

CENTRO NACIONAL DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA

INSTITUTO DE DIAGNOSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLOGICOS

**DIAGNOSTICO POR LABORATORIO DEL
VIRUS DEL OESTE DEL NILO**

Participantes

José Carmen Gudiño

Rita Flores

Lucina Gutiérrez

Elsa Sarti

BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO

El virus del Oeste del Nilo es clasificado como un agente de riesgo nivel 3 de acuerdo al Subcomité sobre Seguridad en Laboratorios de Arbovirus del Comité Americano sobre Virus transmitidos por Artropodos del CDC.

Grupo 3.- Agentes infecciosos que significan un riesgo individual alto y que sin embargo el riesgo de transmisión a la comunidad es bajo. Entre estos se encuentran patógenos que causan enfermedades serias en humanos y animales, pero que no se transmiten fácilmente de un individuo a otro y para los cuales existen tratamientos y/o medidas preventivas.

El CDC recomienda que en caso de no tener un laboratorio de esta seguridad, se pueda trabajar en laboratorios de nivel de bioseguridad 2 con las siguientes modificaciones:

- 1.- Manejar las muestras clínicas (suero, LCR) en una campana de bioseguridad clase 2, la cual debe de estar en un laboratorio de acceso restringido.
- 2.- El manejo y proceso inicial de las muestras colectadas en campo (mosquitos, y tejidos) deberán ser llevadas a cabo en campana de bioseguridad clase 2 en un laboratorio de acceso restringido, hasta que la infectividad del virus haya sido destruida.
- 3.- Los procedimientos que pueden producir aerosoles, como el lavado de las placas de ELISA, también se deben de llevar a cabo en una campana de bioseguridad clase 2, la cual debe de estar en un laboratorio de acceso restringido.

TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNOSTICO Y VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON).

(Llevar a cabo el procedimiento de toma siguiendo precauciones universales de bioseguridad).

◆ **MUESTRAS PARA DIAGNOSTICO EN MUESTRAS HUMANAS: SUERO Y/O LCR.**

Nota importante. Para un diagnóstico adecuado se deben analizar muestras secuenciales de suero y LCR tomadas en la fase aguda (1-5 días de inicio de síntomas) y la fase convaleciente (14-21 días después del inicio), por lo cual es fundamental hacer seguimiento de cada paciente para garantizar el estudio de ambas muestras.

SUERO.-

Tomar de 5 a 10 mL de sangre por venopunción en tubo vacutainer sin anticoagulante, esperar a la formación del coagulo. Centrifugar para separar el coagulo y colectar el suero en 2 alícuotas en criotubos de 2 mL previamente etiquetados con los datos pertinentes (nombre del paciente y fecha de toma).

LCR.-

Obtener de 2 a 3 mL de LCR por punción lumbar y separar en 2 alícuotas en criotubos de 2 mL previamente etiquetados con los datos pertinentes (nombre del paciente y fecha de toma).

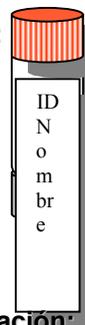
Hacer el envío lo más rápidamente posible, o congelar a -20°C y enviar congelada según especificaciones adjuntas.

Se recomienda el uso de criotubos o tubos de plástico con tapón de rosca para evitar que se rompan o se derramen durante el transporte.

Las muestras de cada paciente deberán acompañarse de la historia clínica y la solicitud del diagnóstico a realizar.

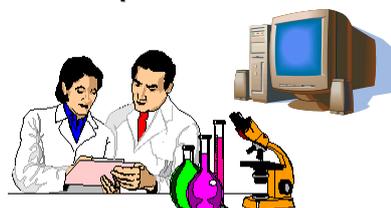
Cada muestra deberá etiquetarse con los siguientes datos:

- Nombre del paciente
- Tipo de muestra
- Fecha y lugar de colecta
- Nombre o iniciales del colector



Información necesaria para análisis serológico e interpretación:

- Fecha de inicio de síntomas
- Fecha de colecta de muestra
- Historial de viajes
- Historial de vacunación
- Encefalitis clínica



TEJIDOS DE ANIMALES PARA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA: CEREBRO Y RIÑÓN.

Nota importante.

- 1 Es necesario contar con la colaboración de la comunidad para que reporten a las autoridades de salud la presencia de AVES MUERTAS en la localidad, así como la coordinación con el laboratorio de la Comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales (CPA) para que realice la obtención de los tejidos a estudiar.
- 2 Las aves más adecuadas pertenecen a la familia de los cuervos, pero se pueden enviar muestras de aves endémicas que hayan muerto durante las últimas 24 horas.

El laboratorio de la CPA (o en su defecto un laboratorio de la SSA local) deberá realizar la disección del animal para coleccionar (por duplicado) piezas de 3 mm³ de cerebro y de riñón, las cuales se colocarán juntas (riñón + cerebro) dentro de un criotubo etiquetado con los datos de colecta del ejemplar.

El etiquetado deberá incluir como mínimo los siguientes datos:

Especie

Clave asignada

Fecha de colecta

Localidad

Datos del coleccionador

Hacer el envío lo más rápidamente posible, o congelar a -20°C y enviar congelada según las especificaciones adjuntas.

El InDRE no aceptará animales, órganos completos, ni tubos con las muestras derramadas.

Se recomienda el uso de criotubos o tubos de plástico con tapón de rosca para evitar que se rompan o se derramen durante el transporte.

