	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 1 de 21
---	--	---



Código: GEGMIC 02
Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)

Control de versiones		
Versión	Fecha	Alcance de las modificaciones
01	29-07-15	Elaboración del documento

Autoría
Grupo de Trabajo de la SEIMC sobre Actuación de los Laboratorios de Microbiología en Alertas Microbiológicas



Sugerencia de citación:

Leiva León J, de Oña Navarro M, Galán Montemayor JC, Gimeno Cardona C, Marimón Ortiz de Zárate JM, Navarro Marí JM, Pumarola Suñé T, Cantón Moreno R, Pérez Sáenz JL. Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV). Madrid. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2015.


 	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 2 de 21
---	--	---

ÍNDICE

1	AUTORES.....	4
2	INTRODUCCIÓN	5
3	PREGUNTAS FRECUENTES QUE SE PLANTEAN LOS MICROBIÓLOGOS CLÍNICOS	6
3.1	Sobre casos en investigación, probables o confirmados	6
3.1.1	¿Cuáles son las definiciones de MERS-CoV establecidas por parte de las autoridades sanitarias (Ministerio, Comunidades Autónomas) que indicarían la oportunidad de realizar pruebas diagnósticas específicas?.....	6
3.1.2	¿Cuál es el papel actual del laboratorio de Microbiología en el contexto de una sospecha diagnóstica?.....	7
3.1.3	¿Cómo se podrían organizar los laboratorios en el caso de que se produjeran casos en nuestro país con transmisión secundaria?	7
3.1.4	¿Cuáles son las condiciones generales de bioseguridad requeridas para la manipulación de muestras de un paciente con sospecha o confirmado de infección por el MERS-CoV en el laboratorio de Microbiología?.....	7
3.1.5	¿Quién debe manipular las muestras de pacientes en investigación, probables o confirmados de MERS-CoV?	8
3.1.6	¿Cuáles son los métodos diagnósticos disponibles actualmente?	8
3.1.7	¿Cómo se deben interpretar los resultados de las pruebas diagnósticas?	9
3.1.8	¿Qué muestras son las más adecuadas para la detección de MERS-CoV en pacientes sintomáticos?	9
3.1.9	¿En qué momentos deben ser obtenidas las muestras en pacientes sintomáticos?	9
3.1.10	¿Qué muestras son las más adecuadas para la detección de MERS-CoV en contactos estrechos asintomáticos?.....	10
3.1.11	¿Cómo se deben conservar y transportar al laboratorio de Microbiología las muestras para investigación de MERS-CoV?.....	10
3.1.12	¿Cómo deben remitirse las muestras para diagnóstico específico de MERS-CoV (amplificación de ácidos nucleicos) y otras muestras relacionadas al laboratorio de referencia actual?.....	10
3.1.13	¿Cómo se puede proveer el laboratorio del material y envases homologados para el envío de muestras, y quién realiza el transporte de las mismas?	11
3.1.14	¿Cuál es el momento de mayor capacidad infecciosa de las muestras procedentes de paciente con MERS-CoV?.....	11
3.1.15	¿Qué tipo de equipos de protección individual (EPIs) debe usar la persona encargada del transporte en el hospital? ¿Y quien las recibe en el laboratorio? ¿Y quien deba realizar las pruebas diagnósticas?.....	11
3.1.16	¿Se deben realizar pruebas microbiológicas basadas en cultivo celular?	12
3.1.17	¿Deben procesarse muestras para seguimiento en pacientes con MERS-CoV confirmada?	12

		Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 3 de 21
---	---	--	---

3.1.18	¿Cuántas pruebas diagnósticas de MERS-CoV (amplificación de ácidos nucleicos, PCR) son necesarias para considerar que un paciente ha dejado de ser potencial transmisor de la enfermedad?.....	12
3.1.19	En el caso de un resultado negativo en el contexto de una sospecha alta de MERS-CoV ¿Cuál sería la actitud a tomar desde el punto de vista del laboratorio de Microbiología?.....	13
3.1.20	¿Podrían procesarse muestras procedentes de pacientes en investigación de MERS-CoV en analizadores convencionales de los laboratorios de Bioquímica y Hematología?.....	13
3.1.21	Si es necesario hacer un hemocultivo u otras pruebas microbiológicas a un paciente con MERS-CoV, ¿cómo se recomienda realizar su procesamiento?	13
3.2	Sobre el procesamiento inadvertido de muestras de pacientes con criterios de caso en investigación, probable o confirmado	14
3.2.1	¿Qué se debe hacer en el caso de haber procesado inadvertidamente en el laboratorio muestras de pacientes que cumplían criterios de casos en investigación de MERS-CoV? ¿Y una vez confirmado?	14
3.2.2	¿Qué hacer si, inadvertidamente, se han inoculado cultivos celulares con fines diagnósticos de otras infecciones víricas en un paciente con MERS-CoV?.....	14
3.2.3	En caso de desarrollo en cultivo celular de un posible MERS-CoV (efecto citopático no identificable, etc.) ¿cómo se debe manejar?	15
3.2.4	¿Es necesario descontaminar los autoanalizadores en los que se han procesado inadvertidamente muestras de pacientes con MERS-CoV?	15
3.2.5	¿En qué condiciones y cuánto tiempo sobrevive el virus MERS-CoV en superficies?.....	15
3.2.6	¿Cómo se deben descontaminar las superficies que han estado en contacto con muestras o los materiales susceptibles de portar MERS-CoV?.....	15
3.2.7	¿Cómo se deben inactivar las muestras de pacientes con MERS-CoV?.....	16
3.2.8	¿Cómo se deben manejar los residuos?	16
4	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA	17
5	ANEXOS	19
5.1	Anexo 1. Esquema diagnóstico para un laboratorio que realice el diagnóstico de MERS-CoV.....	19
5.2	Anexo 2. Algoritmo diagnóstico recomendado por la OMS para el MERS-CoV.....	20
5.3	Anexo 3. Formulario de declaración para el envío de muestras categoría B	21

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 4 de 21
---	--	---

1 AUTORES

Grupo de Trabajo de la SEIMC sobre Actuación de los Laboratorios de Microbiología en Alertas Microbiológicas

Coordinadores:

Leiva León, José. Servicio de Microbiología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona.

Pérez Sáenz, José Luis. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca.

Miembros del Grupo:

Cantón Moreno, Rafael. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid.

De Oña Navarro, María. Servicio de Microbiología. Hospital Central de Asturias. Oviedo.

Galán Montemayor, Juan Carlos. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.


Gimeno Cardona, Concepción. Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario. Valencia.

Navarro Marí, José María. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Pumarola Suñé, Tomàs. Servicio de Microbiología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Revisión:

Marimón Ortiz de Zárate, José María. Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Donostia. San Sebastián.

