

# MERS-CoV: Consideraciones generales para el diagnóstico por Laboratorio<sup>1</sup>

Junio 06, 2015

## Introducción

La confirmación de un caso probable o sospechoso de infección por MERS-CoV (según criterios clínicos y epidemiológicos), sólo puede ser realizada mediante pruebas de laboratorio. Sin embargo, otros patógenos respiratorios virales (incluyendo, pero no limitado a: Influenza, Virus Sincitial Respiratorio, otros beta y alphacoronavirus humanos comunes) y bacterianos (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* tipo b, *Legionella pneumophila*) deben ser considerados dentro del algoritmo diagnóstico.

## Recolección de muestras y envío apropiado

*Las muestras deben ser recolectadas por personal entrenado y considerando todas las indicaciones de bioseguridad y equipo de protección personal apropiado para virus respiratorios, según las guías para control de infecciones y manejo del bio-riesgo de OMS.<sup>2</sup>*

Si bien la probabilidad de detección es alta durante los primeros 7 días tras el inicio de síntomas, el material genético 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 2 resultados negativos consecutivos.

Dado que la carga viral mas alta ha sido demostrada en las vías respiratorias bajas, las muestras recomendadas incluyen esputo, lavado broncoalveolar y aspirado traqueal (cuando sea posible según criterio médico). Sin embargo y ante la imposibilidad de tomar una mejor muestra, aquellas del tracto respiratorio alto también son útiles. En general, se recomienda tomar un hisopado nasofaríngeo combinado con un hisopado orofaríngeo (los hisopos deben ser transportados en el mismo tubo con medio de transporte viral). Aunque no se recomienda el muestreo de contactos asintomáticos en forma rutinaria, si se considera necesario de acuerdo a las directrices adoptadas por el país, las muestras de las vías respiratorias altas pueden ser consideradas.

Las muestras de suero para determinación de anticuerpos pueden ser recolectadas para complementar el diagnóstico y eventualmente como parte de los procesos de vigilancia. Sin embargo, se debe asegurar la toma de muestras pareadas con al menos una semana de diferencia entre la primera (tomada en fase aguda) y la segunda. Una muestra única podría tener valor diagnóstico sólo si ha sido tomada como mínimo 14 días después de iniciados los síntomas.

---

<sup>1</sup> Las siguientes recomendaciones han sido adoptadas del documento *WHO Interim recommendations, Laboratory Testing for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus, September 2014* (1) y están sujetas a modificaciones posteriores en función de los avances en el conocimiento sobre la enfermedad y el agente etiológico

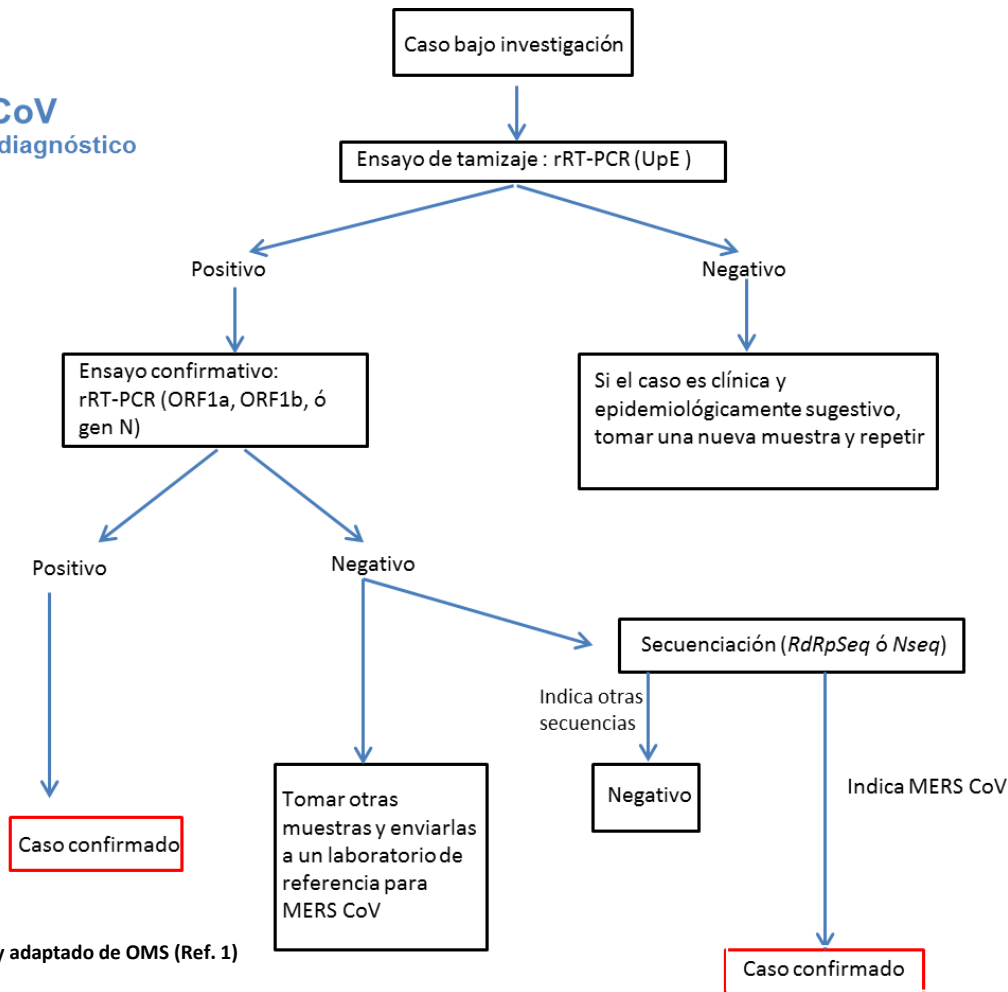
<sup>2</sup> Novel Coronavirus: Interim Recommendations for Laboratory Biorisk Management.  
[http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/NovelCoronavirus\\_InterimRecommendationsLaboratoryBiorisk\\_190213/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/NovelCoronavirus_InterimRecommendationsLaboratoryBiorisk_190213/en/index.html)

