

Pruebas de laboratorio para la infección por el virus de Zika

Orientación provisional

23 de marzo 2016

WHO/ZIKV/LAB/16.1



Organización
Mundial de la Salud

1. Introducción

1.1 Información general

El reciente aumento de los casos de microcefalia y de otros trastornos neurológicos posiblemente asociados a la infección por el virus de Zika ha provocado un aumento de la demanda de pruebas de laboratorio para detectar dicha infección. Los grupos prioritarios para la realización de pruebas diagnósticas son los pacientes sintomáticos y las embarazadas asintomáticas posiblemente expuestas al virus. En el presente documento, que será revisado y actualizado cuando se disponga de más información, se ofrece orientación sobre las actuales estrategias relativas a la realización de pruebas para la infección por el virus de Zika.

1.2 Público destinatario

La presente orientación provisional es para uso del personal de los laboratorios que realicen pruebas para la infección por el virus de Zika y los clínicos y profesionales de la salud pública encargados de la atención clínica y la vigilancia.

2. Recomendaciones provisionales

2.1 Muestras

El virus de Zika se ha detectado en sangre entera (también en suero y plasma), orina, líquidos cefalorraquídeo y amniótico, semen y saliva. Cada vez hay más pruebas de que el virus está presente en la orina y el semen durante más tiempo que en la sangre entera o la saliva. [3]

Aunque todavía se están recogiendo datos sobre la duración de la persistencia del virus en la saliva, el líquido cefalorraquídeo, el semen y los productos de la concepción, a los efectos del presente documento se recomienda que a los pacientes se les extraigan muestras de sangre entera o suero y/u orina.

No obstante, la OMS recomienda que, a ser posible, se obtengan otros tipos de muestras para las pruebas de confirmación o para investigar la asociación entre la infección por el virus de Zika y las complicaciones neurológicas, la microcefalia y la posible transmisión sexual.

- **Muestras para análisis de ácidos nucleicos:** sangre entera, suero recogido en tubo seco y/u orina en pacientes cuyos síntomas hayan empezado hace 7 días o menos.
- **Serología (detección de IgM):** sangre entera recogida en tubo seco y suero en pacientes cuyos síntomas

hayan empezado hace 7 días o más. Siempre que sea posible se deben obtener muestras apareadas de suero con un intervalo de 2-3 semanas, y lo ideal es que la primera se obtenga en los 5 primeros días de la enfermedad.

Además de la información sobre el paciente registrada al obtener la muestra (nombre completo, fecha de nacimiento, dirección, fecha y hora de obtención de la muestra, etc.), también se debería registrar la información siguiente:

- **síntomas, con su duración y fecha de inicio, contacto con casos conocidos de infección por el virus de Zika y tipo de contacto (por ejemplo, lactancia materna, pareja sexual);**
- **antecedentes completos de viaje (fechas, lugares, duración de la estancia), y**
- **antecedentes de vacunación, especialmente contra flavivirus y en particular contra los virus de la fiebre amarilla, la encefalitis japonesa y, cuando esté disponible, los virus del dengue.**

Durante los brotes, y especialmente en las zonas con transmisión generalizada, resulta rentable realizar pruebas a todos los casos sospechosos. Se deberían priorizar los siguientes grupos para la obtención y análisis de muestras:

- pacientes con contactos sexuales con casos confirmados o probables;
- pacientes que cumplan la definición de caso sospechoso con trastornos neurológicos;
- embarazadas con antecedentes de viaje a zonas donde haya transmisión del virus de Zika y/o de contacto sexual con casos confirmados o probables;
- embarazadas de zonas donde haya transmisión del virus de Zika y cuyos fetos presenten, o se sospeche que puedan presentar, malformaciones cerebrales congénitas;
- recién nacidos con microcefalia o malformaciones congénitas nacidos en zonas donde haya transmisión del virus de Zika o cuyas madres tengan antecedentes de viaje a zonas afectadas por el virus durante el embarazo;
- lactantes cuyas madres hayan sido diagnosticadas de infección por el virus de Zika, especialmente si son amamantados, y
- nonatos o abortos espontáneos de mujeres que durante el embarazo hayan vivido en zonas afectadas por el virus o viajado a ellas.

