

Lineamiento Provisional para Recolección, Manejo y Diagnóstico de Muestras de Pacientes Bajo Investigación (PBIs) por Síndrome Respiratorio del Oriente Medio por Coronavirus (MERS-CoV) - Versión 2

Resumen de los cambios en la Versión 2

Esta es una versión actualizada del documento provisional expedido por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) el 07 de junio del 2013. El CDC ha revisado el documento con los lineamientos provisionales, basado en las observaciones recibidas de los diferentes actores de la salud pública, proveedores de asistencia sanitaria, organizaciones profesionales y otros. El CDC seguirá actualizando el documento según sea necesario para incorporar nueva información que aumente nuestra comprensión del MERS-CoV. Actualizaciones:

1. Se ha modificado el título del documento para reflejar directrices adicionales respecto a los ensayos de laboratorio.
2. Se amplió la sección "Tipo de Muestra y Prioridad", para describir mejor cuales muestras son preferibles para probar.
3. Se amplió la sección "Componentes Sanguíneos - Suero" para describir mejor las opciones diagnósticas disponibles según el tiempo transcurrido desde el inicio de síntomas y la colección del suero.
4. Se revisó el "Resumen de la guía para diagnóstico de MERS-CoV por rRT-PCR a partir de muestras de Vías Respiratorias", que describe el reporte de resultados para MERS-CoV y los ensayos para otros patógenos respiratorios

Antes de recoger y manipular muestras para detección de Coronavirus del Síndrome Respiratorio del Oriente Medio (MERS-CoV), determine si el paciente cumple la definición de caso actual para un "paciente bajo investigación" (PBI) por infección de MERS-CoV preparada por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). Ver, <http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/caso-def.html>.

Tipo de Muestra y Prioridad

Hasta la Fecha, poco se sabe acerca del potencial patogénico y la dinámica de transmisión de MERS-CoV. Para aumentar la probabilidad de detectar la infección, el CDC recomienda de ser posible, recoger múltiples muestras, de diferentes sitios y en diferentes momentos después de la aparición de síntomas.

Los puntos a considerar para determinar qué tipos de muestra recolectar de un paciente bajo investigación para MERS incluyen:

1. El número de días entre la recolección de la muestra y la aparición de síntomas
2. Síntomas en el momento de la recolección

Aspectos adicionales a considerar:

1. Mantenga el control adecuado de infecciones cuando se recoge las muestras
2. Utilice métodos y elementos aprobados para recolección de muestras
3. Manipule, conserve y envíe las muestras según los protocolos apropiados

Aunque se prefieren muestras de las vías respiratorias bajas, las muestras nasofaríngeas y orofaríngeas (NF/OF), así como heces y suero, también son altamente recomendadas según el tiempo entre aparición

de síntomas y recolección de muestras. Por ejemplo, si la aparición de síntomas para un PBI con infección en curso de vías respiratorias bajas fue hace 14 días ó más, se recomienda una muestra única de suero para ensayos serológicos (ver *Sección II. Componentes sanguíneos–Suero*), además de una muestra de las vías respiratorias inferiores y una muestra de NP/OP (ver *Sección I. Muestras Respiratorias*).

Las muestras de vías respiratorias deben recogerse cuanto antes después que empiecen los síntomas—idealmente entre los primeros 7 días y antes de administrar medicamentos antivirales. Sin embargo, si ha pasado mas de una semana desde la aparición de síntomas y el paciente aún se encuentra sintomático, las muestras deben ser recolectadas, especialmente las de tracto respiratorio bajo, ya que el virus aún puede ser detectado por rRT-PCR.

Lineamientos Generales

Durante períodos cortos (≤ 72 horas), la mayoría de las muestras pueden mantenerse a 2-8°C en lugar de ser congeladas. Para demoras en el procesamiento que excedan 72 horas, se recomienda el almacenamiento a-70°C, lo antes posible tras la recolección (con excepciones observadas abajo). Rotule cada envase de muestra con el número de identificación del paciente, tipo de muestra y fecha de recolección.

I. Muestras Respiratorias

A. Tracto respiratorio bajo

Lavado Broncoalveolar, aspirado traqueal, líquido pleural

Recoger 2-3 mL en un frasco tapa rosca anti derrames, estéril, seco. Refrigerar la muestra a 2-8°C hasta por 72 horas; si se exceden las 72 horas, congelar a-70°C y enviar con hielo seco.

Espuito

El paciente debe enjuagarse la boca con agua y luego expectorar el espuito con una tos profunda directamente en un frasco tapa rosca anti derrames, estéril, seco. Refrigerar la muestra a 2-8°C hasta por 72 horas; si se exceden las 72 horas, congelar a-70°C y enviar con hielo seco.

