

## XII. Almacenamiento y envío de los aislamientos

### A. Almacenamiento de los aislamientos

Los cultivos puros de *Vibrio cholerae* suelen conservarse viables durante varios días en medio sólido a temperatura ambiente (22° a 25 °C) mientras el medio no se deshidrate ni se acidifique. Sin embargo, si los cultivos han de mantenerse por varios días, se prepararán adecuadamente para almacenamiento (Figura XII-1). La selección de un método de almacenamiento depende del tiempo que se van a mantener los microorganismos y del equipo de laboratorio y los recursos con que se cuente.

#### 1. Almacenamiento a corto plazo

Los vibriones no se deben almacenar en un medio que contenga carbohidratos, porque los subproductos ácidos del metabolismo rápidamente disminuyen su viabilidad. El agar base de sangre (BAB, en inglés), el agar de tripticasa de soja (TSA), el T<sub>1</sub>N<sub>1</sub> y el agar de infusión de corazón (HIA) son buenos medios de almacenamiento para los vibriones. No se usará el agar nutritivo puesto que no contiene sal y *V. cholerae* no crece adecuadamente como lo haría en un medio con NaCl, como los medios BAB, TSA o HIA. Se prepara un medio de almacenamiento, se distribuye en volúmenes de 3 a 4 ml en tubos pequeños (aproximadamente de 13 × 100 mm) y se esteriliza a 121 °C durante 15 minutos. Mientras los tubos estén todavía calientes, se colocan en posición inclinada para obtener un área pequeña de plano inclinado y un fondo profundo.



Figura XII-1. Diversos métodos de almacenamiento para los aislamientos (izquierda a derecha): un criotubo, cultivo primario en plano inclinado con aceite mineral, tubo de agar con corcho parafinado y un liofilizado.

## *Almacenamiento y envío de los aislamientos*

Para inocular, se introduce la aguja de inoculación por picadura al fondo del medio una o dos veces, luego se estría el plano inclinado. Se incuba de un día para otro a una temperatura de 35° a 37 °C. Se sella el tubo con tapones de corcho previamente empapados en parafina caliente o tratados de alguna otra forma para brindar un cierre hermético. Se almacenan los cultivos a temperatura ambiente (cerca de 22 °C) en la oscuridad. También se puede utilizar aceite mineral estéril para evitar la desecación de los medios de plano inclinado. Se esteriliza aceite mineral en un horno de aire caliente a 170 °C durante una hora. Se agrega suficiente aceite mineral estéril para cubrir los medios hasta 1 cm por arriba del borde más alto del agar. Cuando se requieren subcultivos se recogen las colonias que se encuentran en el plano inclinado. Las cepas mantenidas así en cultivo puro por lo general sobrevivirán varios años.

### **2. Almacenamiento a largo plazo**

Los cultivos bacterianos pueden almacenarse congelados o liofilizados en diversos medios ideados para ese propósito. Hay muchas fórmulas para preparar estos medios pero, en general, se utilizan para la liofilización los medios con leche descremada, con suero o con polivinilpirrolidona (PVP); por el contrario, los medios con leche descremada, con sangre o con caldo con amortiguador y enriquecidos, como el caldo de tripticasa de soja (con 15% a 20% de glicerol de grado reactivo) se utilizan para el congelamiento.

#### ***Método de almacenamiento en congelación (congelador ultrabajo, -70 °C; o congelador de nitrógeno líquido, -196 °C)***

Los vibriones se pueden almacenar por tiempo indefinido si se mantienen congelados a -70 °C o menos.

- 1) Se inocula un tubo de agar con plano inclinado de TSA o HIA (u otro medio de crecimiento, no inhibitorio, que contenga sal) y se incuba de un día para otro a una temperatura de 35° a 37 °C.
- 2) Se toman células del plano inclinado y se hace una suspensión en medio de congelación.
- 3) Se deposita la suspensión en criotubos (viales de congelación ideados especialmente para usarse a temperaturas muy bajas). Precaución: se recomienda no utilizar ampolletas de vidrio para congelación en nitrógeno líquido debido a que pueden estallar al sacarlas del congelador.
- 4) Se congelará rápidamente la suspensión colocando los viales sellados en un baño de alcohol y hielo seco (CO<sub>2</sub> congelado) hasta la congelación. Los viales congelados se transferirán a un congelador.

