnico)”: la clase correcta es 6.2; el número de NU es NU2814, y la instrucción del empaque es la 602.
 - Para “Dióxido de carbono, sólido (hielo seco)”: la clase correcta es 9; el número de NU es NU1845; el grupo del empaque es III, y la instrucción del empaque es la 904.
 - Para las sustancias infecciosas, debe aparecer la cantidad en mL en la parte “Cantidad y Tipo del Empaquetado” en el formulario.
 - Para el hielo seco, la cantidad tiene que aparecer en kg (medida en números enteros) en la parte del formulario “Cantidad y Tipo del Empaquetado”.
 - Si la marca de especificación de las Naciones Unidas no es visible en el empaquetamiento externo, la declaración tiene que contener las palabras “SOBRE EMBALAJE USADO” en la parte del formulario “Cantidad y Tipo del Empaquetado”.
- En la parte del formulario “Información Adicional sobre Manipulación”, el número de teléfono para contacto de emergencia las 24 horas del día tiene que ser el de una persona que conozca los procedimientos a seguir en casos de emergencia por derrames y daños en las cajas.
- El formulario de “Declaración de Embarque para Mercancías Peligrosas” es un documento legal y tiene que ser firmado.

Antes del embarque de las cajas, asegúrese de comunicarse con el futuro destinatario para comunicarle los detalles del embarque; haga todos los arreglos para una apropiada manipulación durante el embarque y la importación legal de la sustancia infecciosa sin daños en la entrega; estos lineamientos están en armonía con la regulación 1.3.3.1 de la IATA.

Publicación de referencia para embalaje y embarque de mercancías peligrosas

Asociación de Transporte Aéreo Internacional. Reglamentación de Mercancías Peligrosas, 44a. edición, efectiva en enero 1, 2003. Montreal - Ginebra.

Apéndice 13. Lista de fabricantes, proveedores y distribuidores que pueden proporcionar información sobre medios y reactivos

La siguiente lista de fabricantes, proveedores y distribuidores de medios y reactivos que se utilizan más comúnmente no significa que se esté respaldando a estos fabricantes o productos. Nótese que la información sobre contactos puede cambiar.

Siga estrictamente las instrucciones del fabricante al utilizar medios y reactivos comerciales y lleve a cabo periódicamente actividades de control de calidad, según corresponda.

BD (Becton, Dickinson and Co.) <i>También incluye productos de:</i> ▪ BBL (catálogo internet) http://catalog.bd.com/scripts/catalog.exe ▪ Difco (catálogo internet) http://www.bd.com/industrial/difco/manual.asp	BD Microbiology Systems 7 Loveton Circle Sparks, Maryland 21152 USA <i>Teléf.:</i> (+1) 410 316 4000 - <i>Fax:</i> (+1) 410 316 4723 BD Worldwide House of Vanguard Chiromo Road, Westlands 4th Floor, Wing B, P.O. Box 76813 Nairobi, Kenya <i>Teléf.:</i> (+254) 2 44 96 09 - <i>Fax:</i> (+254) 2 44 96 19 BD Diagnostics Systems, Asia Limited 5th Floor, Signature Tower South City Gurgaon – 122016 Haryana, India <i>Teléf.:</i> (+91) 124 638 3566 - <i>Fax:</i> (+91) 124 638 3224 <i>E-mail:</i> bd_india@bd.com BD Chile Carretera General San Martín 16500 Sitio 33, Colina (Casilla 16273 – Correo 9) Santiago, Chile <i>Teléf.:</i> (+56) 2 460 0380 - <i>Fax:</i> (+56) 2 460 0306
bioMérieux	bioMérieux Vitek, Inc. 595 Anglum Drive Hazelwood, MO 63042 USA <i>Teléf.:</i> (+1) 314 731 8500 - <i>Fax:</i> (+1) 314 731 8700 bioMérieux s.a. 69280 Marcy-l'Etoile, France <i>Teléf.:</i> (+33) 4 78 87 20 00 - <i>Fax:</i> (+33) 4 78 87 20 90 <i>Telex:</i> 330967
Developing Health Technology <i>Equipos de laboratorio de bajo costo y suministros para países en desarrollo, ONG y agencias de cooperación.</i>	Developing Health Technology Bridge House Worlington Road Barton Mills England IP28 7DX. <i>Teléf.:</i> (+44) 1603 416058 - <i>Fax:</i> (+44) 1603 416066 <i>E-mail:</i> sales@dht-online.co.uk <i>Internet:</i> http://www.dht-online.co.uk/
Fisher Scientific Co.	Fisher Scientific, Puerto Rico Carreterra #1, Km.56.4 - Barrio Montellano Cayey, Puerto Rico 00737 USA <i>Teléf.:</i> (+1) 787 738 4231 - <i>Fax:</i> (+1) 787 738 4600 Europe/Middle East/Africa Headquarters Fisher Scientific Overseas Marketing, Inc. 46 Queen Anne Street London W1M 9LA, United Kingdom <i>Teléf.:</i> (+44) 171 935 4440 - <i>Fax:</i> (+44) 171 935 5758 Fisher Scientific International, Inc. 3970 Johns Creek Court - Suite 500 Suwanee, GA 30024 USA <i>Teléf.:</i> (+1) 770 871 4500 - <i>Fax:</i> (+1) 770 871 4600 Otras localizaciones: http://www.fishersci.com.sg/contact.html

