

Lineamientos para la vigilancia por Laboratorio de virus respiratorios

El éxito del diagnóstico de influenza y otros virus respiratorios depende:

- ✓ Dinámica de la infección (tiempo entre fecha de inicio de síntomas y fecha de recolección de muestra)
- ✓ Recolección de la muestra (buena celularidad)
- ✓ Conservación y transporte (para garantizar la viabilidad del virus y la seguridad de profesional y de la comunidad)
- ✓ Método de diagnóstico (Inmunofluorescencia y técnicas moleculares)

Toma de muestras

Las muestras deben ser tomadas por personal capacitado y teniendo en cuenta todas las instrucciones de bioseguridad, incluido el uso de los equipos de protección personal adecuado para virus respiratorios.



Las muestras recomendadas son las del tracto respiratorio inferior, incluidos el esputo, el lavado bronco alveolar y el aspirado traqueal (cuando sea posible según los criterios médicos). Sin embargo, cuando la toma de una muestra del tracto respiratorio inferior no es posible, las muestras del tracto respiratorio superior también son útiles. En general, se recomienda la toma de hisopados nasofaríngeo y orofaríngeo combinados (los hisopos deben colocarse y transportarse en un mismo tubo con medio de transporte viral). Aunque no se recomienda el muestreo de contactos asintomáticos de forma rutinaria, si se considera necesario de acuerdo con las guías nacionales, se deben considerar la toma muestras de las vías respiratorias superiores para este tipo de muestreo.

Hisopados:

Recolectar con hisopos con punta sintética (por ejemplo, poliéster o Dacron®) y mango plástico en mínimo 1.5 ml de Medio de transporte viral (MTV). No use hisopos con alginato de calcio o hisopos de madera, debido a que estos pueden contener sustancias que son tóxicas en técnicas como el aislamiento viral en cultivos celulares o inhiben las pruebas moleculares de PCR.

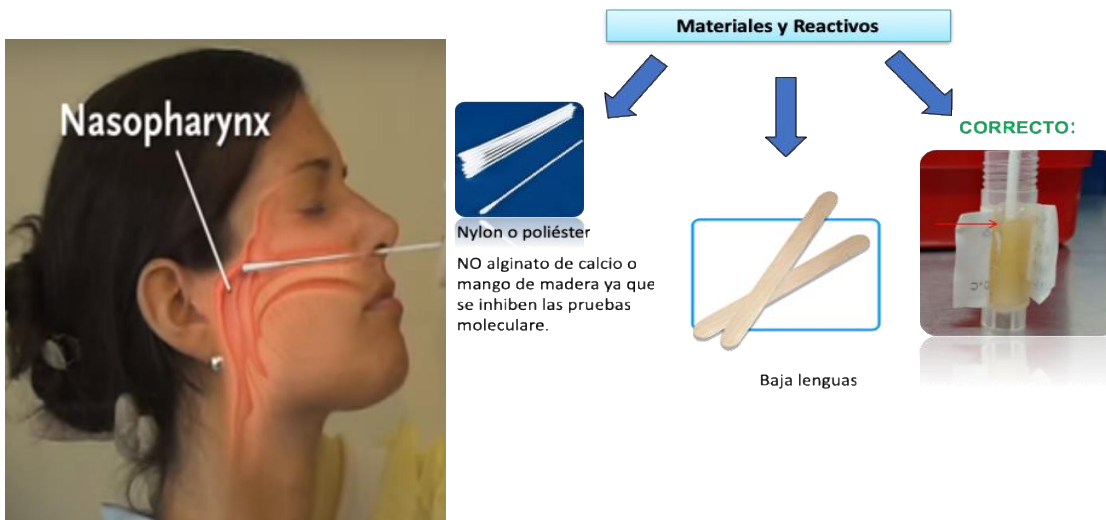
Ejemplo: Hisopados nasofaríngeos, hisopados combinados nasofaríngeo y nasal

Nota: La UPGD no debe retirar los hisopos, ya que éstos no cuentan con cabina de bioseguridad.