Las muestras deben ser conservadas en refrigeración (4-8°C) y enviadas al laboratorio donde serán procesadas (central, nacional ó de referencia) dentro de las primeras 24 -72 horas después de haber sido tomadas. En caso no puedan ser enviadas antes de este lapso, se recomienda la congelación a -70 / -80 °C hasta su envío garantizando la cadena de frío. El envío de muestras sospechosas a laboratorios de referencia o centros colaboradores fuera del país y por vía aérea, debe asegurar el cumplimiento de todas las normas internacionales (IATA) para **Sustancias Biológicas categoría B**.

## Algoritmo para detección molecular de MERS CoV

*Las muestras deben ser procesadas y manipuladas únicamente por profesionales entrenados y considerando todas las indicaciones de bioseguridad y equipo de protección personal apropiado para virus respiratorios, bajo condiciones BSL-2 y según las guías para control de infecciones y manejo del bio-riesgo de la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>1,3</sup>*

### MERS CoV Algoritmo diagnóstico



Algoritmo tomado y adaptado de OMS (Ref. 1)

<sup>3</sup> El intento de aislamiento viral solo puede ser realizado bajo condiciones de bioseguridad BSL-3 ó BSL-4

La confirmación de un caso de infección por MERS-CoV se basa en la detección por PCR (rRT-PCR) de al menos dos (2) regiones del genoma, ó la amplificación de un blanco genético seguido de secuenciación nucleotídica de un segmento genético diferente.

Existen tres (3) protocolos publicados para la detección molecular de MERS-CoV. El algoritmo diagnóstico debe iniciar con una prueba altamente sensible (amplificación de la región adyacente – *upstream*- al gen de la proteína E, upE) seguido de la amplificación del marco de lectura abierto 1a (ORF 1a); 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) ó del gen N.

## Pruebas serológicas para determinación de anticuerpos

Diferentes pruebas y plataformas han sido desarrolladas y publicadas para la detección de anticuerpos dirigidos a MERS-CoV, incluyendo ELISA, IF, microarreglos de proteínas y neutralización. Sin embargo, las pruebas serológicas requieren de una cuidadosa interpretación y su realización se indica sólo bajo dos circunstancias:

**1-Para definir un caso de MERS-CoV que debe ser reportado bajo el Reglamento Sanitario Internacional:** 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 tamizaje (ELISA, IF) en una muestra de fase aguda, y se evidencia seroconversión (aumento de hasta 4 veces el título) en una segunda muestra (tomada al menos 14 días después de la primera) con una prueba específica de neutralización. Una muestra única con un resultado positivo (con prueba de tamizaje y neutralización) se considera **probable**.

**2-Para encuestas serológicas en una población o investigación de exposición previa:** Normalmente sólo se cuenta con una muestra en las encuestas serológicas. Por esto, la interpretación será la misma para caso probable (resultado positivo con pruebas de tamizaje y neutralización) y sólo indica infección pasada. No será posible determinar el momento de la infección.

## Reactivos

Ya que los iniciadores y sondas para las pruebas de rRT-PCR para MERS-CoV se encuentran publicados (2,3,4), los laboratorios pueden solicitar la síntesis a sus proveedores respectivos. Información adicional se encuentra en el siguiente enlace:

- <http://www.virology-bonn.de/index.php?id=40%20>

El Centro para Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos, ha producido un estuche de rRT-PCR para diagnóstico de MERS CoV que puede estar disponible bajo algunas

limitaciones. Por favor contacte a la Organización Panamericana de la Salud, Oficina Regional de la OMS para las Américas (OPS/OMS) para información detallada.

Al menos dos estuches comerciales para detección de MERS-CoV por PCR se encuentran disponibles. Puede encontrar información adicional sobre estos estuches en los siguientes enlaces:

- <http://www.altona-diagnostics.com/index.php/brealstar-mers-cov-rt-pcr-kitb-101.html>
- [http://www.fast-trackdiagnostics.com/products/50/ftd\\_hcov-emc/](http://www.fast-trackdiagnostics.com/products/50/ftd_hcov-emc/)

En la actualidad, no existen estuches comerciales para determinación serológica.

**OPS/OMS no recomienda el uso de ningún producto en particular y exhorta a los países y laboratorios a realizar sus propias consultas y análisis para la selección de estuches de acuerdo a sus circunstancias y pertinencia.**

## Referencias

1. WHO Interim recommendations: Laboratory Testing for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus, September 2014  
[http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/WHO\\_interim\\_recommendations\\_lab\\_detection\\_MERSCoV\\_092014.pdf?ua=1](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/WHO_interim_recommendations_lab_detection_MERSCoV_092014.pdf?ua=1)
2. Corman VM et al. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. Eurosurveillance 2012; 17:20285  
<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20285>
3. Corman VM et al. Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections. Eurosurveillance 2012; 17:20334  
<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20334>
4. Novel Coronavirus 2012 Real-Time RT-PCR Assay, Centers for Disease Control and Prevention. available at:  
<http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/Safety/EmergencySituations/UCM355572.pdf>