Merck & Co KGaA <i>Listado electrónico de suministradores globales</i> <i>Internet: http://www.merck.de</i> <i>E-mail: service@merck.de</i>	KGaA Darmstadt Germany Frankfurter Strasse 250 64293 Darmstadt, Germany <i>Teléf.: (+49) 6151 720 - Fax: (+49) 6151 722000</i> Merck Laboratory Supplies Division 1 Friesland Drive Longmeadow Business Estate Modderfontein, Gauteng, South Africa <i>Teléf.: (+27) 11 372 5000 - Fax: (+27) 11 372 5254</i> <i>E-mail: labsupply@merck.co.za</i> Merck Química Argentina Artilleros 2436 1428 Buenos Aires, Argentina <i>Teléf.: (+54) 114 787 8100 - Fax: (+54) 114 788 3365</i> <i>E-mail: wpiersko@merck.com.ar</i> Merck Limited Shiv Sagar Estate "A" Dr. Annie Besant Road Worli, Mumbai 400018 INDIA <i>Teléf.: (+91) 22 4964855 (through 862)</i> <i>Fax: (+91) 22 4950307 or 4954590 - E-mail: life.science@merck.co.in</i>
Calbiochem <i>(afiliado de Merck)</i>	Calbiochem P.O. Box 12087 LaJolla, CA 92039-2087 USA <i>Teléf.: (+1) 858 450 9600 - Fax: (+1) 858 453 3552</i> <i>Internet: http://www.calbiochem.com/contactUs/sales.asp</i> <i>E-mail: orders@calbiochem.com</i>
Murex Diagnostics, Inc.	Central Road, Temple Hill Dartford, Kent DA1 5LR, United Kingdom <i>Teléf.: (+44) 132 227 7711 - Fax: (+44) 132 227 3288</i> Customer Services Department 3075 Northwoods Circle Norcross, GA 30071, USA <i>Teléf.: (+1) 404 662 0660 - Fax: (+1) 404 447 4989</i> Murex Diagnostics / Embree Diagnostics Delhi 110006 - India <i>Teléf.: (+91) 11 326 7172 - Fax: (+91) 11 324 1508</i>
Oxoid	Oxoid s.a. 6 route de Paisy, B.P. 13 69572 Dardilly Cedex, France <i>Teléf.: (+33) 4 78 35 17 31 - Fax: (+33) 4 78 66 03 76</i> Oxoid Limited Wade Road, Basingstoke - Hampshire RG24 8PW - England <i>Teléf.: (+44) (0) 1256 841 144</i> <i>Fax: (+44) (0) 1256 463 388</i> <i>E-mail: oxoid@oxoid.com</i>
Pastorex	Sanofi Diagnostics Pasteur 3, Bld Raymond Poincaré - BP 3 92430 Marnes-la-Coquette, France <i>Teléf.: (+33) 1 47 95 60 00 - Fax: (+33) 1 47 41 91 33</i> <i>Telex: 631293F</i>
Quélab Laboratories, Inc.	2331, Dandurand Montreal (Quebec) Canada, H2G 3C5 <i>Teléf.: (+1) 514 277 2558 - Fax: (+1) 514 277 4714</i> <i>Internet: http://www.quelab.com</i> <i>(sitio web en español, inglés y francés)</i>
Remel Laboratories	12076 Santa Fe Drive P.O. Box 14428 Lenexa, KA 66215, USA <i>Teléf.: (+1) 913 888 0939 - Fax: (+1) 913 895 4128</i> <i>E-mail: customersupport@remelinc.com</i>