1. Póngase los guantes y destape el hisopo.
2. Inclíne al paciente en un ángulo de 45 grados
3. Pida al paciente que abra la boca y saque la lengua repitiendo reiteradamente la letra “A” con el fin de mantener la faringe cerrada.
4. Con la ayuda de una baja lengua presione la lengua. La manipulación en este momento de la recolección de muestra es de gran importancia para evitar que la lengua interfiera, y también para evitar la contaminación que de ella se derive.
5. Lleve el hisopo hasta el fondo de la orofaringe y rótelo por la parte posterior de las tonsilas (amígdalas), y a la vez de arriba hacia abajo, con el fin de obtener el mayor número de células.
6. Posteriormente el hisopo debe colocarse en un vial de plástico que contiene de 1,5 ml de medio de transporte viral (MTV), cortando el resto del escobillón para que permita tapar adecuadamente el vial con la muestra.
7. Finalmente marque el recipiente de la muestra con la fecha de la recolección y el nombre del paciente.



Fuente: Grupo de Virología - SRNL

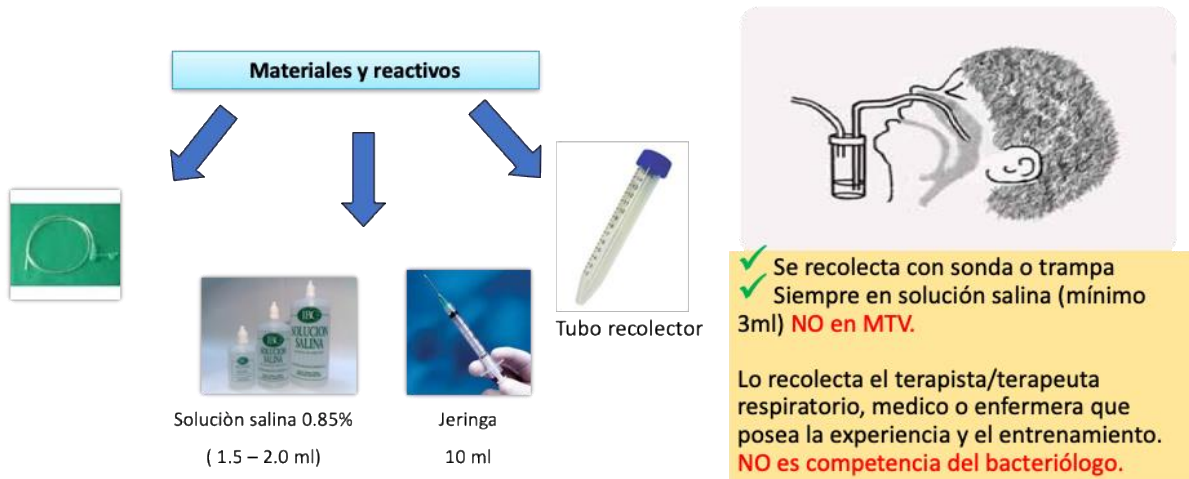


Las muestras de hisopados faríngeos deben ser recolectadas en medio de transporte de viral (MTV) mínimo en un volumen de 1,5ml y se les debe dejar el escobillón dentro del MTV, para que los LSP o el INS con capacidad de proceso, sean los responsables de retirar este escobillón y así continuar con el debido procedimiento de IFI o de PCR; muestras que envíen como muestras de hisopados en solución salina no serán procedas por el INS o por el LSP.

Aspirado Nasofaríngeo: Aspirado nasofaríngeo, Aspirado endotraqueal



Muestra de aspirado nasofaríngeo



1. Utilice una sonda de calibre 8, para adultos, solución salina y una jeringa de 10 ml.
2. Mida la distancia entre el lóbulo auricular y la punta de la nariz del paciente, que sera la longitud a introducir de la sonda.
3. Verifique la permeabilidad de las fosas nasales
4. Utilice la fosa nasal más permeable para realizar la aspiración.
5. Lubrique la punta de la sonda con la solución salina
6. Introduzca 5.0 ml de solución salina estéril (pH: 7.0) en una de las fosas nasales utilizando una jeringa unida a la sonda nasofaríngea hasta la medida indicada o hasta que se produzca la tos.
7. Aspire todo el material de la secreción nasofaríngea que sea posible, lo mínimo que debe aspirar es 3 ml del contenido destilado
8. Agregue la muestra al vial estéril.
9. Enjuague la jeringa en el vial estéril.
10. Repita el procedimiento con la otra ventana nasal.
11. Coloque la muestra en el vial que contiene de 2 ml de solución salina
12. Marque el recipiente de la muestra con la fecha de la recolección, el número del consecutivo y el nombre del paciente.