B. Vías respiratorias altas

Hisopados nasofaríngeos Y orofaríngeos (hisopados NF/OF)

Utilice únicamente hisopos de fibras sintéticas con asa de plástico. No use hisopos de alginato de calcio o hisopos con mango de madera, ya que pueden contener sustancias que inactivan algunos virus e inhiben la PCR. Coloque el hisopado de inmediato en tubos estériles que contengan 2-3 ml de medio para transporte viral. Pueden combinarse las muestras NF/OF, colocando ambos hisopos en el mismo vial. Refrigerar la muestra a 2-8°C hasta por 72 horas; si se exceden las 72 horas, congelar a-70°C y enviar con hielo seco.

Hisopados nasofaríngeos--Insertar el hisopo en el orificio nasal de forma paralela al paladar. Deje el hisopo implantado durante unos pocos segundos para absorber las secreciones. Frote ambas áreas nasofaríngeas.

Hisopados orofaríngeos--Frotar la faringe posterior, evitando la lengua.

Lavado/aspirado nasofaríngeo o aspirados nasales

Recoger 2-3 mL en un frasco tapa rosca anti derrames, estéril, seco. Refrigerar la muestra a 2-8°C hasta por 72 horas; si se exceden las 72 horas, congelar a -70°C y enviar con hielo seco.

II Componentes Sanguíneos

Suero (para ensayos serológicos)

Para la detección de anticuerpos séricos: Las muestras de suero deben recogerse durante la fase aguda de la enfermedad, preferiblemente durante la primera semana tras el inicio, y nuevamente durante la fase de convalecencia, hasta 3 semanas después de haber colectado la muestra aguda. Sin embargo, ya que no es deseable retrasar la detección en este momento, una única muestra de suero tomada 14 ó más días después del inicio de síntomas puede ser útil. Los ensayos serológicos están actualmente disponibles en el CDC bajo petición y aprobación. Por favor tenga en cuenta que los ensayos serológicos para MERS-CoV se han diseñado con finalidades de investigación/vigilancia y no con fines de diagnóstico; es una herramienta desarrollada en respuesta al brote CoV-MERS. Contacte al Centro de Operaciones de Emergencia (EOC) (770-488- 7100) del CDC para consulta y aprobación si la prueba serológica está considerándose.

Suero (para ensayo de rRT-PCR)

Para los ensayos de rRT-PCR (es decir, detección del virus y no de anticuerpos), una única muestra de suero recogida en condiciones óptimas durante la primera semana después de inicio de síntomas, preferiblemente para los días 3-4, puede ser muy útil.

NOTA: Estos lapsos de tiempo se basan en los estudios de SARS-CoV. La cinética de MERS-CoV no está bien comprendida aún y pueden ser diferente a la de SARS-CoV. Una vez se disponga de datos adicionales, estas recomendaciones se actualizarán según sea necesario.

Niños y los adultos. Recolectar 1 tubo (5-10 mL) de sangre total en un tubo seco o con gel para acelerar la coagulación. Permita la formación del coagulo y centrifugue brevemente; separe el suero en un tubo estéril. La cantidad mínima de suero requerida para el ensayo es 200 µL. Refrigere la muestra a 2-8°C y envíe con paquetes fríos; congelar y enviar con hielo seco también es adecuado.

Lactantes. Como mínimo se debe recolectar 1 mL de sangre total para realizar el ensayo en pacientes pediátricos. Cuando sea posible, recoja 1 mL en un tubo con EDTA y 1 mL en un tubo seco (o con separador de suero). Si puede obtenerse sólo 1 mL, utilice el tubo seco (o con separador de suero).

Sangre con EDTA (plasma)

Recoger 1 tubo (10 mL) de sangre con heparina (tapa verde) o EDTA (tapa púrpura). Refrigerar la muestra a 2-8°C y envíe con paquetes fríos; no congelar.

III. Heces

Recolectar 2-5 gramos de muestras de heces (sólidas o líquidas) en un frasco tapa rosca anti derrames, estéril, seco. Refrigerar la muestra a 2-8°C hasta por 72 horas; si se exceden las 72 horas, congelar a -70°C y enviar con hielo seco.

IV. Envío

Las muestras de casos sospechosos de MERS deben ser empacadas, enviadas y transportadas según la edición actual del Reglamento para Sustancias Peligrosas de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA) en http://www.iata.org/whatwedo/cargamento/dgr/Páginas/infectious_substances.aspx. Es posible que los envíos desde fuera de los Estados Unidos requieran una licencia de importación que puede obtenerse en el CDC.