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 5 de 21
---	--	---

2 INTRODUCCIÓN


En Septiembre de 2012 se identificaron los dos primeros casos de infección por un nuevo virus de la familia *Coronaviridae* denominado posteriormente MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*). Desde entonces se han declarado en torno a 1400 casos, con una mortalidad cercana al 40%. La mayor parte de casos se han producido en los países de Oriente Próximo (Arabia Saudí, Jordania, Catar, Omán, Yemen, Emiratos Árabes Unidos, etc.). Con posterioridad, se han detectado casos importados en diversos países occidentales, incluyendo algunos de nuestro entorno geográfico, como Francia, Italia o Grecia. Más recientemente, estamos asistiendo a un brote en Corea del Sur cuyo origen último fue un viajero que procedía de Catar. La fuente de infección más importante son los camélidos (aunque no constituyen el reservorio). Es posible la transmisión interpersonal aunque, por fortuna, no es muy eficiente, necesitando de un contacto estrecho y mantenido. Como ha demostrado el brote de Corea del Sur, la transmisión comunitaria tampoco es sostenida en el tiempo. Sin embargo, las corrientes migratorias actuales y los viajes a Oriente Próximo, por razones religiosas o profesionales, plantean la posibilidad de que se produzcan casos en nuestro país, de ahí la conveniencia de que los profesionales estemos preparados para afrontarlo. La experiencia en Corea del Sur constituye una razón adicional.

La SEIMC, la Sección de Microbiología y el Grupo de Estudio para la Gestión en Microbiología Clínica (GEGMIC), dentro de las funciones de formación continuada de socios y profesionales que les atribuyen sus respectivos Estatutos, han considerado conveniente dar respuesta a algunas cuestiones prácticas que pudieran plantearse a los microbiólogos en el caso hipotético de una sospecha de infección por el MERS-CoV. Con este objetivo, se ha formado un Grupo de Trabajo *ad hoc*.

Al igual que en ocasiones anteriores, este documento se presenta bajo la forma de preguntas y respuestas que se han ordenado en dos grandes grupos: las relacionadas con casos en investigación, probables o confirmados, de acuerdo con los criterios que las autoridades sanitarias tienen establecidos hasta el momento, y las referidas a pacientes en los que no se sospecha inicialmente esta circunstancia pero que, con posterioridad, se demuestra que cumplían dichos criterios.

La forma de llevarlo a cabo fue partiendo de un primer bloque de preguntas y respuestas elaboradas por los coordinadores del Grupo de Trabajo sobre la base de documentos elaborados por organizaciones sanitarias internacionales de prestigio. La lista inicial fue motivo de una discusión general en la que se añadieron más preguntas o se reformularon las existentes. Las preguntas se distribuyeron entre los miembros del Grupo para que elaborasen las respuestas. En el apartado de Bibliografía aparecen las referencias en las que se han basado los autores para responder a las preguntas. Tras una labor de revisión, edición y armonización, el documento fue aprobado por todos sus componentes.

Por razones obvias, el presente documento es dinámico, motivado por la situación cambiante del brote epidémico y el grado de conocimiento acumulado. Está abierto a los comentarios y sugerencias que puedan plantear los socios de la SEIMC u otros profesionales. La SEIMC y el Grupo de Trabajo agradecen de antemano su colaboración.

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 6 de 21
---	--	---

3 PREGUNTAS FRECUENTES QUE SE PLANTEAN LOS MICROBIÓLOGOS CLÍNICOS

3.1 Sobre casos en investigación, probables o confirmados


Como se ha señalado anteriormente, los criterios definitorios de caso en investigación, probable o confirmado son los establecidos por las autoridades sanitarias. Por lo tanto, las preguntas y respuestas que ahora se presentan son acordes con los criterios vigentes en este momento.

3.1.1 ¿Cuáles son las definiciones de MERS-CoV establecidas por parte de las autoridades sanitarias (Ministerio, Comunidades Autónomas) que indicarían la oportunidad de realizar pruebas diagnósticas específicas?

Las autoridades sanitarias establecen tres definiciones de infección por MERS-CoV que requieren la realización de pruebas diagnósticas:

a) **Caso en investigación** que incluye:

- Persona con enfermedad febril respiratoria aguda (evidencia clínica, radiológica o histopatológica de enfermedad pulmonar parenquimatosa) que requiere ingreso en el hospital, con historia de viaje a la Península Arábiga o países vecinos, dentro de los 14 días previos al inicio de síntomas y en la que no se haya identificado otra causa de enfermedad que pueda explicar la sintomatología mediante las pruebas indicadas para neumonía adquirida en la comunidad, de acuerdo con las guías clínicas existentes.
 - Persona con enfermedad febril respiratoria aguda, de cualquier nivel de gravedad, que en los 14 días previos al inicio de síntomas haya tenido un contacto estrecho con un caso sintomático confirmado de infección por MERS-CoV. Se entiende como contacto estrecho:
 - Cualquier persona que haya proporcionado cuidados a un caso confirmado durante el período sintomático, como los trabajadores sanitarios que no utilizaron las medidas de protección adecuadas, o los familiares o cuidadores que hayan tenido un contacto físico similar.
 - Personas que hayan estado en el mismo lugar que un caso sintomático confirmado, como los convivientes, quienes le hayan visitado en el hospital o hayan compartido el ambiente laboral o escolar.
 - Por lo que respecta a los viajes en avión, tienen esta consideración los pasajeros situados entre las dos filas anteriores y posteriores a la del caso índice, así como los miembros de la tripulación que hayan tenido contacto con un caso sintomático confirmado.
 - Grupo hospitalario de dos o más personas con infección respiratoria aguda grave, con inicio de síntomas dentro del mismo periodo de 14 días y que están asociados con una localización específica (centro escolar, lugar de trabajo, hogar, familia, hospital u otra institución residencial, cuarteles militares o campamentos recreativos), independientemente del lugar de residencia o historia de viaje y no explicado por otra causa o etiología.
- b) **Caso probable**, caso en investigación en el que no exista la posibilidad de tener una confirmación por laboratorio, o los resultados del laboratorio sean no concluyentes (prueba positiva por PCR a una única región genómica, resultado negativo en muestra inadecuada o resultado positivo en una única muestra de suero sin confirmación por técnicas moleculares en muestras respiratorias).

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 7 de 21
---	--	---

- c) **Caso confirmado.** La confirmación requiere la detección del virus por técnicas de PCR realizadas en dos regiones genómicas diferentes o por determinación de la secuencia específica del virus, o la demostración de seroconversión (aumento de 4 veces los títulos de anticuerpos) en dos muestras de suero recogidas con al menos 14 días de separación mediante técnicas de cribado (ELISA o IFA) o ensayos de neutralización.

3.1.2 ¿Cuál es el papel actual del laboratorio de Microbiología en el contexto de una sospecha diagnóstica?

Los casos en investigación y los casos confirmados se notificarán, de forma urgente, a los correspondientes Servicios o Departamentos de Salud Pública de las Comunidades Autónomas quienes, a su vez, se encargarán de hacerlo al Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES) del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

En el momento actual, en el caso de que se identificara algún paciente en el que estuviera indicado investigar la infección por el MERS-CoV, las muestras clínicas se enviarán al Centro Nacional de Microbiología (CNM). Para asegurar una buena coordinación, se recomienda contactar con el Área de Orientación Diagnóstica de CNM previamente al envío de éstas, mediante correo electrónico (cnm-od@isciii.es) o telefónicamente (918223701 ó 918223601; fuera del horario laboral 607189076).


3.1.3 ¿Cómo se podrían organizar los laboratorios en el caso de que se produjeran casos en nuestro país con transmisión secundaria?

