

PROTOCOLO PARA EL ANÁLISIS CLÍNICO DEL VIRUS DE LA NUEVA GRIPE A (H1N1)

Nota: protocolo provisional sujeto a actualización según se disponga de nueva información científica.

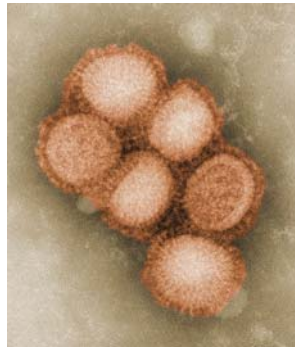


Imagen coloreada de microscopía electrónica del virus H1N1.

Introducción

La **gripe** es una enfermedad infecciosa causada por los virus A y B de la gripe. La gripe se presenta en forma de casos esporádicos, de epidemias estacionales y de pandemias.

Las **epidemias estacionales de gripe** (o gripe epidémica) se presentan todos los años en invierno (octubre-abril en el Hemisferio Norte; mayo-septiembre en el Hemisferio Sur) y afectan a un área geográfica limitada.

Cuando una epidemia afecta a toda la población mundial y se disemina en un período de tiempo muy corto, hablamos de una **pandemia**.

El **nuevo virus A (H1N1)** es un virus de la gripe. Por lo tanto, la forma de transmisión entre seres humanos es similar a la de la gripe estacional: por vía aérea y principalmente cuando una persona con gripe tose o estornuda. Algunas veces, las personas pueden contagiarse al tocar algo que tiene el virus de la gripe y luego llevarse las manos a la boca o la nariz. Dado que es un virus nuevo no se ha determinado todavía con exactitud su periodo de transmisibilidad. No obstante se estima que puede oscilar entre las 24 horas anteriores a la aparición de la sintomatología, durante todo el periodo de persistencia de los síntomas y hasta 7 días después del inicio de los mismos. El virus no se transmite por consumir carne de cerdo ni productos derivados del mismo.

Los **síntomas** son similares a los de la gripe estacional común, entre los que se incluyen fiebre de inicio agudo, síntomas respiratorios, como tos, estornudos y rinorrea, y malestar general. Algunas veces, puede acompañarse de falta de apetito o diarrea.



Obtención, conservación y transporte de las muestras

La detección del virus respiratorio depende del tipo de muestra, de la calidad en la toma de la muestra, de su rápido transporte al laboratorio y de su adecuada conservación.

Tipo de muestras

El virus se detecta mejor en las muestras que contienen el mayor número posible de células epiteliales, por ser las células en las que, fundamentalmente, se replica el virus. Los tipos de muestra se clasifican según la probabilidad de detección del virus, es decir, de contener más o menos células epiteliales.

Mayor probabilidad de detección:

- Frotis de nasofaringe
- Lavado o aspirado nasofaríngeo

Menor probabilidad de detección:

- Frotis nasal
- Frotis faríngeo

Si se efectúan las dos simultáneamente se obtiene una probabilidad mayor.



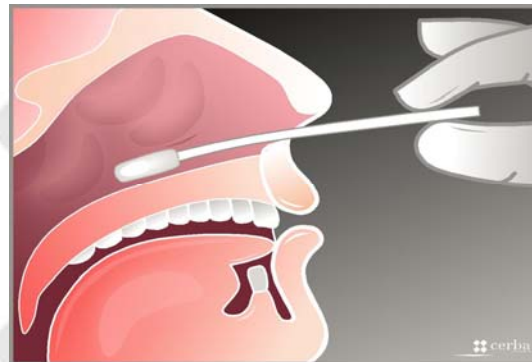
Toma de muestra

a) Frotis nasal, faríngeo y nasofaríngeo

- Utilizar una torunda flexible. Se recomienda el empleo de torundas especiales con un polímero con alta capacidad de absorción y con medio de transporte incluido. Es importante señalar que no deben utilizarse torundas de alginato o con soporte de madera.
- Se recomienda proveerse de sistemas especiales para virus (medio de transporte de virus).



- Introducir la torunda en la cavidad pertinente y rotarla dos o tres veces. Dejar la torunda dentro de la cavidad por un tiempo no inferior a 5 segundos, para asegurar una absorción óptima. Agitar la torunda en el interior del líquido (medio estabilizador) para conseguir una buena dispersión del exudado obtenido.