Scientific Device Laboratory, Inc.	411 E. Jarvis Avenue Des Plaines, IL 60018 <i>Teléf.:</i> (+1) 847 803 9545 <i>Fax:</i> (+1) 847 803 8251 <i>E-mail:</i> scidev@aol.com <i>Internet:</i> http://www.scientificdevice.com (sitio web en español e inglés)
Sigma-Aldrich Corp.	Sigma-Aldrich Fancy Road, Poole Dorset, BH17 7NH, UK <i>Teléf.:</i> (+44) 0800 373 731 <i>Fax:</i> (+44) 0800 378 785 Sigma-Aldrich Chimie S.a.r.l. L'Isle d'Abeau Chesnes B.P. 701, 38297 St. Quentin Fallavier Cedex, France <i>Teléf.:</i> (+33) 05 21 14 08 <i>Fax:</i> (+33) 05 03 10 52 Sigma-Aldrich St. Louis, MO USA Attn: N. Corray <i>Teléf.:</i> (+1) 314 286 7690 <i>Fax:</i> (+1) 314 286 7807 <i>E-mail:</i> ncorray@sial.com
TCS Biosciences Ltd.	Botolph Claydon Buckingham, MK18 2LR - England <i>Teléf.:</i> (+44) (0) 1296 714222 <i>Fax:</i> (+44) (0) 1296 714806 <i>E-mail:</i> Sales@TCSgroup.co.uk
Wellcome Diagnostics	GlaxoSmithKline, Glaxo Wellcome UK Ltd., Stockley Park West, Uxbridge, Middlesex, UB11 1BT General Enquiries: <i>Teléf.:</i> (+44) 20 8990 9000 - <i>Fax:</i> (+44) 20 8990 4321 Glaxo SmithKline Consumo Av. Presidente Kennedy 5454 Piso 13 Chile <i>Teléf.:</i> (+56) 2 370 6600 - <i>Fax:</i> (+56) 2 370 6666 GlaxoSmithKline South Africa 44 Old Pretoria Road Halfway House Midrand Gauteng South Africa o PO Box 3388 Halfway House 1685 Gauteng South Africa <i>Teléf.:</i> (+27) 11 3136000 - <i>Fax:</i> (+27) 11 3136111
VWR International	VWR International Ltd. Merck House Poole BH15 1TD England <i>Teléf.:</i> (+44) 1 202 669 700 - <i>Fax:</i> (+44) 1 202 665 599 <i>info@uk.vwr.com</i> VWR International S.A.S. "Le périgares"-Bâtiment B 201, rue Carnot F-94126 Fontenay-sous-Bois cedex <i>Teléf.:</i> (+33) 1 45 14 85 00 <i>info@fr.vwr.com</i>

Cepas de control de calidad

Muchos laboratorios adquieren cepas para el control de calidad de colecciones oficiales de cultivo, incluida la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, acrónimo en inglés) y la Colección Nacional de Cultivos Tipo y Hongos Patógenos. (NCTC, acrónimo en inglés). Este manual presenta los números de ATCC para las cepas de control de calidad, pero las cepas de ATCC pueden también obtenerse de la NCTC.

American Type Culture Collection (ATCC)

12301 Parklawn Drive, Rockville, MD 20852 USA e-mail help@atcc.org
Teléf. (+1) 703-365-2700 fax (+1) 703-365-2701 internet <http://www.atcc.org>

National Collection of Type Cultures and Pathogenic Fungi (NCTC)

Public Health Laboratory Service, London NW9, England;
e-mail nctc@phls.nhs.uk internet <http://www.phls.co.uk/services/nctc/>

Las cepas de control de calidad también pueden ser adquiridas de empresas comerciales como Lab M.: **Lab M** Topley House, 52 Wash Lane, Bury, BL9 6AU, England.

Tiras de Etest®

Las tiras de Etest® pueden ser un tanto más difíciles de obtener que los discos de antimicrobianos, por tanto se incluye aquí información específica referente a su adquisición. Las tiras de Etest® se pueden conseguir de:

AB BIODISK	AB BIODISK North America, Inc	Remel Inc. (Distribuidor)
Dalvagen 10	200 Centennial Ave	12076 Santa Fe Dr.
S 169	56 Piscataway, NJ. 08854-3910	Lenexa, KS 66215
Solna, Sweden	Teléf.: (+1) 732 457 0408	Teléf.: (+1) 913 888 0939
Teléf.: (+46) 8 730 0760		Fax: (+1) 732 457 8980
Fax: (+1) 913 888 5884		
Fax: (+46) 8 83 81 58		

AB Biodisk en Internet en: <http://www.abbiobdisk.com>

En algunos casos, es posible conseguir descuentos en la compra de tiras de Etest® para proyectos financiados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), especialmente para los laboratorios de zonas de escasos recursos. Para obtener más información sobre descuentos, comuníquese con: Anne Bolmstrom, Presidenta de AB BIODISK, en la dirección de la compañía en Suecia que figura arriba.

Apéndice 14. Laboratorios internacionales de referencia

Las personas que deseen enviar aislamientos para confirmación a un laboratorio internacional de referencia tienen que contactar al laboratorio antes del proceso de empaque y embarque, con el fin de obtener información sobre los permisos de importación e indagar si el laboratorio se encuentra en capacidad de aceptar el embarque. (Nota: las instrucciones para el empaque apropiado de los aislamientos se encuentran en el apéndice 12).