2.2 Estrategia para la realización de pruebas

La estrategia adoptada por cada laboratorio debería ser determinada por los recursos disponibles y su flujo de trabajo. Los enfoques utilizados con estas estrategias variarán dependiendo de la prevalencia de los virus que se sabe que están circulando en la zona donde los pacientes estuvieron expuestos.

La OMS recomienda las estrategias siguientes:

- **Análisis de ácidos nucleicos** en pacientes cuyos síntomas hayan empezado hace menos de 7 días.
- **Serología y/o análisis de ácidos nucleicos** en pacientes cuyos síntomas hayan empezado hace 7 días o más. La serología es el método preferido en muestras de pacientes cuyos síntomas hayan empezado hace más de 7 días. Si se utilizan análisis de ácidos nucleicos, los resultados negativos deben interpretarse con cautela, pues no descartan la infección, dado que la viremia disminuye rápidamente 7 días después del inicio de los síntomas y puede no ser detectada por las pruebas en el límite inferior de la sensibilidad.

a. Algoritmo propuesto para los casos sospechosos de infección por arbovirus identificados en los 7 días siguientes al inicio de los síntomas (anexo 1, figura 1)

La presencia del virus de Zika puede confirmarse con un análisis de ácidos nucleicos, como la PCR-RT (reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa), para detectar secuencias genómicas específicas del virus de Zika. Los laboratorios que utilicen pruebas panflavivíricas combinadas con secuenciación génica u otros métodos moleculares convencionales, como las pruebas múltiples de detección de flavivirus, deben asegurarse de que las secuencias cebadoras internas hayan sido actualizadas para detectar los linajes recientes del virus de Zika. Se han publicado series de cebadores y sondas para pruebas específicas para el virus de Zika. [5]

Dado que se han documentado coinfecciones por el virus de Zika y otros arbovirus y teniendo en cuenta la circulación endémica de flavivirus, los análisis para el virus de Zika deberían realizarse junto con análisis para los virus del dengue y la fiebre chikungunya, de forma secuencial o en paralelo.

b. Algoritmo propuesto para los casos sospechosos de infección por arbovirus identificados más de una semana después del inicio de los síntomas (anexo 1, figura 2)

Las pruebas serológicas para el virus de Zika solo deberían realizarse en laboratorios con experiencia en la serología de flavivirus. Las pruebas serológicas recomendadas incluyen los inmunoensayos enzimáticos y la inmunofluorescencia para detectar anticuerpos IgM, utilizando para ello lisados víricos, sobrenadantes de cultivos celulares o proteínas recombinantes, así como pruebas de neutralización como la prueba de neutralización por reducción de placa (PRNT). Aunque la PRNT suele proporcionar la mayor especificidad, las pruebas serológicas están sujetas a reactividad cruzada, especialmente en pacientes con antecedentes de infección

por flavivirus o inmunizados frente a ellos. En pacientes que se presenten 7 o más días después del inicio de los síntomas, la estrategia se centra en la serología de la IgM debido a la disponibilidad de reactivos. La detección de la IgM debe realizarse en embarazadas de zonas de transmisión endémica o que pudieran haber tenido contacto con el virus de Zika, ya sea transmitido por vectores o por vía sexual. Si fueran necesarias otras pruebas, el uso de pruebas de neutralización comparativas puede proporcionar una mayor especificidad.

En general, un resultado reactivo para la IgM contra el virus de Zika en ausencia de IgM contra el virus del dengue u otros flavivirus indica exposición reciente al virus de Zika (figura 2). Para los laboratorios que realicen PRNT, la cuadruplicación de los títulos de anticuerpos neutralizantes en ausencia de aumento de los anticuerpos contra otros flavivirus es una prueba adicional de infección reciente por el virus de Zika. Se ofrecerán nuevas orientaciones sobre las pruebas serológicas cuando se disponga de más información.

c. Pruebas diagnósticas in vitro (PDIV) del virus de Zika que se pueden utilizar en el lugar de atención o cerca de él

Hay gran necesidad de disponer de PDIV rápidas y simples para la infección por el virus de Zika que se puedan utilizar en el lugar de atención o cerca de él. Se debe prestar una cuidadosa atención a la evaluación reglamentaria de la calidad, seguridad y rendimiento a la hora de seleccionar una PDIV utilizable en el lugar de atención.