◆ EMBALAJE Y ENVIO

Es responsabilidad del remitente la correcta identificación de las muestras y del embalaje adecuado para que estas lleguen en buenas condiciones al laboratorio

El envío adecuado de las muestras utiliza el sistema de triple embalaje y transporte en congelación en hielo seco o en su defecto en refrigeración:

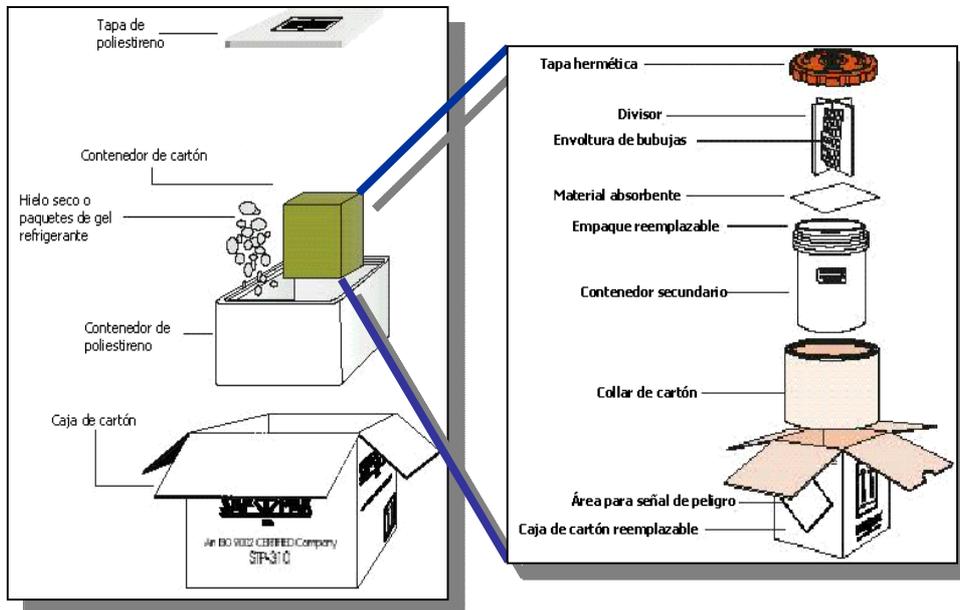
Sistema de triple embalaje:

- ◆ Contenedor primario.- es el criotubo que contiene cada muestra. Debe ser de plástico rígido con tapón de rosca de cierre hermético. Cada criotubo se envuelve en gasa o papel absorbente para evitar el contacto de unos con otros.
- ◆ Contenedor secundario.- recipiente de material rígido, de preferencia plástico, con tapón de rosca de cierre hermético. Dentro del contenedor secundario se colocan uno mas contenedores primarios, cuidando que haya suficiente material absorbente para mantenerlos inmóviles y separados entre si.
- ◆ Contenedor terciario.- es el contenedor externo de envío, debe ser de material rígido como una hielera de plástico rígido, o hielera de poliestireno (unicel) dentro de una caja de cartón corrugado, para incluir al contenedor secundario y rellenar con hielo seco o refrigerantes congelados en cantidad suficiente para mantener las muestras en congelación o refrigeradas durante el tiempo que dure el transporte al laboratorio. Dentro del contenedor terciario también se incluirá una bolsa plástica que contenga toda la documentación que acompañe las muestras, incluyendo historias clínicas, solicitud de diagnósticos y otra información pertinente.

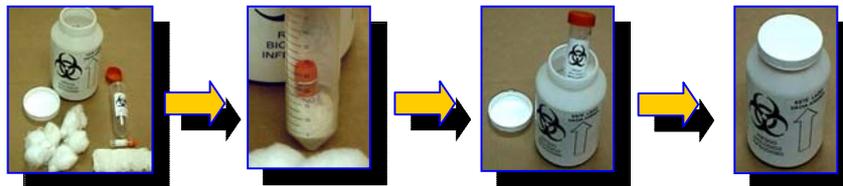
El paquete deberá ser enviado al Laboratorio de Virología (sueros y LCR para diagnóstico en humanos) o al de Genomas de Patógenos (tejidos de aves para vigilancia) del InDRE, sito en:

Carpio 470, Colonia Santo Tomás. CP 11340, México D.F. Delegación Miguel Hidalgo.

Transporte de las muestras: Sistema para muestras congeladas o en frío



Transporte de las muestras: *Alternativa de empaque*



Criotubos, gasa, tubo 50 ml, algodón,
bote de plástico rígido con tapa,
etiquetas con señal de riesgo biológico.

Tubo y bote con
señal de biológico
infeccioso.



Hielera rígida
(refrigerantes) o de
unicel en caja de
cartón corrugado
(hielo seco).

Etiquetar con nombre
y dirección de
remitente y
destinatario.

- Señal de Biológico Infeccioso

Incluir documentos
en bolsa de
plástico con cierre
hermético.

Diagnóstico en el Laboratorio

Existen diversas técnicas para la determinación del VON, algunas presuntivas y otras confirmatorias.

Diagnóstico serológico

El ELISA que existe es una prueba no comercial y que solo sirve de prueba presuntiva, esta cruza entre flavivirus (Encefalitis de San Luis, Dengue, Fiebre Amarilla, VON). Las muestras que den resultado positivo por ELISA deberán de ser confirmadas por neutralización.

Inhibición de la hemaglutinación

Este ensayo permite detectar anticuerpos contra flavivirus en suero o LCR, si la muestra contiene anticuerpos, estos se unirán al virus inhibiendo la aglutinación de eritrocitos.

Análisis de Ácidos Nucleicos

RT-PCR.-Esta prueba es un método confiable para el uso en vigilancia y es utilizado como prueba confirmatoria