#### ***Recuperación de los cultivos almacenados en congelación***

- 1) Se colocan los cultivos congelados tomados del congelador en hielo seco o en un baño de alcohol y hielo seco y se transfieren a un gabinete de seguridad del laboratorio o a una zona limpia si no se cuenta con este.

## *Almacenamiento y envío de los aislamientos*

- 2) Se raspa la porción superior del cultivo con un asa estéril y se transfieren las colonias al medio de crecimiento, con mucho cuidado para no contaminar la porción superior o el interior del vial.
- 3) Se cierra nuevamente el vial antes de que el contenido se descongele por completo y se regresa al congelador. Con una técnica cuidadosa, se pueden hacer varias transferencias del mismo vial.

### **Liofilización**

Los vibriones se pueden almacenar satisfactoriamente después de la liofilización (deseccación por congelamiento). El proceso incluye la eliminación del agua de las suspensiones bacterianas congeladas por sublimación bajo presión reducida. Los cultivos liofilizados de vibriones se mantienen mejor a 4 °C.

De preferencia se recomienda llenar las ampollas al vacío.

## **B. Transporte y envío de cultivos y muestras**

### **1. Organizaciones normativas**

El Comité de Expertos en Transporte de Mercancías de Alto Riesgo de las Naciones Unidas formula los procedimientos recomendados para el transporte seguro de estos productos peligrosos. La Organización de Aviación Civil Internacional (OACI) ha utilizado estas recomendaciones como base para la reglamentación del transporte seguro de productos peligrosos por vía aérea. Las normas de la Asociación de Transporte Aéreo Internacional (IATA) contienen todos los requisitos de las instrucciones técnicas de la OACI para el transporte seguro de productos peligrosos. Sin embargo, la IATA ha incluido otros requisitos más restrictivos que los de la OACI. Las aerolíneas afiliadas a la IATA han adoptado las normas de esta sobre productos peligrosos y los transportistas deben cumplirlas, además de cualesquiera de los reglamentos aplicables en el Estado de origen, tránsito o destino.

El embarque aéreo de agentes infecciosos o muestras diagnósticas debe cumplir con los reglamentos locales, nacionales e internacionales. Las normas del transporte aéreo internacional se pueden encontrar en la publicación de la OACI titulada *Dangerous Goods Regulations* [Normas sobre productos peligrosos]. Esta referencia se publica anualmente en enero. Las normas pueden cambiar de un año a otro. Es factible obtener un ejemplar de los reglamentos de la IATA en inglés, español, francés o alemán dirigiéndose a una de las oficinas que se mencionan en seguida.

## Almacenamiento y envío de los aislamientos

Pedidos de América del Norte, Central y del Sur, Asia, Australia y el Pacífico:

Asistente de Publicaciones	Teléfono: (514) 844-6311
Asociación de Transporte	FAX: (514) 844-5286
Aéreo Internacional (IATA)	Télex: 05-267627
2000 Peel Street	Cable: IATA MONTREAL
Montreal, Quebec	Teletipo: YULTPXB
Canadá H3A 2R4	

Pedidos de Europa, África y el Oriente Medio:

Asistente de Publicaciones	Teléfono: (22) 799-25-25
Asociación de Transporte	FAX: (22) 798-35-53
Aéreo Internacional (IATA)	Télex: 415586
IATA Centre	Cable: IATA GENEVA
Route de l'Aéroport 33	Teletipo: GVATPXB
Apartado postal 672	
CH-1215 Ginebra 15	
Suiza	

## 2. Directrices para embalar y rotular sustancias infecciosas

Las directrices que se enuncian a continuación para embalar o empacar sustancias infecciosas se han tomado de la publicación de la IATA de 1992 *Dangerous Goods Regulations*. Se presentan como ejemplo de procedimientos para embalar materiales infecciosos de manera aceptable. Sin embargo, quizá no reflejen los requisitos nacionales, estatales o de la IATA vigentes para embalar y rotular sustancias infecciosas. Para obtener información al día sobre los requisitos de embalaje y rotulación, consúltense los reglamentos nacionales y estatales pertinentes, así como la mencionada publicación de la IATA del año corriente.