2.3 Procesamiento y almacenamiento de las muestras

Cuando se utilicen pruebas comerciales, las muestras deben obtenerse, transportarse y almacenarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En todas las demás circunstancias se recomienda que las muestras se mantengan refrigeradas a temperaturas de 2 a 8 °C y se analicen en un plazo de 48 horas. Si el análisis se retrasa más de 48 horas, debería separarse el suero y almacenarlo separadamente. Todos los tipos de muestras deben congelarse a -20 °C hasta los 7 días. Más allá de los 7 días, deben congelarse a -70 °C. Hay que evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

La temperatura debe controlarse y registrarse periódicamente para identificar posibles fluctuaciones. Los refrigeradores y congeladores domésticos con amplias fluctuaciones de temperatura no son adecuados para guardar muestras congeladas.

2.4 Bioseguridad

La labor diagnóstica en el laboratorio, incluidas la PCR-RT y las pruebas serológicas con muestras clínicas de pacientes con sospecha o confirmación de infección por el virus de Zika, debe realizarse en condiciones de bioseguridad de nivel 2, tal como se describen en la tercera edición del *Manual de bioseguridad en el laboratorio* de la OMS. [4]

Toda prueba para detectar la presencia del virus de Zika debe ser realizada en laboratorios con equipo apropiado y personal capacitado en los procedimientos técnicos y de

seguridad pertinentes. Las directrices nacionales sobre la bioseguridad en el laboratorio deben seguirse en todas las circunstancias.

2.5 Envío de las muestras

Las muestras que se sepa que contienen virus de Zika, o de las que se sospeche que puedan contenerlo, deben enviarse en hielo seco como sustancias biológicas de la categoría B, UN3373.

Deben seguirse las regulaciones internacionales descritas en la *Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2015–2016* de la OMS. [6]

2.6 Elección de las PDIV

Para velar por que las pruebas sean seguras y eficaces hay que tener en cuenta el diseño y el rendimiento de los productos diagnósticos. Hasta la fecha hay pocas PDIV comerciales para el virus de Zika que hayan sido sometidas a una evaluación reglamentaria de su calidad, seguridad o rendimiento.

Varias instituciones han creado ensayos internos para el virus de Zika. La OMS recomienda que los laboratorios que deseen desarrollar y realizar PCR-RT internas encarguen a su proveedor habitual las series publicadas de cebadores/sondas que permiten detectar todos los linajes circulantes de virus de Zika y se aseguren de que la prueba haya sido validada adecuadamente para ser utilizada con cada tipo de muestra. Con respecto a las pruebas comerciales, los laboratorios deben seguir las instrucciones del fabricante acerca del tipo de muestra y, si es necesario, validar sus pruebas para diferentes tipos de muestras y poner en práctica controles internos apropiados del proceso y controles externos de la calidad. Se pueden obtener materiales para el control de calidad en el archivo europeo de virus (<http://global.european-virus-archive.com/>) y pronto estarán disponibles también mediante un programa OMS sobre preparaciones biológicas internacionales de referencia. Las oficinas regionales de la OMS pueden prestar ayuda en este proceso.

En respuesta a la necesidad de disponer de PDIV de calidad garantizada para el virus de Zika, la OMS ha elaborado un procedimiento de evaluación y listado para uso de emergencia (EUAL), [7] mediante el cual se determina si hay suficientes pruebas que muestren que los beneficios proporcionados por el uso de PDIV para el virus de Zika superan los riesgos previsibles en el contexto actual. La inclusión en la lista de la OMS también obliga al fabricante a informar sobre cuestiones relacionadas con el rendimiento y la calidad. Dadas las consecuencias del diagnóstico erróneo, la OMS recomienda vivamente que para diagnosticar la infección por el virus de Zika solo se utilicen PDIV que hayan sido sometidas a una evaluación independiente e integral de su calidad, seguridad y rendimiento.

