

Directrices para la Detección y Vigilancia de Oropouche en posibles casos de infección vertical, malformación congénita o muerte fetal

Julio 17, 2024

Antecedentes

Desde la primera detección del virus Oropouche (OROV) en 1955 en Trinidad y Tobago, se han descrito numerosos brotes de fiebre de Oropouche en comunidades rurales y urbanas de Brasil, Ecuador, Guyana Francesa, Panamá, Perú y Trinidad y Tobago. En los últimos meses se ha observado un aumento de la detección de casos de fiebre de Oropouche particularmente en la región amazónica de Brasil donde se han conformado más de 6,000 casos, seguido de Bolivia, Perú y Colombia reportando alrededor de 1,500 casos adicionales. Además, recientemente, Cuba ha demostrado la circulación autóctona y expansión en gran parte de su territorio, en un ecosistema diferente a la cuenca amazónica dando cuenta de una marcada capacidad de adaptación y dispersión. Por otro lado, y si bien hasta el momento la presentación clínica de la enfermedad ha sido relativamente leve, sesgos y limitaciones en la vigilancia pueden estar evitando la detección de casos y síntomas más severos. Asimismo, Brasil ha notificado recientemente un caso de aborto espontáneo donde OROV fue detectado como posible agente causal, que sumado a cuatro (1) posibles casos de microcefalia revisados en retrospectiva incrementan la posibilidad de una transmisión vertical que sería de gran impacto en salud pública.

En este contexto y ante la necesidad de fortalecer las acciones de vigilancia y preparación, incluyendo la búsqueda activa e investigación de casos asociados a malformaciones congénitas o muerte fetal, el diagnóstico e interpretación de laboratorio constituyen un componente esencial que debe estar completamente articulado con la vigilancia clínica y epidemiológica.

Diagnóstico y vigilancia por laboratorio de OROV

Las orientaciones sobre el diagnóstico y vigilancia por laboratorio de arbovirus emergentes, incluyendo OROV, se detallan en las “Directrices para la Detección y Vigilancia de Arbovirus Emergentes en el Contexto de la Circulación de Otros Arbovirus” (2).

Diagnóstico virológico de la infección por OROV

Tipos de muestra: suero y/o líquido cefalorraquídeo (LCR)¹

Durante la fase aguda de la enfermedad (entre 2 y 7 días), es posible detectar el material genético del virus (ARN) por métodos moleculares (PCR en tiempo real o qPCR). También es posible detectar el ARN en líquido cefalorraquídeo (LCR) en aquellos casos que se presentan con meningitis aséptica (complicación poco frecuente de la fiebre de Oropouche) o sospecha de enfermedad neurológica; sin

¹ La utilización de una muestra de líquido cefalorraquídeo se recomienda siempre y cuando exista una indicación médica para la toma de la muestra

embargo, una muestra de LCR solo debe ser tomada por indicación médica y para el estudio de otras causas. La mayoría de los métodos moleculares para la detección de OROV se basan en la detección del segmento genético conservado S (2 - 4).

Diagnóstico serológico de la infección por OROV

Tipos de muestra: suero y/o líquido cefalorraquídeo (LCR)¹

Los anticuerpos contra OROV en general pueden ser detectados en suero a partir del quinto día después del inicio de los síntomas. Hasta el momento no se cuenta con ensayos comerciales para el diagnóstico serológico de OROV, por lo cual solo puede ser realizado utilizando técnicas “*in house*” como la neutralización por reducción de placas (PRNT) y la ELISA IgM / IgG (2).

El diagnóstico a partir de una única muestra de suero en fase aguda es presuntivo, por lo que se recomienda la toma de una segunda muestra, una a dos semanas después de la primera muestra para demostrar seroconversión (negativo a positivo) o incremento hasta cuatro veces del título de anticuerpos (con una prueba cuantitativa) (2).

Sin embargo, vale la pena destacar que la disponibilidad de reactivos para los métodos serológicos es extremadamente limitada. Por lo tanto, se recomienda priorizar y utilizar métodos moleculares (RT-PCR), siempre y cuando se cuente con las muestras apropiadas.

Evidencia de transmisión vertical de OROV y diagnóstico laboratorial

Actualmente, se investiga la posible transmisión vertical de OROV teniendo en cuenta diversos hallazgos de laboratorio (1). En un estudio retrospectivo realizado en Brasil, fue posible detectar la presencia de anticuerpos IgM contra OROV en suero y LCR en cuatro neonatos. Estos neonatos presentaron microcefalia, sin embargo, no fue posible establecer una relación causal entre la infección por OROV y malformaciones neurológicas observadas. Por otro lado, se identificó material genético de OROV en sangre del cordón umbilical, placenta y diversos órganos de una muerte fetal ocurrida con 30 semanas de gestación, lo cual sustenta una posible transmisión vertical de OROV. Según informó la Secretaría de Vigilancia en Salud y Ambiente del Ministerio de Salud Pública de Brasil, se están realizando análisis conjuntos de laboratorio, epidemiología y clínica para poder concluir la clasificación final de este caso en particular (1).