Centro Colaborador de la OMS para la Investigación, Entrenamiento y Control en Enfermedades Diarreicas
Centro Internacional para la Investigación en la Enfermedad Diarreica, Bangladesh (CIIED, B)
G.P.O. Box 128
Dhaka 100
Bangladesh

Centro Colaborador de la OMS para la Investigación y Entrenamiento
Instituto Nacional de Cólera y Enfermedades Entéricas
P-33, CIT Road Scheme XM
Beliaghata
P.O. Box 177
Calcutta 700 016
India

Centro Colaborador de la OMS para *Shigella*
Laboratorio Nacional de Referencia para *Escherichia coli* y *Shigella*
Sección de Laboratorio de Enfermedades Transmitidas por Alimentos y Enfermedades Diarreicas
Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Rd., N.E., MS C03
Atlanta, GA 30333 USA
Teléf.: (+1) 404-639-3344
Fax: (+1) 404-639-3333
E-mail: nas6@cdc.gov

Laboratorio Nacional de Referencia para *Vibrio cholerae* O1 y O139
Laboratorio de Vigilancia e Investigaciones sobre Epidemias
Sección de Laboratorio de Enfermedades Transmitidas por Alimentos y Enfermedades Diarreicas
Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Rd., N.E., MS C-03
Atlanta, GA 30333 USA
Teléf.: (+1) 404-639-3344
Fax: (+1) 404-639-3333
E-mail: jgw1@cdc.gov o cab4@cdc.gov

Centro Colaborador de la OMS para Referencia e Investigación en *Salmonella*
Instituto Pasteur
28 rue du Docteur Roux
F-75724 Paris Cedex 15
France
Teléf.: (+33) 1-45-68-83-46
Fax: (+33) 1-45-68-82-28

Centro Colaborador de la OMS para Fagotipaje y Resistencia de Enterobacterias
División de Patógenos Entéricos
Laboratorio Central de Salud Pública
Colindale Avenue
London NW9 5HT
United Kingdom
Teléf.: (+44) 181 200 4400
Fax: (+44) 181 200 7874

Centro Colaborador de la OMS para el Monitoreo Global de la Resistencia
Antimicrobiana de las Bacterias
Rama de Laboratorio de Patógenos Nosocomiales
Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Rd., N.E., MS G-08
Atlanta, GA 30333 USA
Fax: (+1) 404-639-2256
E-mail: zoa6@cdc.gov (se prefiere el contacto por e-mail).

Centro Colaborador de la OMS para la Referencia y la Investigación en Meningococos
Atención: Prof. Dominique A. Caugant, Jefe Instituto Noruego de Salud Pública
Geitmyrsveien 75
P.O. Box 4404 Nydalen
N-0403 Oslo
Norway
Teléf.: (+47) 22 04 23 11
Fax: (+47) 22 04 25 18

Unité du méningocoque, Centre Collaborateur OMS,
(Unidad de Meningoco, Centro Colaborador de la OMS)
Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées
Parc du Pharo, B.P. 46
F-13998 Marseille-Armées
France
Atención: Dr. Pierre Nicolas
Teléf.: (+33) 4 91 15 01 15
Fax: (+33) 4 91 59 44 77
E-mail: imtssa.meningo@free.fr

Centro Colaborador de la OMS para ETS y VIH
(Programa de Vigilancia Antimicrobiana de Gonococos – Región del Pacífico Oeste)
Hospital Príncipe de Gales
Randwick, Sydney
Australia 2031
Teléf.: (+ 61) 2 9382 9079
Fax: (+ 61) 2 9398 4275
E-mail: j.tapsall@unsw.edu.au o limniosa@sesahs.nsw.gov.au

Programa para la Vigilancia Antimicrobiana de Gonococos para América Latina y el Caribe
Centro para la Investigación en Biofarmacéuticos
Room 4170, Guindon Hall
Universidad de Ottawa
451 Smyth Road
Ottawa, Canada K1H 8M5

Teléf.: 613 562 5800 ext 8379 (oficina);
Fax: 613 562 5699;
E-mail: GASPLAC@uottawa.ca

Las cepas de control de calidad para pruebas suplementarias de susceptibilidad a los antimicrobianos de Neisseria gonorrhoeae pueden obtenerse de:

Laboratorio de Referencia de Neisseria
Rama de Investigaciones en Gonorrea
Building 1 South / Room B260
Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Rd., N.E.
Atlanta, GA 30333 USA

Atención:

Dr. David Trees (*Teléf.:* (+1) 404-639-2134; *Fax:* 404-639-2310; *e-mail:* DTrees@cdc.gov)
o
Dr. Joan S. Knapp (*Teléf.:* (+1) 404-639-3470; *Fax:* 404-639-3976; *e-mail:* JKnapp@cdc.gov)

Recursos para el aseguramiento de la calidad

Los laboratoristas que estén interesados en buscar información de referencia relacionada con el aseguramiento de la calidad (A/C), pueden consultar el sitio de la Organización Mundial de la Salud en Internet relacionado con los esquemas internacionales del A/C externa:

http://www.who.int/pht/health_lab_technology/ieqass.html .

Hasta el año 2002, el centro organizador internacional de la OMS para el asesoramiento del A/C para la microbiología es:

Centro Colaborador de la OMS para el Aseguramiento de la Calidad Externa en Microbiología Clínica
Atención: Dr. J. Verhaegen
Hospital Universitario St Raphael
Leuven, Belgium

Una fuente adicional de información con base en Internet, útil para los laboratorios en lugares de recursos limitados es la del "Public Health Care Laboratory" (PHCLab):

<http://www.phclab.com>.