Si la evolución futura de la epidemia elevase el nivel de riesgo actual en nuestro país (aumento notable de casos importados, casos secundarios, etc.), sería aconsejable establecer un grupo de laboratorios donde llevar a cabo la confirmación diagnóstica del MERS-CoV por técnicas moleculares o serológicas validadas, lo que permitiría reducir la demora. Muchos laboratorios de Microbiología, incluso en este momento, están técnicamente capacitados para hacerlo. Los laboratorios que formasen parte de esta red debieran elegirse por criterios de eficiencia y consideraciones organizativas (intensidad de la epidemia, localización geográfica, nivel de capacitación, etc.) y sería oportuno que trabajasen en red.

Ante un caso en investigación, la realización rápida de pruebas moleculares ocuparía el lugar central del algoritmo diagnóstico en los laboratorios (ver **anexo 1**). En este escenario, el envío paralelo de una alícuota de las muestras al CNM para confirmación del diagnóstico parece una opción razonable.

3.1.4 ¿Cuáles son las condiciones generales de bioseguridad requeridas para la manipulación de muestras de un paciente con sospecha o confirmado de infección por el MERS-CoV en el laboratorio de Microbiología?

En todo momento se deben seguir las disposiciones y regulaciones de las autoridades sanitarias nacionales y autonómicas. Los laboratorios que manipulen las muestras para su derivación deberán seguir procedimientos de nivel 2 de contención biológica (NCB2) y vestir los EPIs apropiados (ver más adelante). El mismo nivel de seguridad se requiere para el procesamiento diagnóstico de estas muestras, con la única salvedad de que todos aquellos procesos que pudieran generar aerosoles deberán hacerse en cabina de seguridad biológica tipos II o III recientemente certificadas. La centrifugación se llevará a cabo en aparatos dotados de cestillos de seguridad (cerrados).

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 8 de 21
---	--	---

En estos momentos, no se recomienda –ni existe la necesidad de– realizar procedimientos diagnósticos basados en el cultivo, para los que se requiere laboratorios con un nivel de contención 3 (NCB3).

3.1.5 ¿Quién debe manipular las muestras de pacientes en investigación, probables o confirmados de MERS-CoV?

Desde el punto de vista de seguridad biológica, la derivación, acondicionamiento y transporte de las muestras a centros de referencia externos no debe plantear problemas. Pueden ser llevadas a cabo en cualquier centro hospitalario, con la adopción de precauciones de contacto, por gotas y vía aérea. En la práctica, la atención de pacientes con sospecha de MERS-CoV se realizará, con gran probabilidad, en centros asistenciales del mayor nivel, que son también los que disponen de mejores infraestructuras. El procesamiento de las muestras destinadas al diagnóstico se llevará a cabo en los laboratorios de Microbiología, que tienen equipos apropiados y personal entrenado en procedimientos de seguridad biológica. Si no lo han hecho previamente por otras razones, es recomendable que los laboratorios de Microbiología revisen su propia autoevaluación del riesgo para asegurarse de que son competentes para llevar a cabo las técnicas de diagnóstico para MERS-CoV, y que tienen en práctica los planes de emergencia y contingencia apropiados. Las pruebas bioquímicas y hematológicas necesarias para el correcto manejo de los pacientes en investigación, probables o confirmados de infección por el MERS-CoV pueden ser llevadas a cabo en los laboratorios y con los equipos habituales de los centros hospitalarios, como más adelante se especifica.


3.1.6 ¿Cuáles son los métodos diagnósticos disponibles actualmente?

El diagnóstico de infección por MERS-CoV se basa en la detección por PCR a tiempo real (rRT-PCR) de al menos dos regiones del genoma, o la amplificación de un blanco genético diferente seguido de su secuenciación.

El algoritmo diagnóstico debe iniciar con una prueba altamente sensible que consiste en la amplificación de la región adyacente (*upstream*) al gen de la proteína E, (*upE*). En el caso de detectar señal de amplificación, se realizará una segunda PCR, en un fragmento del marco de lectura abierto 1a (ORF1a); para confirmación, también se puede considerar la amplificación de otros blancos genéticos incluyendo el ORF1b, y el gen de la nucleocápside (N). Por otro lado, la confirmación diagnóstica también puede ser complementada con la secuenciación de una región del gen de la RNA polimerasa (*RdRp*) o del gen N.7.

Respecto a las pruebas serológicas, se han desarrollado y publicado diferentes pruebas y plataformas para la detección de anticuerpos dirigidos a MERS-CoV, incluyendo ELISA, IFI y neutralización. Sin embargo, las pruebas serológicas requieren de una cuidadosa interpretación y su realización se indica sólo bajo dos circunstancias:

- Para definir un caso de MERS-CoV si no es posible acceder a métodos moleculares: un caso puede ser confirmado por serología únicamente si se tiene un resultado positivo por una prueba de cribado (ELISA, IFI) en una muestra de fase aguda, y se evidencia seroconversión (aumento de hasta 4 veces el título) en una segunda muestra obtenida al menos 14 días después de la primera, con una prueba específica de neutralización. Una muestra única con un resultado positivo (con prueba de cribado y neutralización) es indicativa tan sólo de caso probable.
- Para encuestas serológicas en una población o investigación de exposición previa: como normalmente sólo se cuenta con una muestra de suero en dichas encuestas, la interpretación

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 9 de 21
---	--	---

será para caso probable (resultado positivo con pruebas de cribado y neutralización) y sólo indicará infección pasada. No será posible determinar el momento de la infección.

3.1.7 ¿Cómo se deben interpretar los resultados de las pruebas diagnósticas?

La Organización Mundial de la Salud (OMS) propone el algoritmo diagnóstico que se muestra en el **anexo 2**. A modo de resumen, si los ensayos de PCR a tiempo real frente a dos dianas distintas (de cribado y confirmatorios) son positivos, se considera caso confirmado, pero si el ensayo de confirmación es negativo hay dos opciones: una es amplificar y secuenciar un fragmento distinto y la otra obtener otra nueva muestra y enviarla al laboratorio de referencia para MERS-CoV, en este momento el CNM.


En el caso de que la PCR de cribado sea negativa y exista sospecha epidemiológica y clínica evidente, también está indicado obtener una nueva muestra, pues la carga viral puede ser baja aún y no ser detectable en esta primera muestra. Asimismo, deben de ser considerados dentro del proceso diagnóstico otros patógenos respiratorios virales que incluyen el virus de la gripe, virus sincitial respiratorio, y otros beta y alphacoronavirus humanos comunes, así como algunos patógenos respiratorios bacterianos como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* tipo b y *Legionella pneumophila*.

3.1.8 ¿Qué muestras son las más adecuadas para la detección de MERS-CoV en pacientes sintomáticos?