Las personas que transporten agentes infecciosos o muestras diagnósticas deben cumplir con todas las normas locales e internacionales pertinentes al empaquetado y manipulación de estos productos. Dichas personas deberán velar por que las muestras lleguen a su destino en buenas condiciones y porque no planteen peligro para los seres humanos ni para los animales durante el transporte.

### Directrices para embarcar o embalar agentes infecciosos

El paquete interno debe incluir:

- Un recipiente primario interno, a prueba de agua
- Un recipiente secundario, resistente a los impactos y a prueba de agua
- Material absorbente entre los recipientes primario y secundario. Si se colocan varios recipientes primarios en un paquete secundario único, deben envolverse individualmente para impedir el contacto entre sí. El

## Almacenamiento y envío de los aislamientos

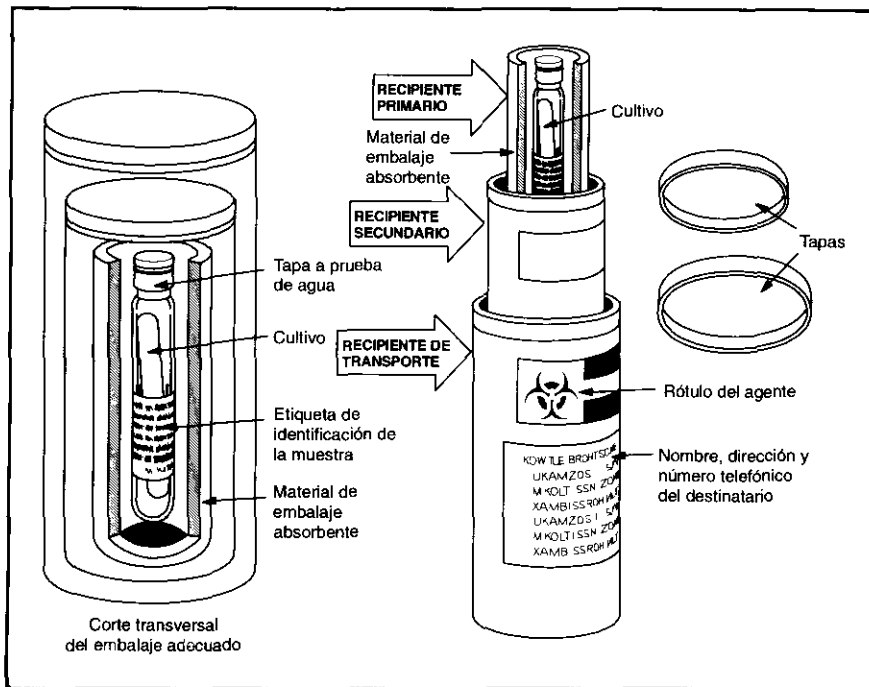


Figura XII-2. Requisitos de empaque para el transporte de agentes infecciosos.

material absorbente, como algodón en rama, debe ser suficiente para absorber el contenido de todos los recipientes primarios.

El paquete externo debe tener suficiente resistencia para proteger y contener adecuadamente el contenido. El diámetro exterior más pequeño del recipiente externo medirá por lo menos 100 mm. Entre el paquete secundario y el paquete externo se incluirá una lista pormenorizada del contenido. Es necesario que los paquetes estén rotulados de manera indeleble y legible en el exterior con la dirección y el número telefónico del destinatario. Se fijará una etiqueta de advertencia de riesgo biológico en el exterior del recipiente externo, y llevará la inscripción "Sustancia infecciosa. En caso de daño o fuga, notifíquese de inmediato a las autoridades sanitarias". La Figura XII-2 ilustra estas recomendaciones de empaque.

### Bibliografía

International Air Transport Association. Annual Publication. "Dangerous Goods Regulations." IATA Publications Office, Montreal, Quebec, Canada.

World Health Organization. Manual for Laboratory Investigations of Acute Enteric Infections. Geneva: World Health Organization, 1987; publication no. WHO/CDD/83.3 rev 1.