La organización establece una misión, "... servir como fuente global y foro de intercambio de información para apoyar los servicios de laboratorio en países de pobres recursos y por tanto contribuir a un mejoramiento sostenible de la calidad..." La dirección electrónica del PHCLab.

Apéndice 15. Bibliografía seleccionada

Manuales de referencia

Laboratory Methods for the Diagnosis of Epidemic Dysentery and Cholera; 1999. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia.

Las copias de este manual se pueden obtener de: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades Sección de Laboratorio de Enfermedades Transmitidas por Alimentos y Diarreas 1600 Clifton Road, NE, Mail Stop C-03, Atlanta, GA, 30333, USA. Fax: 404-639-3333.

Laboratory Manual for the Diagnosis Caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*; 1999. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.

Las copias de este manual se pueden obtener de: Organización Mundial de la Salud 1211 Geneva 27, Switzerland.

NCCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twelve Informational Supplement*; 2002. (Document M100-S12, ISBN 1-56238-454-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, 19087-1898, E.U.A.; <http://www.nccls.org>

NCCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standards. Seventh Edition*. (Document M2-A7, ISBN 1-56238-393-0). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, 19087-1898, E.U.A. <http://www.nccls.org>

NCCLS. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. Approved Standard. Fifth Edition*; 2000. (Document M7-A5, ISBN 1-56238-394-9). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, 19087-1898, E.U.A. <http://www.nccls.org>

Manual of Clinical Microbiology; 1992. Sociedad Estadounidense de Microbiología, Washington, D.C., E.U.A.

Clinical Microbiology Procedures Handbook; 1992. Sociedad Estadounidense de Microbiología, Washington, D.C., E.U.A.

Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology; 2001. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.

Manual de técnicas básicas para un laboratorio de salud; 2001. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.

Manuales de referencia (*pendientes de publicación por la OMS*)

Generic Protocol to Measure the Burden of Pneumonia and Pneumococcal Disease in Children 0 to 23 Months of Age. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.

WHO Surveillance Standards for Antimicrobial Resistance. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.

Referencia sobre embalaje y embarque

Asociación para el Transporte Aéreo Internacional. Reglamentación para mercancías peligrosas. 44a. edición. Efectivas en enero 1 de 2003. Montreal - Ginebra.

Bibliografía adicional

Ajello GW et al. Trans-Isolate medium: a new medium for primary culturing and transport of *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*. *J Clin Micro* 1984; 20:55-58.

Amies CC. A modified formula for the preparation of Stuart's transport medium. *Canadian J Pub Health* 1967;58: 296-300.

Angyo IA, Okpeh ES. Changing patterns of antibiotic sensitivity and resistance during an outbreak of meningococcal infection in Jos, Nigeria. *Journal of Tropical Pediatrics* 1998; 44(5): 263-265.

Applebaum PC. World-wide development of antibiotic resistance in pneumococci. *Eur J Clin Micro* 6 1987; 367-377.

Atlas RM, Snyder JW. *The Handbook of Media for Clinical Microbiology*. New York: CRC Press; 1995.

Austrian R. The Quellung reaction: a neglected microbiological technique. *Mt Sinai J Med* 1976; 43: 699-703.

Barker J, Gratten M, Riley I, Lehmann D, Montgomery J, Kajoi M, Gratten H, Smith D, Marshall TF, Alpers MP. Pneumonia in children in the Eastern Highlands of Papua New Guinea: A bacteriologic study of patients selected by standard clinical criteria. *J Infect Dis* 1989; 159: 348-352.

Barry AL, Brown SD, Fuchs PC. *In vitro* activity of ceftizoxime, ceftazidime, cefuroxime, ceftriaxone, cefotaxime, and penicillin against *Streptococcus pneumoniae* as determined by three quantitative methods. *Eur J Clin Microbio Infect Dis* 1996; 15: 344-346.

Bopp CA, Brenner FW, Wells JG, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. En: Murray PR, Tienhoven MA, Tenover FC, Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th Edition. Washington, DC: ASM Press; 1999: 459-474.

Brudzinski L, Bronsdon M, Factor S, Schwartz B, Suleymanova F, Chorba T, Facklam R. Comparison of E-test performed under field conditions and broth microdilution minimal inhibitory concentrations (MIC) performed in a reference laboratory for *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. Abstract. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Toronto Canada; 1997: 89.

Campos, JM. Detection of bloodstream infections in children. *Eur J Clin Micro Infect Dis* 1989; 8: 815-824.

Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory-acquired meningococcal disease—United States, 2000. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2002; 51(7): 141-144.

Centers for Disease Control and Prevention. *Gonococcal Isolate Surveillance Project Annual Report—2000*. Atlanta, Georgia: CDC; 2000.

Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health.
Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Washington, DC: U.S.
Government Printing Office; 1999. (Stock No. 017-040-00547-4).

Centers for Disease Control and Prevention. Fluoroquinolone-Resistance in
Neisseria gonorrhoeae, Hawaii, 1999, and decreased susceptibility to azithromycin
in *N. gonorrhoeae*, Missouri, 1999. *MMWR* 1999; 49(37): 833.

Centers for Disease Control and Prevention. *Laboratory Methods for the Diagnosis of
Vibrio Cholerae*. Atlanta, Georgia: CDC; 1994.

Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for the collection of
laboratory specimens associated with outbreaks of gastroenteritis.
MMWR 1990; 39 (No. RR-14).

Cohen, ML. Epidemiological factors influencing the emergence of antimicrobial
resistance. *Ciba Found Symp* 1997; 207: 223-231.

Cohen, ML. Epidemiology of drug resistance: Implications for a post-antimicrobial era.
Science 1992; 257 (5073): 1050-1055.

Dershewitz RA, Wigder HN, Wigder CN, Nadelman DH. A comparative study of the
prevalence, outcome, and prediction of bacteremia in children. *J Pediatr* 1983; 103: 352-358.

Dillon JR, Carballo M, Pauze M. Evaluation of eight methods for identification of pathogenic
Neisseria species: *Neisseria*-Kwik, RIM-N, Gonobio Test, Gonocheck II, GonoGen, Phadebact
GC OMNI test, and Syva MicroTrak test. *J Clin Microbiol* 1988; 26 (3): 493-497.

Doern GV, Jorgensen JH, Thornsberry C et al. National collaborative study of the prevalence
of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Haemophilus influenzae*.
Antimicrob Agents Chemother 1988; 32: 180-185.

Eandi M, Zara GP. Economic impact of resistance in the community. *Int J Clin Pract Suppl*
1998; 95: 27-38.

El-Nageh MM. Coordination for better laboratory services. *World Health Forum* 1996; 17
(2): 200-202.

Facklam RR, Washington JA. Streptococcus and related Catalase-negative Gram Positive Cocci.
En: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. *Manual of Clinical
Microbiology*, 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1991: 238-257.

Fleming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice:
The contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection.
Sexually Transmitted Infections 1999; 75 (1): 3-17.

Gagneux S, Wirth T, Hodgson A, Ehrhard I, Morelli G, Kriz P, Genton B, Smith T, Binka F,
Pluschke G, Achtman M. Clonal groupings in serogroup X *Neisseria meningitidis*.
Emerging Infectious Diseases 2002; (5): 462-466.

Gerbase AC, Rowley JT, Heymann DH, Berkley SF, Piot P. Global prevalence and incidence
estimates of selected curable STDs. *Sexually Transmitted Infections* 1998; 74 (Suppl. 1):
S12–S16. Gibson LF, Khoury JT. Storage and survival of bacteria by ultra-freeze. *Letts Appl.
Microbiol.* 1986; 3: 137-129.

Global Task Force on Cholera Control. *Guidelines for Cholera Control*. Geneva: World Health Organization; 1992. (WHO/CDD/SER/80.4 Rev 4).

Goldmann DA, Huskins WC. Control of nosocomial antimicrobial-resistant bacteria: A strategic priority for hospitals worldwide. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl. 1): S139–S145.

Gratten M et. al. Comparison of goat and horse blood as culture medium supplements for isolation and identification of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* from upper respiratory tract secretions. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2871-2872.

Gratten M, Naraqi S, Hansman D. High prevalence of penicillin insensitive pneumococci in Port Moresby, Papua New Guinea. *Lancet ii* 1980; 192-195.

Handsfield HH, Dalu ZA, Martin DH, Douglas JM Jr, McCarty JM, Schlossberg D. Multicenter trial of single-dose azithromycin vs. ceftriaxone in the treatment of uncomplicated gonorrhea. Azithromycin Gonorrhea Study Group. *Sex Transm Dis* 1994; 21 (2): 107-111.

Hashemi FB, Schutze, GE, Mason EO Jr. Discrepancies between results by E-test and standard microbroth dilution testing of *Streptococcus pneumoniae* for susceptibility to vancomycin. *J Clin. Microbiol* 1996; 34: 1546-1547.

Heuck C. WHO's laboratory programme. *World Health Forum* 1998; 19 (1): 68-70.

Heuck CC, Deom A. Health care in the developing world: need for appropriate laboratory technology. *Clin Chem* 1991; 37 (4): 490-496.

Holmberg SD, Solomon SL, Blake PA. Health and economic impacts of antimicrobial resistance. *Rev Infect Dis* 1987; 9(6): 1065-1078.

Hovig B, Aandahl EH. A selective method for the isolation of *Haemophilus* in material from the respiratory tract. *Acta Path et Microbiol Scandinavia* 1969; 77: 676-684.