El principal receptor celular que se ha descrito para el MERS-CoV (dipeptidil peptidasa 4, DPP4) se ha detectado fundamentalmente en células del tracto respiratorio inferior. En principio, se recomienda tomar muestras tanto de vías respiratorias inferiores (lavado broncoalveolar, aspirado traqueal y esputo; esputo inducido en niños) como superiores (exudados nasofaríngeos y orofaríngeos), utilizando escobillones adecuados para diagnóstico virológico, de fibra sintética y vástago de plástico, mezclados en un mismo vial, con medio de transporte para virus o aspirado/lavado nasofaríngeo. Adicionalmente a las muestras respiratorias, una muestra de suero es también válida para la detección directa del virus. El suero, además, es útil para el diagnóstico serológico del proceso. Otras muestras en las que puede detectarse MERS-CoV, aunque en menor concentración, son las heces y la orina. Su uso suele limitarse al conocimiento evolutivo de la excreción del virus en pacientes ya diagnosticados, lo que puede tener interés para la prevención y control de la infección basada en criterios racionales. En la pregunta siguiente se establecen recomendaciones sobre número de muestras y momento de obtención.

3.1.9 ¿En qué momentos deben ser obtenidas las muestras en pacientes sintomáticos?

En general, el momento adecuado de la obtención de las muestras respiratorias (tracto inferior y superior) destinadas al diagnóstico mediante RT-PCR sería lo antes posible tras el comienzo de los síntomas. Si son negativas y la evidencia clínica y epidemiológica son altas, se recomienda enviar nuevas muestras pasadas 48 h antes de descartar el caso. En caso de positividad se debe controlar la evolución enviando muestras seriadas cada 2-4 días, hasta negativización de 2 muestras consecutivas separadas un mínimo 48 h, a expensas de que el paciente presente una mejoría clínica manifiesta. El suero de fase aguda se recogerá dentro de los primeros 14 días tras el comienzo de los síntomas (serología y detección mediante RT-PCR). El de la fase convaleciente se obtendrá más allá de 14 días tras el comienzo de los síntomas. Si se ha tomado suero de fase aguda, debe existir un intervalo de 2-3 semanas entre ambos para poder demostrar seroconversión. En los casos positivos, durante la fase de convalecencia, es recomendable

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 10 de 21
---	--	--

estudiar también otras muestras como heces y orina para controlar el tiempo de excreción del virus. Para el diagnóstico serológico, dada la nula incidencia de infección en nuestro medio, si el caso sospechoso es de un residente en España que ha viajado a zonas de riesgo, bastaría con tomar una sola muestra de suero pasados al menos 14 días desde el inicio del proceso. Si se trata de un residente habitual de zonas de riesgo se debe tomar una muestra de suero en la fase aguda y posteriormente otra tras 2-3 semanas de evolución.

3.1.10 ¿Qué muestras son las más adecuadas para la detección de MERS-CoV en contactos estrechos asintomáticos?

Cualquier persona que cumpla la definición de contacto estrecho debe observar, durante los 14 días posteriores a la exposición, la aparición de síntomas respiratorios. Adicionalmente, se deberán recoger los datos epidemiológicos y una muestra de suero de los 7 primeros días. Si el contacto continúa asintomático, se recogerá una segunda muestra de suero a los 21 días. En el caso que hubieran pasado más de 28 días desde la exposición, tan sólo se recogerá una muestra de suero. En contactos menores de 5 años de edad no es necesario recoger muestras de suero. En los contactos que presenten enfermedad respiratoria de cualquier gravedad dentro de los 14 días después de la exposición se deberá investigar la presencia de infección por MERS-CoV y se procederá como un caso sintomático.

3.1.11 ¿Cómo se deben conservar y transportar al laboratorio de Microbiología las muestras para investigación de MERS-CoV?

De acuerdo con las recomendaciones de la OMS, las muestras deben llegar al laboratorio tan pronto como sea posible tras su obtención. La correcta manipulación se considera, asimismo, esencial. Si la entrega de las muestras es rápida, se pueden mantener y transportar refrigeradas a 2-8°C, pero si se prevé una demora superior a 72 h, deben congelarse a -70°C o inferior lo más rápidamente posible tras su obtención. Por lo que respecta a las muestras de sangre para diagnóstico serológico, se debe separar el suero lo antes posible por centrifugación, siguiendo las normas de seguridad biológica señaladas anteriormente. Se puede mantener y transportar refrigerado, pero si el transporte se demora más de 72 h, es aconsejable proceder a congelarlo. Todas las muestras congeladas deberán enviarse en hielo seco. Es importante evitar congelaciones y descongelaciones sucesivas e innecesarias.

3.1.12 ¿Cómo deben remitirse las muestras para diagnóstico específico de MERS-CoV (amplificación de ácidos nucleicos) y otras muestras relacionadas al laboratorio de referencia actual?

Con el fin de que las muestras lleguen al laboratorio lo antes posible, es importante que exista una buena coordinación y comunicación entre el personal que atiende al paciente, que es quien obtiene la muestra, y el personal de laboratorio de Microbiología, que se encarga de recoger y custodiar la muestra y su posterior envío al laboratorio de referencia.

Todas las muestras recogidas para diagnóstico deben ser tratadas como potencialmente infecciosas. Aquellas procedentes de individuos con infección posible (o confirmada) por MERS-CoV (clasificadas como categoría B), se debe trabajar en un nivel 2 de bioseguridad (NCB-2). Para el transporte de las muestras, se hará siguiendo la normativa internacional, con un sistema de triple embalaje como recomienda la OMS desde 1 de enero de 2015.

Una vez que llega muestra al laboratorio de Microbiología, se debe evaluar, en función de la evidencia clínica y epidemiológica, la oportunidad de realizar pruebas diagnósticas para otros

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 11 de 21
--	--	--

patógenos respiratorios que rutinariamente se realizan en cada centro. La obtención de estos resultados no debe condicionar, en ningún momento, la estrategia diagnóstica establecida para el MERS-CoV, ni demorar el envío de las muestras al laboratorio de referencia.

3.1.13 ¿Cómo se puede proveer el laboratorio del material y envases homologados para el envío de muestras, y quién realiza el transporte de las mismas?

Existen diversos proveedores comerciales que pueden suministrar envases para el envío de las muestras a otros centros. Algunas empresas de mensajería autorizadas también pueden suministrarlos. Es importante asegurarse de que tienen la homologación “Sustancia Infecciosa Categoría B” (UN 3373), los mismos que se utilizan para el envío regulado de muestras destinadas al diagnóstico de otros agentes biológicos de nivel de biopeligrosidad 2-3. Las características de estos envases pueden encontrarse en el Procedimiento SEIMC 10a Seguridad en el Laboratorio de Microbiología Clínica y en otros documentos técnicos. Se acompañará de un formulario de declaración específico que se adjunta en el exterior del envase terciario (ver **anexo 3**).

Las muestras destinadas al diagnóstico del MERS-CoV pueden transportarse refrigeradas, excepto si han sido congeladas previamente, en cuyo caso deben remitirse en hielo seco. Si así fuera, se recuerda que este tipo de envío debe acompañarse de un formulario de declaración específico y el etiquetado externo correspondiente.


La mayor parte de empresas de mensajería habituales están autorizadas para llevar a cabo el transporte de estas muestras, pero conviene asegurarse de que es así, especialmente si se tiene que utilizar la vía aérea. Los centros hospitalarios suelen disponer de acuerdos con empresas de mensajería que cumplen estos requisitos.

3.1.14 ¿Cuál es el momento de mayor capacidad infecciosa de las muestras procedentes de paciente con MERS-CoV?