Desde el aumento repentino en el número de casos de OROV en la región Amazónica, la OPS ha brindado soporte técnico a los países de la región para mejorar su capacidad de detectar y caracterizar oportunamente los virus Oropouche y Mayaro (5). Las evidencias previamente mencionadas enfatizan la necesidad de fortalecer la vigilancia del OROV en casos en los que se sospeche la transmisión vertical. En este sentido, se listan a continuación algunas recomendaciones para la vigilancia laboratorial de OROV en mujeres embarazadas, mortinatos indicativos de infección congénita, y neonatos saludables y/o con evidencia de complicaciones neurológicas o malformaciones.

Diagnóstico por laboratorio de OROV en mujeres embarazadas

El diagnóstico de infección por OROV en mujeres embarazadas puede ser realizado según los criterios descritos previamente: muestra de suero para detección del material genético viral (RT-PCR) o detección de IgM, según la fase de la infección. Sin embargo y ya que se estudia la transmisión vertical para el OROV, es importante realizar un seguimiento estricto tanto a la madre como al recién nacido.

Así, una muestra de líquido amniótico recolectada bajo una indicación médica puede utilizarse para:

1. Detección molecular del material genético viral (RT-PCR). Un resultado positivo indica posible transmisión transplacentaria de OROV.
2. Detección de anticuerpos. Un resultado positivo para IgM significa infección intrauterina del feto.

*Ver tablas 1 y 2 para muestras recomendadas.

Diagnóstico por laboratorio de OROV asociado a mortinatos indicativos de infección congénita

En casos de aborto espontáneo y mortinatos, se debe asegurar una muestra de suero (si es posible) para detección de anticuerpos IgM (ELISA) y en cualquier caso garantizar una muestra de tejido (preferiblemente del sistema nervioso). Asimismo, se recomienda analizar en paralelo muestras de suero de la madre para determinación de anticuerpos IgM.

Por otro lado, y si se dispone de una muestra de líquido amniótico (recolectada bajo una indicación médica) esta puede ser utilizada para detección molecular por RT-PCR. Además, dependiendo de la etapa gestacional, se recomienda la obtención de LCR para detección molecular del material genético viral por RT-PCR y para serología (IgM).

*Ver tablas 1 y 2 para muestras recomendadas.

Diagnóstico por laboratorio de OROV en neonatos

Neonatos sanos de madres infectadas: Se recomienda intentar la detección de OROV (molecular y serológica) en muestra de placenta colectada en el momento del parto, líquido del cordón umbilical y en suero tanto del recién nacido como de la madre.

Neonatos con evidencia de complicaciones neurológicas o malformación: Además de intentar la detección de OROV (molecular y serológica) en muestra de placenta colectada en el momento del parto, líquido del cordón umbilical y en suero tanto del recién nacido como de la madre, se recomienda además la detección del virus en LCR¹.

*Ver tablas 1 y 2 para muestras recomendadas.

Tabla 1. Muestras recomendadas, días tras inicio de síntomas y ensayos de laboratorio indicados para la detección del virus.

Muestra	Días tras inicio de síntomas	Cantidad	Medio de transporte	Condiciones de transporte	Conservación >1 semana	Ensayo de laboratorio
Suero	1 a 5	5-7 mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR
Suero	5 a 7	5-7 mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR, ELISA IgM
Suero	7 en adelante	0,5-1mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	ELISA IgM
Orina*	5 a 15	5-7 mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR
LCR**		0,5 mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR, ELISA IgM

* No existe evidencia suficiente para determinar la dinámica de la presencia del OROV en orina, sin embargo, para facilitar la investigación y entender mejor el proceso de infección se recomienda, si es posible, obtener una muestra de orina cuando no hay otras muestras disponibles

** Bajo indicación médica para diagnóstico de enfermedad neurológica

Tabla 2. Otras muestras recomendadas, condiciones de conservación y transporte, y ensayos de laboratorio indicados para la detección del virus.