Isenberg HD, ed. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Volume 1. Washington: DC: American Society for Microbiology; 1992.

Ison CA, Dillon JA, Tapsall JW. The epidemiology of global antibiotic resistance among *Neisseria gonorrhoeae* and *Haemophilus ducreyi*. *Lancet* 1998; 351 (Suppl. 3): 8-11.

Jorgensen JH, Turnidge JD, Washington JA. Antibacteria susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. En: Murry PR, Pfaller MA, Tenover FC, Baron EJ y Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th Edition. Washington, DC: ASM Press; 1999:1526-1543.

Jorgensen JH, Ferraro MJ, McElmeel ML, Spargo J, Swenson JM, Tenover FC. Detection of penicillin and extended-spectrum cephalosporin resistance among *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates by use of the E test. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 159-163.

Kay BA, Bopp CA, Wells JG. Isolation and identification of *Vibrio cholerae* O1 from fecal specimens. En: Wachsmuth IK, PA Blake y Olsvik O, eds (1994) *Vibrio cholerae and Cholera: Molecular to Global Perspectives*. Washington, DC: ASM Press; 1994: 3-26.

Kay HD, Petrie HT, Burge JJ, Klassen LW. Rapid recovery of non-hemolyzed serum and untraumatized cells by using a new method of blood defibrination in vitro. *Journal of Immunological Methods* 1986; 92: 251-260.

Kilian M. *Haemophilus*. En: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD y Shadomy, HJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. Washington, DC: ASM Press; 1991:463-470.

Kim WJ, Park SC. Bacterial resistance to antimicrobial agents: An overview from Korea. *Yonsei Med J* 1998; 39(6): 488-494.

Klugman KP. Pneumococcal resistance to antibiotics. *Clin Micro Rev* 3 1990; 171-196.

Klugman KP, Madhi SA. Emergence of drug resistance: Impact on bacterial meningitis. *Infectious Disease Clinics of North America* 1999; 13(3): 637-646.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia, PA: J.B. Lippincott Company (Lippincott Williams & Wilkins); 1992.

Knapp JS, Fox KK, Trees DL, Whittington WL. Fluoroquinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Emerg Infect Dis* 1997; 3 (1): 333-339.

Knapp JS, Hale JA, Neal SW, Wintershed K, Rice RJ, Whittington WL. Proposed criteria for interpretation of susceptibilities of strains of *Neisseria gonorrhoeae* to ciprofloxacin, ofloxacin, enoxacin, lomefloxacin, and norfloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995; 39(11): 2442-2445.

Lalitha MK, Thomas K, Kumar RS, Steinhoff MC. Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* by coagglutination with 12 pooled antisera. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 263-265.

Leowski J. Mortality from acute respiratory infection in children less than 5 years of age: Global estimates. *World Health Statistic Quarterly* 1986; 39: 138-144.

Lin FY, Ho VA, Khiem HB, Trach DD, Bay PV, Thanh TC, Kossaczka Z, Bryla DA, Shiloach J, Robbins JB, Schneerson R, Szu SC. The efficacy of a *Salmonella Typhi* Vi conjugate vaccine in two- to five-year old children. *The New England Journal of Medicine* 2001; 344 (17): 1263-1269.

Lucas TJ. An evaluation of 12 methods for the demonstration of penicillinase. *J Clin Path* 1979; 32: 1061-1065.

Marshall SA, Rhomberg PR, Jones RN. Comparative evaluation of E-test for susceptibility testing *Neisseria meningitidis* with eight antimicrobial agents. An investigation using U.S. Food and Drug Administration regulatory criteria. *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease* 1997; 27(3): 93-97.

Mbori-Ngacha DA. Rational approach to limiting emergence of antimicrobial drug resistance. *East Af Med J* 1997; 74(3): 187-189.

McCarthy PL, Sharpe MR, Spiesel SZ, Dolan TF, Forsyth BW, DeWitt TG, Fink HD, Baron MA, Cicchetti DV. Observation scales to identify serious illness in febrile children. *Pediatr* 1982; 70: 802-809.

McLaughlin JC. *Vibrio*. En: Murray PR et al, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC: ASM Press; 1995: 465-476.

Miller MJ. *A guide to specimen management in clinical microbiology*. Microbiology Technical Services, Dunwoody, GA, and Diagnostic Microbiology Section, Hospital Infections Program, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA; 1996.