Las muestras deben almacenarse y enviarse a las temperaturas indicadas anteriormente. Si las muestras no pueden ser enviadas durante las 72 horas siguientes a la recolección, deberán almacenarse a -70°C y ser enviadas en hielo seco. Al realizar envíos de muestras a distancias largas ó ubicaciones internacionales, es mejor usar una combinación de hielo seco y paquetes de gel frío congelados. Los paquetes de gel frío permanecerán congelados durante un día o dos después que el hielo seco se ha disipado.

Todas las muestras deben estar empacadas para prevenir la ruptura y el derrame. El envase de la muestra debe estar sellado con Parafilm® y entre una bolsa hermética (ziplock). Se debe asegurar suficiente material absorbente dispuesto en el Envase Secundario (que contiene Envase Primario) y separar los Envases Primarios (conteniendo la muestra) para prevenir ruptura. Envíe las muestras con paquetes fríos u otro tipo de bloque refrigerante autocontenido, no utilice hielo húmedo real. Esto evitará fugas y la apariencia de derrames. Cuando un gran número de muestras están siendo enviadas, deben organizarse de una manera secuencial en las cajas con compartimientos separados para cada muestra. El CDC recomienda lo siguiente:

- No colocar hielo seco en el envase primario ó en el secundario, ni entre sobres de espuma, bolsas ziplock, cajas del crioviales, o envases herméticamente sellados.
 - No coloque el envase primario de lado o al revés en las bolsas ziplock.
 - No use envases secundarios de tapa roja para Sustancias Infecciosas de categoría A.
 - No coloque ningún documento dentro del envase secundario ó la bolsa ziplock para no dañar los papeles.
 - No use bolsas de riesgo biológico para autoclave, ya que estas no pueden sellarse adecuadamente.

Para información adicional, consulta, o la dirección de envío al CDC, comunicarse el Centro de Operaciones de Emergencia del CDC (EOC) al 770-488-7100. Las muestras deben ser enviadas para entrega de un día para otro - si se planea una entrega en sábado, arreglos especiales deben hacerse con la compañía transportadora.

Resumen de los lineamientos para diagnóstico de MERS-CoV por rRT-PCR en Muestras Respiratorias

Muchos laboratorios nacionales de salud se encuentran avalados para realizar el ensayo desarrollado por el CDC para la detección de MERS-CoV por la técnica de rRT-PCR. Comuníquese con su laboratorio o instituto de salud local/nacional para notificar cualquier caso PBI y para solicitar una prueba diagnóstica de MERS-CoV. Si su laboratorio o instituto de salud local/nacional no puede realizar la prueba, contacte al EOC del CDC al teléfono 770-488-7100.

Los ensayos para detección de MERS-CoV y otros patógenos respiratorios pueden hacerse simultáneamente. El aislamiento viral en el cultivo de células y la caracterización inicial de los virus recuperados en cultivo de muestras de MERS-CoV **NO han sido recomendadas hasta el momento.** Sin embargo, si se hacen, estas actividades deben realizarse bajo condiciones de bioseguridad BSL-3.

Ensayo para MERS-CoV

El laboratorio debe seguir el protocolo del CDC para el ensayo de rRT-PCR. Los resultados "NEGATIVOS" deben reportarse a través de la Red de Respuesta de Laboratorios del CDC (LRN) en un plazo de 24 horas. Cuando se obtiene un resultado "PRESUNTIVO POSITIVO" o "EQUÍVOCO", el CDC debe ser notificado de inmediato y el resultado también debe reportarse al LRN en un plazo máximo de 6 horas. Aunque la confirmación de un resultado "POSITIVO PRESUNTIVO" por el CDC es requerida, esto no debe retardar la investigación y respuesta local/nacional, incluyendo investigación de contactos.

Detección de Otros Agentes Patógenos Respiratorios

La búsqueda de otros agentes patógenos respiratorios comunes por métodos moleculares o de detección antigénica (**no mediante aislamiento viral**) es altamente recomendada. Otros patógenos respiratorios comunes incluyen 1) influenza tipo A, influenza tipo B, virus sincitial respiratorio, metapneumovirus humano, virus parainfluenza humanos, adenovirus, rinovirus humano y otros virus respiratorios; 2) *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumophila* y otros agentes patógenos que causan infecciones graves de las vías respiratorias inferiores. La presentación clínica del cuadro, la información epidemiológica y de vigilancia así como la estación, son aspectos a considerar cuando se decide que otros patógenos se deben investigar. Ya que en algunos casos de MERS-CoV se han detectado otros patógenos respiratorios, la identificación de un agente respiratorio antes del ensayo específico para MERS-CoV no debe excluir la comprobación de MERS-CoV, especialmente si la sospecha es muy alta. Si su laboratorio no tiene capacidad para diagnóstico molecular o detección de antígeno para patógenos respiratorios, comuníquese con su laboratorio nacional para recibir asistencia.

Para mayor información,
visite <http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/guidelines-clinical-specimens.html>