Nota: Todas las muestras de aspirados nasofaríngeos deben ser recolectadas en mínimo 3ml de solución salina estéril, el aspirado puede ser recolectado con sonda nasofaríngea o con trampa, de acuerdo al procedimiento que cada hospital lleva a cabo.

Es decisión de la UPGD dejar o no la sonda dentro de la solución salina (3ml), siempre y cuando que si deciden retirarla deben garantizar el debido escurrimiento del contenido de la sonda en los 3ml de solución salina, esto con el fin de evitar la pérdida de la partícula viral y evitar muestras inadecuadas o falsos negativos.

Lavados Nasal o Broncoalveolar

1. Se aconseja al paciente sentarse con la cabeza ligeramente inclinada de atrás para adelante diciendo "K" mientras se realizan lavados con solución salina, la cual se aplica en la ventana nasal con una pipeta de transferencia.
2. Posteriormente el paciente inclina la cabeza hacia delante.

3. Se recoge la muestra en recipiente con tapa de rosca.
4. El proceso es repetido alternando las fosas nasales hasta recolectar un total de 10 - 15 ml de lavado.
5. Luego se realiza una dilución 1:2 de 3 ml de lavado. Marque el recipiente de la muestra con la fecha de la recolección, el número del consecutivo y el nombre del paciente.

Biopsia del tracto respiratorio

Se debe recolectar muestras de secreción respiratoria hasta seis horas posteriores a la muerte, y/ó recolectar cortes de tejido 4x5 cm del tracto respiratorio que representen el órgano y en frascos independientes, refrigerados para análisis virológico, con contra muestra adicional de los mismos tejidos en formol tamponado al 10 % para estudio histopatológico

1. Parénquima pulmonar representativo de los pulmones derecho e izquierdo.
2. Bronquios primarios derecho e izquierdo
3. Tráquea (proximal y distal)

Esta muestra debe refrigerarse a 4°C rápidamente y enviarse al laboratorio para ser procesada a la mayor brevedad posible Si esta norma no puede cumplirse entonces deberá congelarse – 70°C hasta su traslado al laboratorio.

Tipo de muestra, conservación, almacenamiento y transporte:

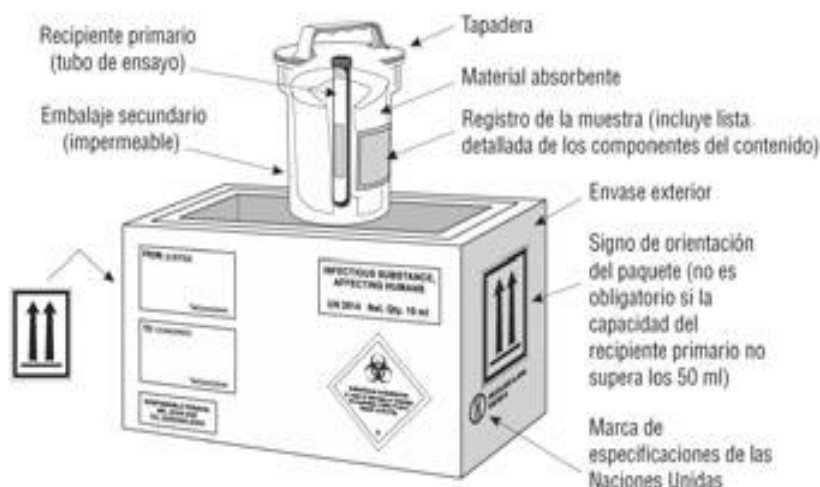
Todas las muestras clínicas deben conservasen a temperatura de refrigeración es decir entre -2 a 8°C, sino es así, es decir si van a ser procesadas o enviadas al LSDP o al INS después de las 48 horas se deben conservar congeladas (-70°C). El transporte de las muestras debe realizarse con geles o pilas congeladas, temperaturas superiores a 8°C degradan la partícula viral, obteniéndose falsos negativos. Muestras que lleguen al INS con temperaturas superiores a 8°C, no serán procesadas.