- Morris GK, Merson MH, Huq I, Kibria AKMG, Black R. Comparison of four plating media for isolating *Vibrio cholerae*. *J Clin Micro* 1979; 9(1): 79-83.
- Munson RS, Kabeer MH, Lenoir AA, Granoff DM. Epidemiology and prospects for prevention of disease due to *Haemophilus influenzae* in developing countries. *Rev Infect Dis* 1989; 11(Suppl. 3): S5888– 5897.
- Murray CJL, López AD. *Global Health Statistics: A Compendium of Incidence, Prevalence and Mortality Estimates for over 200 Conditions*. The Harvard School of Public Health on behalf of the World Health Organization and World Bank, Boston, MA; 1996: 283-309.
- O'Brien KL, Bronsdon MA, Dagan R, Yagupsky P, Janco J, Elliott J, Whitney CG, Yang Y-H, Robinson LE, Schwartz B, Carlone GM. Evaluation of a medium (STGG) for transport and optimal recovery of *Streptococcus pneumoniae* from nasopharyngeal secretions collected during field studies. *J Clin Micro* 2001; 39(3): 1021-1024.
- Oppenheim BA. Antibiotic resistance in *Neisseria meningitidis*. *Clinical Infectious Diseases* 1997; 24(Suppl. 1): S98–S101.
- Organización Mundial de la Salud. *Manual de bioseguridad en el laboratorio*. Ginebra: OMS; 1993.
- Organización Mundial de la Salud. *Infecciones respiratorias agudas en los niños: tratamiento de casos en hospitales pequeños*. Ginebra: OMS; 1990. (WHO/ARI/90.5).
- Park CH, Lopen JS, Cook CB. Acidometric agar plate method for Ampicillin susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1978; 13: 318-320.
- Rice RJ, Knapp JS. Antimicrobial susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* representing five distinct resistance phenotypes. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38(1): 155-158.
- Sahm DF, Tenover FC. Surveillance for the emergence and dissemination of antimicrobial resistance in bacteria. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11(4): 767-783.
- Schwartz B, Facklam RR. *Manual for the National Surveillance of Antimicrobial Resistance of S. pneumoniae and H. influenzae: Epidemiological and Microbiological Methods*. Geneva: World Health Organization, and Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 1994.
- Shann F. Etiology of severe pneumonia in children in developing countries. *Ped Infect Dis* 1986; 5: 247-252.
- Silverman M, Stratton D, Diallo A, Egler LJ. Diagnosis of acute bacterial pneumonia in Nigerian children. *Arch Dis Child* 1977; 52: 925-931.
- Sørensen UBS. Typing of pneumococci by using 12 pooled antisera. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2097-2100.
- Taranta A, Moody MD. Diagnosis of streptococcal pharyngitis and rheumatic fever. *Pediatric Clinics of North America* 1971; 18(1): 125-143.
- Tenover FC, Baker CN, Swenson JM. Evaluation of commercial methods for determining antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 10-14.
- Tenover FC, McGowan JE Jr. Reasons for the emergence of antibiotic resistance. *Am J Med Sci* 1996; 311 (1): 9-16.

United Nations Children's Fund. *State of the World's Children*. New York: UNICEF; 1999.

Van der Ende et al. Comparison of commercial diagnostic tests for identification of serogroup antigens of *Neisseria meningitidis*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 3326-3327.

Wall RA, Corrah PT, Mabey DCW, Greenwood BM. The etiology of lobar pneumonia in the Gambia. *Bull WHO* 1986; 64: 553-558.

Wang S. Multi-drug resistant *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to cefixime, Hawaii, 2001. Presentation at the 2001 International Conference on Emerging Infectious Diseases: Atlanta, Georgia; 2002 [slide set can be viewed at ftp://ftp.cdc.gov/pub/infectious_diseases/iceid/2002/pdf/wang.pdf]

Weinberg GA et al. Antimicrobial susceptibility patterns in *Haemophilus* isolates from children in eleven developing nations. *Bull WHO* 1990; 68: 179-184.

World Health Organization. *Control of Epidemic Meningococcal Disease: WHO Practical Guidelines*. 2nd Edition. Geneva: WHO; 1998.

World Health Organization. *Epidemic Diarrhoeal Disease Preparedness and Response: Training and Practice. Participant's Manual*. Geneva: WHO; 1997. (WHO/EMC/DIS/97.3).

World Health Organization. *Prevention and Control of Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) Infections. Report of a WHO Consultation*. Geneva: WHO; 1997. (WHO/FSF/FOS/97.6).

World Health Organization. *Guidelines for the Control of Epidemics due to Shigella dysenteriae* 1. Geneva: WHO; 1995. (WHO/CDR/95.4).

World Health Organization. *Manual for the Laboratory Investigations of Acute Enteric Infections*. Geneva: WHO; 1987. (WHO/CDD/83.3 rev 1).

World Health Organization, Epidemiological and Statistical Methodology Unit Sample Size Determination: a Users Manual. Geneva: WHO; 1986.

World Health Organization. *Manual of Basic Techniques for a Health Laboratory*. Geneva: WHO; 1980.

Wright PF, Thompson J, McKee KT Jr., Vaughan WK, Sell SH, Karzon DT. Patterns of illness in the highly febrile young child: epidemiologic, clinical, and laboratory correlates. *Pediatrics* 1981; 67: 694-700.

Yeung KH, Ng LK, Dillon JA. Evaluation of Etest for testing antimicrobial susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with different growth media. *J Clin Microbiol* 1993;31(11):3053-3055.