El momento de mayor riesgo ocurre durante el proceso de la toma de la muestra debido a la posibilidad de generar aerosoles. Los procedimientos que pueden generar más riesgo de aerosolización incluyen: broncoscopia, inducción de esputo, intubación y extubación de reanimación cardiopulmonar y aspiración de las vías respiratorias abiertas. Por ello, todos los trabajadores sanitarios que recogen muestras clínicas bajo estas circunstancias deben llevar el Equipo de Protección Individual (EPI) adecuado para minimizar la posibilidad de exposición al virus. Este EPI debe incluir bata desechable de manga larga, mascarilla FFP3 (no adecuado para personas con barba y último componente que se quita), guantes, y protector facial o gafas. Similares observaciones pueden inferirse en el laboratorio. Si fuera necesario abrir la muestra sospechosa se abriera en una cabina de seguridad biológica tipo II o III.

3.1.15 ¿Qué tipo de equipos de protección individual (EPIs) debe usar la persona encargada del transporte en el hospital? ¿Y quien las recibe en el laboratorio? ¿Y quien deba realizar las pruebas diagnósticas?

Todas las muestras deben ser consideradas potencialmente infecciosas. Aunque queda fuera del ámbito de este documento, se debe señalar que la obtención de muestras, en especial respiratorias, constituye uno de los momentos de mayor riesgo de transmisión del MERS-CoV. Referimos al lector al documento de manejo clínico de la infección por este virus, que han desarrollado la SEIMC y el Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria (GEIH) paralelamente al presente documento microbiológico.

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 12 de 21
---	--	--

El transporte al laboratorio debe realizarse en contenedores cerrados, y será realizado por personal que vestirá bata desechable y guantes no estériles de un solo uso. No se utilizará el sistema de tubo neumático, para evitar incidencias mecánicas que pudieran crear aerosoles. Los mismos EPIs serían adecuados para quienes efectúen la recepción de las muestras en el laboratorio.

El personal que procesa las muestras de casos en investigación, probables o confirmados debe vestir bata de manga larga desechable, guantes no estériles de un solo uso y mascarilla FFP2. Estos procesos se llevarán a cabo, preferentemente, en cabina de seguridad biológica tipo II o III recientemente certificadas. Para cualquier proceso que entrañe un riesgo de aerosolización (por ejemplo, descontaminar una centrífuga en la que se ha producido la rotura de tubos), se debe añadir un protector facial y utilizar una mascarilla FFP3.

3.1.16 ¿Se deben realizar pruebas microbiológicas basadas en cultivo celular?

Los algoritmos recomendados para el diagnóstico y confirmación de la infección por el MERS-CoV incluyen como pruebas diagnósticas las basadas en métodos moleculares o serológicos, pero no el aislamiento del virus en cultivos celulares. Esta metodología se reserva exclusivamente a centros de referencia cualificados. El trabajo con cultivos celulares requiere condiciones NCB-3.

En ciertas circunstancias, pero no para el diagnóstico de rutina, los laboratorios con adecuada experiencia y que dispongan de instalaciones NCB-3 pueden intentar aislar el virus. Un escenario posible es que el cultivo del virus se produzca de forma no intencionada, por ejemplo en el contexto de la temporada de gripe. En ese caso y ante cultivo viral procedente de muestras respiratorias que no esté identificado y se sospeche MERS-CoV, éste debe ser introducido rápidamente en un laboratorio NCB-3 para la realización de las pruebas que permitan su identificación. Entre las líneas celulares susceptibles de sustentar el desarrollo de MERS-CoV se encuentra LLC-MK2 y Vero. Toda la actividad que se realice en este aspecto debe estar coordinada con el laboratorio de referencia del CNM.

3.1.17 ¿Deben procesarse muestras para seguimiento en pacientes con MERS-CoV confirmada?

En los casos confirmados se recomienda la toma de muestras secuencial (muestras del tracto respiratorio y de otras muestras como sangre, orina y heces) para comprobar la evolución de la carga viral en estos pacientes. Los resultados permiten tomar decisiones sobre medidas de control. Se debe tomar muestras de forma continua hasta que haya dos muestras consecutivas negativas. Se recomienda tomar muestras cada 2-4 días. Para el cese de las medidas de aislamiento, dos muestras negativas obtenidas en días consecutivos pueden ser suficientes.

3.1.18 ¿Cuántas pruebas diagnósticas de MERS-CoV (amplificación de ácidos nucleicos, PCR) son necesarias para considerar que un paciente ha dejado de ser potencial transmisor de la enfermedad?

La probabilidad de detección de genoma de MERS-CoV es alta durante los primeros 7 días tras el inicio de síntomas. El ARN viral ha sido detectado en muestras del tracto respiratorio bajo hasta 14 días después del inicio del cuadro agudo. Teniendo en cuenta que los mecanismos de transmisión no han sido claramente establecidos, se puede considerar tomar muestras a un paciente ya confirmado, al menos cada 2-4 días hasta obtener dos 2 resultados negativos consecutivos.

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 13 de 21
--	--	--

3.1.19 En el caso de un resultado negativo en el contexto de una sospecha alta de MERS-CoV ¿Cuál sería la actitud a tomar desde el punto de vista del laboratorio de Microbiología?

Si el resultado es negativo y persisten las evidencias clínicas sugerentes de infección por MERS-CoV, se repetirá el diagnóstico con nuevas muestras del tracto respiratorio inferior y superior. Estas muestras serán tomadas con una periodicidad que dependerá de la evolución clínica del paciente.

3.1.20 ¿Podrían procesarse muestras procedentes de pacientes en investigación de MERS-CoV en analizadores convencionales de los laboratorios de Bioquímica y Hematología?

Sí. Las muestras procedentes de pacientes con sospecha de MERS-CoV pueden procesarse en los modernos analizadores utilizados en Bioquímica, incluyendo gasometrías, y en Hematología, por varias razones: a) las muestras habituales en estos laboratorios (sangre completa, suero, plasma, orina) no suelen presentar cargas elevadas de virus viables; b) el MERS-CoV no es más resistente a los agentes externos y a los desinfectantes que otros virus (VIH-1, hepatitis B y C, virus respiratorios comunes, etc.) que infectan a pacientes a los que se les indican las pruebas de laboratorio habituales; c) muchos de estos analizadores son sistemas “cerrados”, esto es, que una vez que se carga la muestra todo el proceso se lleva a cabo en un ambiente prácticamente sellado. El personal de laboratorio debe adoptar precauciones de seguridad comunes a otros agentes infecciosos (nivel de contención 2) y vestir los EPIs correspondientes (bata y guantes).


Se recomienda que estos laboratorios revisen los procedimientos preanalíticos y preparatorios que pudieran originar aerosoles y, si se diera esta circunstancia, deberán llevarlos a cabo en cabinas de seguridad biológica tipo II o tipo III certificadas recientemente. La rotura de un tubo durante el centrifugado representa un riesgo real de transmisión del MERS-CoV por lo que, si se tiene constancia de muestras de este tipo, se deberían utilizar centrifugas con cestillos de seguridad. La descontaminación de las centrifugas, en caso de rotura, se efectuará por personal entrenado en prácticas de seguridad con los EPIs adecuados, incluyendo mascarilla FFP3.