Conservación de la muestra respiratoria	
Refrigeración (2-8°C)	72 horas
Congelación -70°C	Años

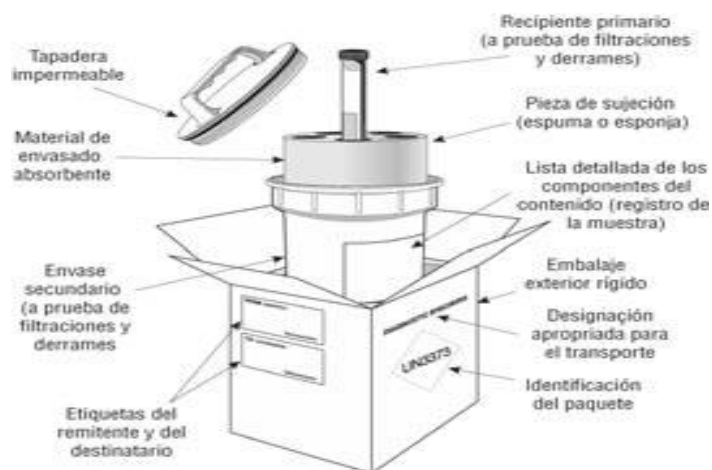
Para el transporte de muestras debe usarse el sistema básico de Triple Empaque. De acuerdo a las normativas vigentes para el transporte seguro de sustancias infecciosas. Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019–2020. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/327978/WHO-WHE-CPI-2019.20-spa.pdf?ua=1> y las instrucciones para el envío de muestras al INS, se encuentran disponibles en el manual de procesamiento para la toma, conservación y envíos de muestras al LNR disponible en: http://www.ins.gov.co/Direcciones/RedesSaludPublica/DocumentosdeInteresSRNL/Manual_toma_envio_muestras_INS-2019.pdf

El embalaje debe constar de tres componentes:

- A) **Recipiente principal o primario hermético:** es el que contiene la muestra
- B) **Embalaje secundario/contenedor secundario hermético:** debe ser resistente y anti fugas
- C) **Embalaje exterior rígido adecuado:** cuenta con una superficie de una dimensión de al menos 10 cm x 10 cm.



Embalaje/ensado y etiquetado de sustancias infecciosas de la categoría A



Embalaje/ensado y etiquetado de sustancias infecciosas de la categoría B

El INS se reserva el derecho de no procesar muestras en los siguientes casos:

- A) Muestras que no cumplan con las definiciones correctas de caso.
- B) Muestras procedentes de LDSP con capacidad diagnóstica (a excepción de casos fatales o IRAG inusitado).
- C) Muestras inadecuadas (mal embaladas, muestras no aptas para proceso, muestras mal conservadas o con deficiente diligenciamiento de la ficha).

Documentación requerida: Las muestras deben ir acompañadas de un conjunto mínimo de datos para que el laboratorio pueda tomar la decisión de cuáles son las pruebas diagnósticas más adecuadas e interpretar los resultados. Los datos más importantes son:

- Nombre y Apellidos
- Fecha del comienzo de los primeros síntomas Fecha de Toma de las Muestras
- Tipo de Muestra (Aspirado nasofaríngeo, lavado broncoalveolar, Necropsia etc).

Las pruebas para la identificación del nuevo coronavirus **SARS-CoV-2**, que está causando la enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19) deben considerarse **solo para pacientes que cumplan la definición del caso**, consulte los algoritmos de diagnóstico, los cuales se estarán actualizando permanentemente.

FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS (RNL) PARA LA VIGILANCIA DE INFLUENZA Y OTROS VIRUS RESPIRATORIOS

- **Funciones de los laboratorios prestadores públicos y privados o referentes para el evento en el nivel municipal y/o local, según corresponda**
 - ✓ Informar a los Laboratorios de Salud Pública (LSP), las técnicas de diagnóstico que realizan en sus laboratorios para apoyar el diagnóstico de la IRA.
 - ✓ Asegurar todos los insumos y reactivos para la recolección de muestras respiratorias conforme a los lineamientos de toma y recolección.
 - ✓ Asegurar el envío de las muestras respiratorias al LSP, dentro de los tiempos y condiciones de embalaje, conservación y transporte.
 - ✓ Realizar la remisión de muestras con la documentación respectiva.
 - ✓ Realizar las pruebas del panel de virus respiratorios y bacterianos y realizar la confirmación del agente etiológico de acuerdo a su capacidad diagnóstica, de lo contrario seguir el procedimiento de envío de las muestras al LSP.
 - ✓ En caso de llegar a adquirir un estuche o kit comercial para diagnóstico del nuevo Coronavirus (**SARS-CoV-2**) deberá tener en cuenta que toda muestra positiva obtenida mediante estos kits o estuches comerciales, deberá enviarse al LNR-INS o a un LSP colaborador, para realizar su correspondiente confirmación del resultado. Por ningún motivo podrá liberar un resultado, sin surtir este paso.