- Romper la torunda por una muesca al efecto, o cortarla con tijeras, desechar la parte superior en un contenedor para residuos biológicos, manteniendo la parte inferior (torunda) dentro del líquido (medio de transporte). Cerrar bien el tubo al finalizar la operación.
- Si no se realiza toma nasofaríngea, es pertinente realizar toma nasal y faríngea e introducir ambas torundas en un mismo medio de transporte.
- Es obligado identificar correctamente la muestra y remitirla, sin demora, al laboratorio, junto con la solicitud de realización de la prueba analítica.
- Introducir la muestra y la solicitud en los contenedores normalizados para el transporte.

b) Aspirado nasofaríngeo

- Utilizar los recipientes y dispositivos existentes al efecto.
- Las secreciones nasofaríngeas son aspiradas a través de un catéter conectado a un colector de secreciones unido a una aspiradora. El catéter es insertado en las fosas nasales paralelo al paladar. Se aplica la aspiración y el catéter se retira despacio con un movimiento de rotación. El moco de la otra fosa nasal se recoge con el mismo catéter de manera similar.
- Después de haber recogido las secreciones de ambas fosas nasales el catéter se introduce en medio de transporte.

Conservación y transporte

Períodos no superiores a 48 - 72 horas: refrigeradas a 4 °C. El transporte también será refrigerado.

Periodos superiores: congeladas, preferiblemente a – 70 °C. Se recomienda mantener la congelación durante el transporte.

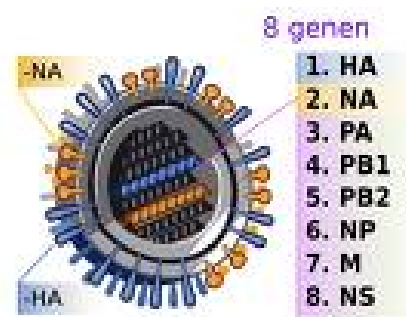




Análisis

La cepa **H1N1** es un subtipo de *Influenza virus tipo A* del virus de la gripe, perteneciente a la familia de los *Orthomyxoviridae*.

Los Influenzavirus tipo A se clasifican de acuerdo a las dos proteínas que se encuentran en la superficie del virus: Hemaglutinina (H) y Neuraminidasa (N). Los virus de influenza contienen hemaglutinina y neuraminidasa, pero la estructura de las proteínas difiere de una cepa a otra debido a una rápida mutación genética en el genoma viral.



El procedimiento recomendado para el análisis del virus de la nueva gripe A (H1N1) es la detección del gen M2 para gripe A. Las muestras positivas son analizadas para el gen específico H1.

Se realiza amplificación genómica del cADN basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. El cADN se ha obtenido, previamente, mediante la retrotranscriptasa (RT). Es decir, el método es RT-PCR a tiempo real.

Los resultados se informan como **No se detecta** (no hay amplificación ni detección del virus en la muestra recibida) o **Positivo** (indica presencia de genoma viral).

Este análisis no informa si existe viabilidad del virus, por lo que no se recomienda para monitorizar tratamientos, ni evaluar la respuesta clínica.

El plazo de entrega es de 3 días laborales.



Observaciones

Las recomendaciones para el análisis clínico y el diagnóstico de la nueva gripe pandémica A (H1N1) 2009 están sujetas a las siguientes premisas:

- a) Las autoridades sanitarias españolas (tanto estatales como de las CCAA) están realizando continuamente actualizaciones de la información disponible en sus respectivas páginas web.
- b) Cada CCAA ha establecido sus protocolos de actuación siguiendo las directrices del Ministerio de Sanidad y Política Social y de la Organización Mundial de la Salud.
- c) La actividad gripal es dinámica y cambiante, ello puede comportar que este documento se modifique.

Nota:

Este documento resume en algunos apartados las recomendaciones dadas por el Ministerio de Sanidad y Política Social; el apartado de análisis es específico de nuestro laboratorio.

Referencias:

Consejo interterritorial Sistema Nacional de la Salud. Ministerio de Sanidad y Política Social. Gobierno de España. Protocolo de pruebas diagnósticas para la nueva gripe pandémica A [H1/N1]. Versión 1.

WHO Information for Laboratory Diagnosis of New Influenza A (H1N1) Virus in Humans (1879_WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521).

Boletín Epidemiológico de Castilla-la Mancha diciembre 2003/ vol.15 /nº 50.

Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Anexo I: Mantenimiento de la Vigilancia de gripe Estacional a través del Sistema de Vigilancia de gripe en España.

Servicio de atención al cliente – SAC

Funciona de lunes a viernes de 9:00 a 19:00 h. Puede contactar con él de las siguientes formas:

- Teléfono: 93 727 22 33 – centralita
- Fax: 93 727 78 16
- e-mail: atcl@cerba.com

www.cerba.com