Si, accidentalmente, se produjese un vertido biológico en este tipo de laboratorios, deben seguirse los procedimientos establecidos para cualquier otro derrame y proceder a desinfectar las superficies y materiales según se especifica más adelante.

Debido a la elevada dilución a que se somete la muestra y los procedimientos de limpieza y descontaminación que se llevan a cabo en los analizadores, el riesgo de infección derivados de la eliminación de los residuos generados por los autoanalizadores es prácticamente inexistente, por lo que no es necesario adoptar prácticas especiales a este respecto.

3.1.21 Si es necesario hacer un hemocultivo u otras pruebas microbiológicas a un paciente con MERS-CoV, ¿cómo se recomienda realizar su procesamiento?

Adicionalmente a las consideraciones anteriores respecto de la obtención y manipulación de las muestras, se han de utilizar frascos de plástico (si es posible, evitar los de vidrio), y nunca se deberá utilizar el tubo neumático para el transporte al laboratorio. Los frascos se procesarán en cabina de seguridad biológica tipo II siguiendo las precauciones universales recomendadas en el laboratorio de Microbiología.

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 14 de 21
---	--	--

3.2 Sobre el procesamiento inadvertido de muestras de pacientes con criterios de caso en investigación, probable o confirmado

3.2.1 ¿Qué se debe hacer en el caso de haber procesado inadvertidamente en el laboratorio muestras de pacientes que cumplían criterios de casos en investigación de MERS-CoV? ¿Y una vez confirmado?


En el caso de que un paciente no fuera detectado en la puerta de entrada al hospital, se hubieran enviado muestras al laboratorio de Microbiología y éstas se hubieran procesado inadvertidamente, las actuaciones a realizar serán:

- Notificación urgente a los Servicios de Medicina Preventiva y de Prevención de Riesgos Laborales del hospital. Fuera de horario laboral, se debe contactar inmediatamente con el Jefe de Guardia.
- Realizar las actuaciones necesarias previamente consensuadas y protocolizadas con los Servicios anteriores y el Servicio de Urgencias dirigidas a:
 - Eliminar las muestras en doble bolsa cerrada herméticamente. Esta bolsa se debe verter en un contenedor de residuos del grupo III.
 - Determinar el circuito que han realizado las muestras.
 - Identificar el personal que ha estado en contacto y cuantificar el riesgo de infección. Valorar la clasificación del profesional como contacto de caso en investigación.
 - Proceder a la limpieza y desinfección de superficies.
 - Detectar y desinfectar el instrumental y aparatos donde se han procesado las muestras.

3.2.2 ¿Qué hacer si, inadvertidamente, se han inoculado cultivos celulares con fines diagnósticos de otras infecciones víricas en un paciente con MERS-CoV?

El MERS-CoV, es capaz de replicarse en numerosas líneas celulares de origen humano y de otros mamíferos, habitualmente usadas en los laboratorios que utilizan técnicas de aislamiento de virus (p.e Vero E6, A549, LLC-MK2). El procesamiento inicial de cualquier muestra que se inocule en cultivos celulares, respiratoria o no, independientemente de la sospecha diagnóstica, se debe hacer minimizando la generación de aerosoles y gotas, y utilizando medidas de protección adecuadas, siempre en cabinas de seguridad biológica clase II o III y provistos de los correspondientes EPI (fundamentalmente mascarilla y guantes). Aparte de la inoculación inicial, si se realiza la técnica de *shell-vial*, todos los procedimientos de decantado de medio de inoculación y fijación de la muestra previos a la tinción deben realizarse también de acuerdo a las medidas de seguridad descritas.

Manteniendo estas premisas, la inoculación accidental de cultivos celulares con muestras de pacientes sospechosos o confirmados de estar infectados por MERS-CoV no supone un riesgo adicional para los profesionales que trabajen con ellas y que suelen estar entrenados en prácticas de seguridad. Una vez que conocemos que el paciente es sospechoso de sufrir una infección por MERS-CoV, los cultivos deben seguir incubándose, sin manipulación adicional, hasta conocer los resultados de las técnicas de RT-PCR. Si el caso se descarta, se puede seguir con su procesamiento con el fin de detectar otros posibles agentes etiológicos del cuadro clínico. Si, por el contrario, se confirma el diagnóstico, se debe contactar con el laboratorio de referencia, para coordinar la actitud a seguir.

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 15 de 21
---	--	--

3.2.3 En caso de desarrollo en cultivo celular de un posible MERS-CoV (efecto citopático no identificable, etc.) ¿cómo se debe manejar?

El MERS-CoV, se replica en líneas celulares sensibles, provocando en la mayoría de las ocasiones un efecto citopático (ECP) visible a partir de las 48 h de incubación. Cualquier manipulación de cultivos celulares infectados por MERS-CoV (o sospechosos de estarlo), se debe realizar en áreas con nivel de seguridad tipo 3 y con prácticas de nivel 3. Por tanto, si en alguna de las líneas celulares inoculadas con muestras de un paciente sospechoso o confirmado de tener infección por MERS-CoV se detecta ECP, debemos abstenernos de manipularlas fuera de un área que no cumpla estos requisitos. Si el laboratorio dispone de un área con nivel 3, toda la actividad que se realice en torno a los cultivos celulares infectados se ha de coordinar con el laboratorio de referencia designado por las autoridades sanitarias, en nuestro caso el CNM.

3.2.4 ¿Es necesario descontaminar los autoanalizadores en los que se han procesado inadvertidamente muestras de pacientes con MERS-CoV?

De acuerdo con la información disponible actualmente, el MERS-CoV no presenta una particular resistencia a los sistemas de desinfección en comparación con otros virus respiratorios comunes, por lo que no existen razones para recomendar la instauración de procedimientos de descontaminación especiales en caso de que se haya procesado inadvertidamente muestras de pacientes en investigación, probables o confirmados de infección por el MERS-CoV. Se debe prestar especial atención a aquellos procedimientos preparatorios de las muestras que hubieran podido generar aerosoles y, en consecuencia, contaminar superficies anejas a los autoanalizadores. La descontaminación se efectuará de acuerdo con lo especificado más abajo.


3.2.5 ¿En qué condiciones y cuánto tiempo sobrevive el virus MERS-CoV en superficies?

En un estudio comparativo, el MERS-CoV tuvo una supervivencia en superficies superior al virus de la gripe A(H1N1). Se puede recuperar de superficies plásticas y metálicas después de 48 h, mientras que, a partir de las 4 h, no se recuperan virus viables de gripe A(H1N1). Las condiciones óptimas de supervivencia del MERS-CoV son a temperatura de 20°C (cuanto más calor, más baja es su supervivencia) y a humedad relativa baja (7% de pérdida de viables a 40% de humedad y 70% de pérdida a 70% de humedad). Esta observación sirve para apoyar que, en la Península Arábiga, la transmisión sea por contacto directo, ya que las altas temperaturas en esa región suponen una disminución importante de la transmisión por fómites.

3.2.6 ¿Cómo se deben descontaminar las superficies que han estado en contacto con muestras o los materiales susceptibles de portar MERS-CoV?