- **Funciones del Laboratorio de Salud Pública Departamentales (LSPD)**
 - ✓ Adoptar las políticas nacionales del LNR.
 - ✓ Monitorear la red de hospitales y clínicas que realizan la vigilancia de IRA y verificar los estándares de calidad, de acuerdo a la resolución 1619 de 2015.
 - ✓ Realizar la identificación viral de influenza y otros virus respiratorios, de acuerdo a la capacidad diagnóstica de su laboratorio, a todas las muestras procedentes de la vigilancia de IRA (IFI/RT-PCR u otra técnica). Los Laboratorios de Salud Pública designados como colaboradores por el LNR para la vigilancia por laboratorio de virus influenza y otros virus respiratorios realizarán el diagnóstico para IRA, IRAG e IRAGi y aplicarán los mismos algoritmos implementados y transferidos por el LNR-INS.

- ✓ Asegurar todos los insumos y reactivos para la recolección de muestras respiratorias y procesamiento de las muestras
- ✓ Asegurar la vigilancia de las diferentes estrategias de la vigilancia de IRA
- ✓ Capacitar a la red de laboratorios en la toma, diagnóstico, interpretación de las pruebas y envío de muestras nasofaríngeas para diagnóstico de influenza y otros virus respiratorios.
- ✓ Informar a los epidemiólogos los casos confirmados por el laboratorio.
- ✓ Garantizar la vigilancia de IRA en su departamento, corroborar que las muestras estén correctamente embaladas para su envío al INS-Grupo de Virología.
- ✓ Realizar el envío de las muestras de acuerdo los lineamientos nacionales

• **Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR):**

Dentro de las funciones enmarcadas en la vigilancia por laboratorio del evento se encuentran:

- ✓ Procesar las muestras de laboratorios con centinelas ESI/IRAG sin capacidad diagnóstica
- ✓ Procesar las muestras de IRA inusitado, mortalidades (tejidos)
- ✓ Estandarizar e implementar técnicas de diagnóstico para virus respiratorios
- ✓ Capacitar / brindar asistencia técnica en el diagnóstico por laboratorio a los LSPD
- ✓ Participar en proyectos internos y externos (nacional o internacional)
- ✓ Enviar al CDC las muestras no subtipificables.
- ✓ Enviar muestras con potencial pandémico al CDC como, SARS-CoV-2, MERS-CoV, etc.
- ✓ Apoyar a los LSPD con el envío de medios de transporte viral MTV para la remisión de muestras para la vigilancia de IRA
- ✓ Emitir el resultado (informe virológico) dentro del tiempo determinado según los indicadores,
- ✓ Cumplir con las actividades del NIC (Centro Nacional de Influenza),

Otras funciones:

- ✓ Brindar asesoría técnica al Ministerio de Salud y Protección Social para la formulación de políticas y lineamientos del evento.
- ✓ Elaborar informes, guías y documentos técnicos científicos.
- ✓ Definir las técnicas de confirmación en la red de laboratorios.
- ✓ Difundir los lineamientos de remisión, transporte, conservación de las muestras y de los aislamientos.



- ✓ Realizar la estandarización y/o validación de las metodologías diagnósticas para su implementación en el país.
- ✓ Capacitar a los profesionales de la Red de Laboratorios.
- ✓ Participar en programas Interlaboratorios internacionales o de ensayos de aptitud.

Elaboró: Luz Dary Rodríguez Calderón

Juliana Barbosa Ramírez

Profesionales especializadas. Grupo de Virología. Laboratorio de Virus Respiratorios

Revisó: Esther Cristina Barros Liñán. Profesional Especializado. Dirección Redes en Salud Pública

Aprobó: Carolina Flórez Sánchez. Directora Redes en Salud Pública