Muestra	Cantidad	Medio de transporte	Condiciones de transporte	Conservación >1 semana	Ensayo de laboratorio
Suero de la madre	5-7 mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR, ELISA IgM, PRNT, otros
Sangre de cordón	0,5-1mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR, ELISA IgM, PRNT, otros
Placenta	3 x 3 cm (aprox)	Formol tamponado	4 °C - Ta*	4 °C - Ta*	Inmunohistoquímica
Placenta	3 x 3 cm (aprox)	Solución salina	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR
Cordón umbilical (tejido)		Formol tamponado	4 °C - Ta*	4 °C - Ta*	Inmunohistoquímica
Cordón umbilical (tejido)		Solución salina estéril o tubo seco	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR
Suero recién nacido	0,5-1mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR, ELISA IgM, PRNT, otros
Líquido amniótico**	0,5-1mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR
LCR recién nacido**	0,5 mL	Sin aditivos	4 / 8 °C	-20 /-70 °C	PCR, ELISA IgM, PRNT, otros
Sangre total de la madre	5-7 mL	EDTA, otros	4 / 8 °C	4 °C	Bioquímica, otros
Sangre total recién nacido	2-5 mL	EDTA, otros	4 / 8 °C	4 °C	Bioquímica, otros
Tejido***	3 x 3 cm (aprox)	Formol tamponado	4 °C - Ta*	4 °C - Ta*	Inmunohistoquímica
Tejido***	3 x 3 cm (aprox)	Solución salina estéril o tubo seco	4 / 8 °C		PCR

*Temperatura ambiente

** Bajo indicación médica por sospecha de síndrome neurológico

***Casos fatales: Cerebro, hígado, riñón, producto de aborto, otros

Conservación de las muestras

- Mantener refrigerada (4 °C – 8 °C) si será procesada (o enviada a un laboratorio de referencia) dentro de 48 horas
- Mantener congelada (-10 °C a -20 °C) si será procesada después de las primeras 48 horas o durante un periodo no mayor de 7 días.
- Mantener congelada (-20 a -70 °C) si será procesada después de una semana. La muestra se conserva adecuadamente durante periodos prolongados de tiempo.

Envío de las muestras por vía aérea al laboratorio de referencia

- Se debe garantizar la cadena de frío de las muestras. Enviar (en lo posible) con hielo seco o como mínimo con geles refrigerantes. Utilizar siempre triple empaque.
- Enviar durante las primeras 48 horas.
- Las muestras originales deben ser empacadas, marcadas etiquetadas (si se utiliza hielo seco) y documentadas como categoría B.
- Enviar siempre la ficha clínica y epidemiológica completa.

Comentarios y recomendaciones adicionales

- Dada la presentación clínica de la fiebre de Oropouche, para la detección y seguimiento se sugiere procesar las muestras agudas (hasta 7 días de iniciados los síntomas) provenientes de la vigilancia de dengue, que cumplen con una definición de caso sospechoso de dengue, pero que resultan negativas para la detección molecular del virus dengue. Dependiendo de la capacidad del laboratorio y del contexto epidemiológico, se puede procesar un porcentaje de las muestras agudas negativas para detección molecular de dengue (que puede variar entre el 10% al 30%) o un número limitado de muestras representativas (2).
- Existen diferentes protocolos (iniciadores y sondas) para la detección de OROV por RT-PCR (tanto convencional como tiempo real). Sin embargo, diversos países de la región vienen utilizando el protocolo desarrollado por Naveca y colaboradores (4) que permite la detección molecular simultánea de los virus OROV y Mayaro (MAYV), fortaleciendo la capacidad de diagnóstico laboratorial para ambos virus.
- El aislamiento viral no se considera como una técnica diagnóstica, y se recomienda únicamente para ensayos de investigación complementarios a la vigilancia en salud pública.
- Los laboratorios que no cuentan con la capacidad para confirmación virológica (RT-PCR, aislamiento viral, secuenciación) o serológica (PRNT), deberán enviar las muestras a un laboratorio de referencia o centro colaborador de la Organización Mundial de la Salud. Antes de realizar cualquier envío, por favor comunicarse con las personas de contacto en cada centro y con la oficina de la Organización Panamericana de la Salud en Washington DC.

Referencias:

- 1- [Nota Técnica n° 15/2024-SVSA/MS — Ministério da Saúde \(www.gov.br\)](#)

2 - Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Directrices para la detección y vigilancia de arbovirus emergentes en el contexto de la circulación de otros arbovirus. 18 de abril de 2024 Washington, D.C.: OPS/OMS; 2024. Disponible en: [Directrices para la Detección y Vigilancia de Arbovirus Emergentes en el Contexto de la Circulación de Otros Arbovirus - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud \(paho.org\)](#)

3 - Organización Panamericana de la Salud. Recomendaciones para la detección y el diagnóstico por laboratorio de infecciones por arbovirus en la Región de las Américas. Washington, D.C.: OPS; 2022. Disponible en: [Recomendaciones para la detección y el diagnóstico por laboratorio de infecciones por arbovirus en la Región de las Américas \(paho.org\)](#)

4 - Naveca FG, Nascimento VAD, Souza VC, Nunes BT, Rodrigues DSG, Vasconcelos P. Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and Oropouche-like viruses. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2017;112(7):510-3. Disponible en inglés en: <https://doi.org/10.1590/0074-02760160062>

5 – Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Países de las Américas Fortalecen Preparativos ante el Virus Oropouche. 9 de julio de 2024. Disponible en: [Países de las Américas Fortalecen Preparativos ante el Virus Oropouche - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud \(paho.org\)](#)