Según el informe del Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES) del Ministerio de Sanidad y Servicios Sociales, los residuos de muestras procedentes de personas sospechosas de infección por MERS-CoV, se consideran residuos de clase III. A efectos prácticos, por razones de bioseguridad bajo criterios conservadores, se tratarán de manera similar a como se hace con la tuberculosis.

La limpieza y desinfección de las superficies se realizará con un desinfectante incluido en la política de limpieza y desinfección del centro sanitario. El MERS-CoV se inactiva tras contacto de 5 min con desinfectantes normales como la lejía doméstica (dilución 1:50 de una lejía con concentración 40-50 g/L preparada recientemente). En todo el proceso, siguiendo las medidas de

	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 16 de 21
---	--	--

seguridad, el personal de limpieza deberá llevar los EPIs adecuados (bata, guantes, respirador FFP2. Si ha habido riesgo de producción de aerosoles, el respirador a utilizar será FFP3.

3.2.7 ¿Cómo se deben inactivar las muestras de pacientes con MERS-CoV?

En los procedimientos preparatorios, se deben seguir las recomendaciones de la pregunta anterior, en particular prestando atención al riesgo de aerosolización. Por lo general, no es necesario seguir un procedimiento particular de inactivación antes de ser procesadas las muestras de suero destinadas a la detección de anticuerpos. El tratamiento con Triton® X-100 (10 µL de Triton® X-100 por 1 mL de suero) inactiva los virus envueltos y podría ser una alternativa en situaciones concretas.

Para las muestras destinadas a la detección genómica, la inactivación puede lograrse añadiendo 1 mL de tampón de lisis que contenga isocianato de guanidina (6M), 30% de Triton® X-100, Tris-HCl (100 mM). Algunos tampones de lisis de sistemas de extracción de ácidos nucleicos comerciales (MagNa Pure®) añaden 0,01% de azul de bromofenol.

Una vez que la muestra sea desechada, se le puede añadir hipoclorito sódico o lejía antes de introducirla en el contenedor apropiado para su posterior eliminación por parte del gestor de residuos de cada hospital.

3.2.8 ¿Cómo se deben manejar los residuos?

Para asegurar un sistema seguro de trabajo se deben seguir los protocolos de descontaminación, mantenimiento y eliminación de residuos utilizados habitualmente para otro tipo de microorganismos con el riesgo de propagación y mecanismo de transmisión similar. Los residuos se consideran residuos de clase III o como residuos biosanitarios especiales. La incertidumbre existente en este momento con respecto al modo de transmisión obliga a ser más conservador y considerarlo como residuo Biosanitario Especial del Grupo 3, (similar a la tuberculosis).

Estos residuos se han de acumular en envases exclusivos separados de cualquier otro tipo de residuo generado en el laboratorio. La retirada y almacenamiento de residuos se ha de realizar tan pronto como sea posible y, en el caso de los residuos punzantes o cortantes, debe hacerse de forma inmediata a su generación. Se recogerán en contenedores de un sólo uso, de polietileno o de poliestireno, de manera que permitan la incineración completa, que sean resistentes a los agentes químicos y a los materiales perforantes y que dispongan de cierre hermético especial.

	<p>Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)</p>	<p>Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 17 de 21</p>
---	---	---

4 BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedraza E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. En: Pérez Sáenz JL (coord.). Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica (Procedimiento 10a). Madrid. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2014.

Centres for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from patients under investigation for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV). Version 2.1.2015. Guidelines for clinical specimens. Último acceso: 29 de julio de 2015. Accesible en:
<http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/downloads/guidelines-clinical-specimens.pdf>

Centres for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from patients under investigation for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV). Version 2.1.2015. Lab biosafety guidelines. Último acceso: 29 de julio de 2015. Accesible en:
<http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/guidelines-lab-biosafety.html>

Eckerle I, Corman VM, Müller MA, Lenk M, Ulrich RG, Drosten C. Replicative capacity of MERS coronavirus in livestock cell lines. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20:276-9.



European Centre for Disease Prevention and Control. MERS-CoV factsheet. Factsheet for health professionals. Último acceso: 29 de julio de 2015. Accesible en:
<http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/coronavirus-infections/mers-factsheet/Pages/default.aspx#C8>

Ministerio de Sanidad y Asuntos Sociales e Igualdad. Procedimiento de actuación frente a un caso de infección por el nuevo coronavirus (MERS-CoV). Versión actualizada a 11 de febrero de 2015. Último acceso: 29 de julio de 2015. Accesible en:
http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/docs/ProcedimientoBIS-MERS-CoV_10_03_2015.pdf

Paño JR, Cercenado E, Zaragoza R, Riera M, del Pozo JL, Horcajada JP (coordinador). Recomendaciones SEIMC para el diagnóstico, tratamiento y prevención de la transmisión de MERS-CoV. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2015.

Raj VS, Mou H, Smits SL, Dekkers DH, Müller MA, Dijkman R et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature.* 2013; 495:251-4.

White J. Middle Eastern Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV). *Clin Microbiol Newsl.* 2014; 36:115-22.

 	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 18 de 21
---	--	--

World Health Organization. Laboratory testing for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. Interim recommendations (revised). June 2015. Último acceso: 29 de julio de 2015. Accesible en:

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/176982/1/WHO_MERS_LAB_15.1_eng.pdf?ua=1

World Health Organization. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ª ed. Génève: World Health Organization. 2005. ISBN 92 4 354650 3.

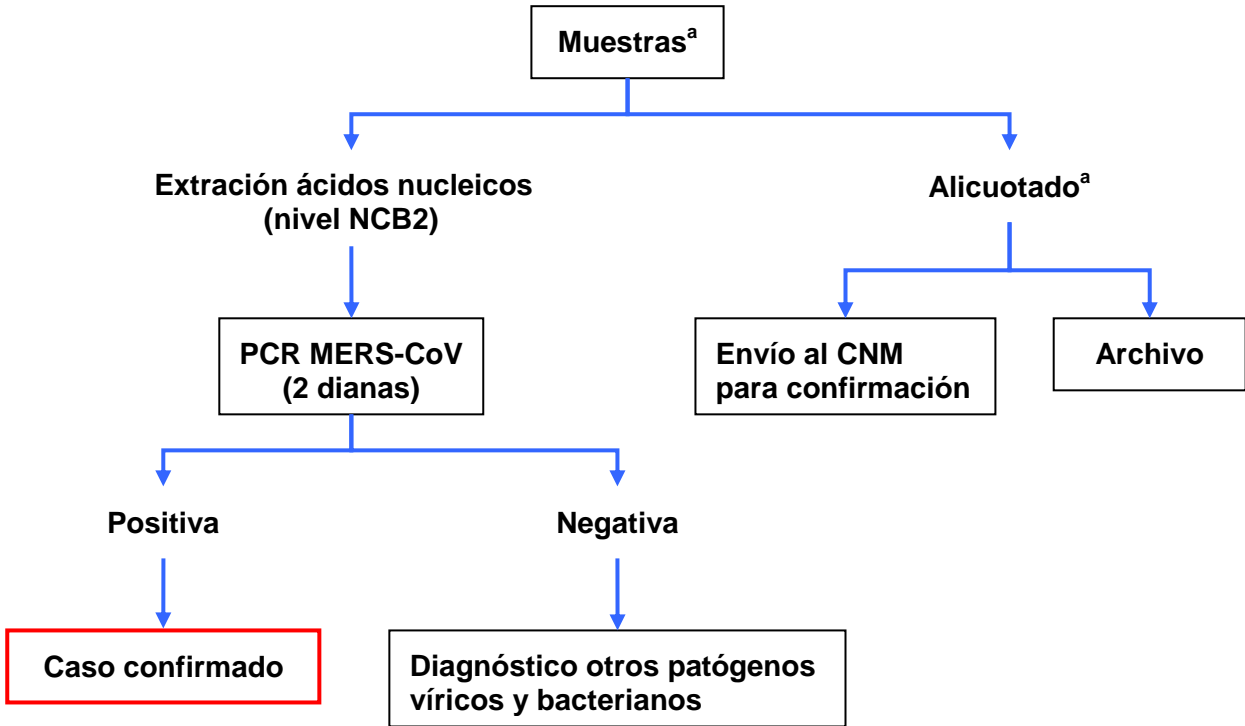
World Health Organization. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2015-2016. Último acceso: 29 de julio de 2015. Accesible en:

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149288/1/WHO_HSE_GCR_2015.2_eng.pdf?ua=1&ua=1

Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. N Engl J Med. 2012; 367:1814-20.

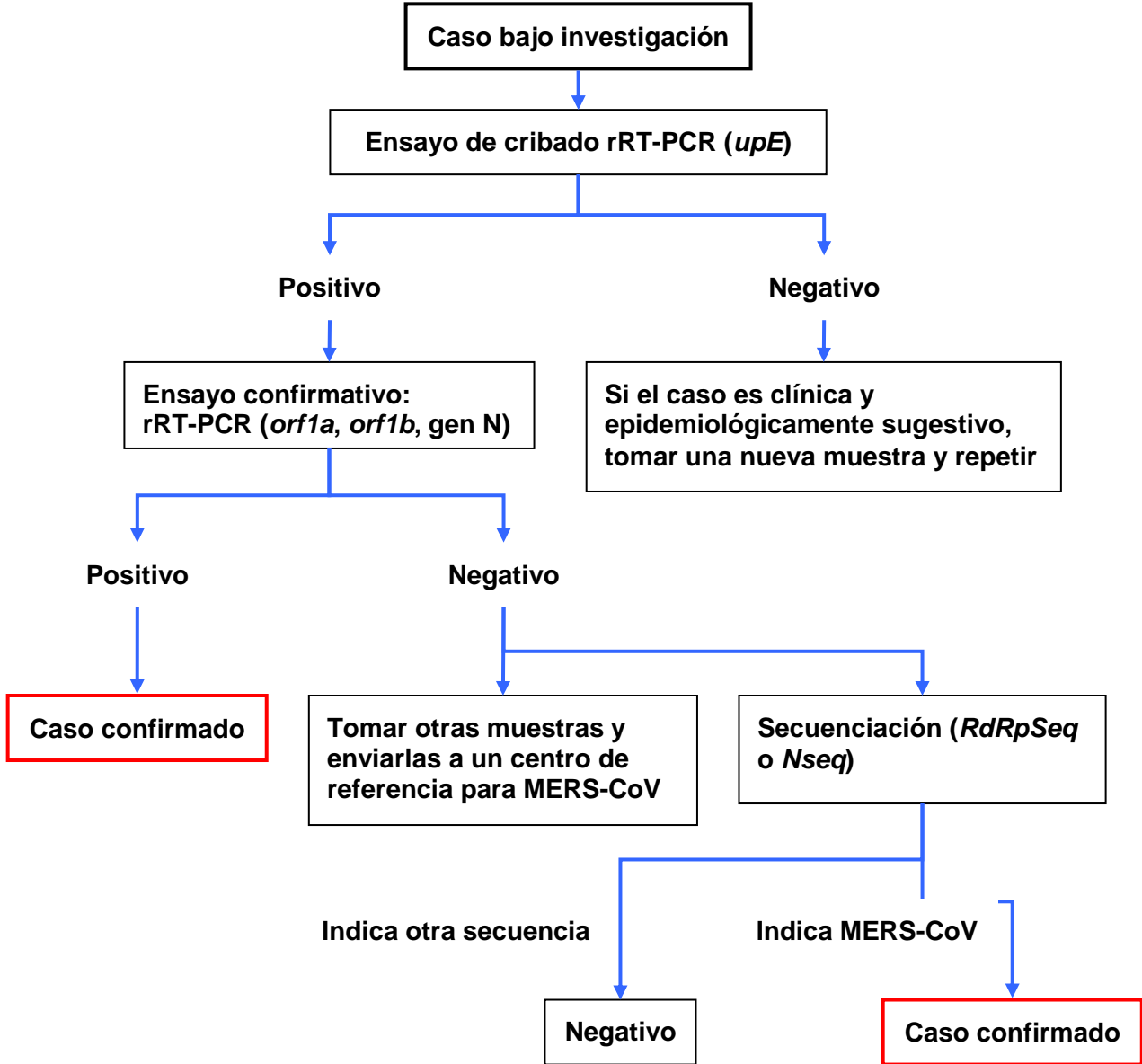
5 ANEXOS



5.1 Anexo 1. Esquema diagnóstico para un laboratorio que realice el diagnóstico de MERS-CoV



^aCongelar las muestras a -70°C si el procesamiento se retrasa >72 h

5.2 Anexo 2. Algoritmo diagnóstico recomendado por la OMS para el MERS-CoV



 	Preguntas frecuentes sobre la actuación de los laboratorios de Microbiología en relación con la infección por el nuevo Coronavirus del Oriente Medio (MERS-CoV)	Código: GEGMIC 02 Versión: 1 Fecha: 29-07-15 Página: 21 de 21
---	--	--

5.3 Anexo 3. Formulario de declaración para el envío de muestras categoría B

[Logo del Hospital/Institución]

D/Dña. (**Nombre del Remitente**), (Categoría del Remitente) del Servicio/Laboratorio de Microbiología, Nombre del Hospital/Institución, Ciudad, País

Mr/Mrs (Name of the Sender), (Position of the sender) of the Service/Laboratory of Microbiology, Name of the Hospital/Institution, City, Country

CERTIFICA/CERTIFIES

Que el presente envío contiene muestras biológicas para su análisis (Sustancia Biológica categoría B, UN3373)

This shipment contents specimens for analysis (Biological Substance category B, UN3373)

Ha sido embalado de acuerdo con la Instrucción de Embalaje IATA 650

Packed in compliance with the IATA Packing Instruction 650

Ciudad, ____ de _____ de 201_.

Firmado/*Signed*

(**Nombre del Remitente/Name of the Sender**)

Remitente/ <i>Shipper</i>	Consignatario/ <i>Consignee</i>
Dr. Servicio/Laboratorio de Microbiología Hospital _____ Dirección _____ C.P. City, Country Teléfono/ <i>Phone</i> : +34- _____	Laboratorio _____ Hospital/Institución _____ A/atc. _____ Dirección _____ C.P. Ciudad, County Teléfono/ <i>Phone</i> : +34- _____
En caso de emergencia avisar al remitente/<i>In emergency call the shipper</i>	