3. Elaboración de la orientación

3.1 Nota de agradecimiento

Las siguientes personas participaron en la elaboración de la presente orientación provisional: Dra. Emma Aarons, Salud Pública de Inglaterra; Profesor John Aaskov, Universidad Tecnológica de Queensland (Australia); Dr. Daniel Bailey, Salud Pública de Inglaterra; Dra. Cristina Domingo Carrasco, Centro para Amenazas Biológicas y Patógenos Especiales (Alemania); Dr. Sebastien Cognat, Departamento de Capacidad, Alerta y Respuesta Mundiales, OMS/Lyon; Kara Durski, Enfermedades Zoonóticas Emergentes y Epidémicas, Sede de la OMS; Dr. Pierre Formenty, Enfermedades Zoonóticas Emergentes y Epidémicas, Sede de la OMS; Dra. María Guadalupe Guzmán, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (Cuba); Dra. Pamela Hepple, OMS/EURO; Profesora Marion Koopmans, Instituto Nacional de Salud Pública y Medio Ambiente (Países Bajos); Dra. Isabelle Leparç-Goffart, Centro Nacional de Referencia para Arbovirus (Francia); Dr. Jairo Méndez Rico, OMS/AMRO; Robyn Meurant, Precalificación, Sede de la OMS; Dr. Jorge Muñoz, Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (Estados Unidos de América); Dhamari Naidoo, Enfermedades Zoonóticas Emergentes y Epidémicas, Sede de la OMS; Dr. Karen Nahapetyan, OMS/EMRO; Dr. Lee Ching Ng, Agencia Nacional de Medio Ambiente (Singapur); Dr. Claudius Nuebling, Tecnologías, Estándares y Normas, Sede de la OMS; Dr. Christopher Oxenford, Departamento de Capacidad, Alerta y Respuesta Mundiales, WHO/Lyon; Sra. Irena Prat, Medicamentos y Productos Sanitarios Esenciales, Sede de la OMS; Dra. Chantal Ruesken, Centro Médico Erasmo (Países Bajos); Sra. Anita Sands, Precalificación, Sede de la OMS; Dr. Jonas Schmidt-Chansit, Instituto Bernhardt Nocht (Alemania); Dr. Willy Urassa, Precalificación, Sede de la OMS; Dr. Herve Zeller, Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades.

3.2 Métodos de elaboración de la orientación

A través de las redes existentes de Centros Colaboradores de la OMS se identificaron expertos en pruebas de laboratorio y virología de las Regiones de las Américas, Europa y Pacífico Occidental. El grupo de expertos se reunió mediante teleconferencia el 18 de febrero de 2016 para examinar el proyecto de orientación. Posteriormente, los participantes hicieron aportaciones por escrito que se incorporaron al documento revisado. En marzo de 2016 se efectuó una segunda ronda de examen, después de una reunión consultiva de la OMS, celebrada el 14 y 15 de marzo de 2015 en Ginebra (Suiza), sobre los requisitos de laboratorio y de expediente para la inclusión en el EUAL de productos diagnósticos para el virus de Zika.

3.3 Declaración de intereses

De las declaraciones de intereses recabadas no se coligió la existencia de conflictos de intereses. No se utilizaron fondos específicos en la elaboración de la presente orientación provisional.

4. Referencias

1. Garcia E, Yactayo S et al. Zika virus infection: global update on epidemiology and potentially associated clinical manifestations. *Weekly Epidemiological Record* 2016; 91: 73-81. <http://www.who.int/wer/en>
2. Hill S, Russell K, et al. Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission — Continental United States, 2016. *Morbidity and Mortality Weekly Report* ePub: 26 February 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6508e2er>
3. Gourinat AC, O'Connor O et al. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis*. [Internet]. 2015 Jan. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2101.140894>
4. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd edition. Geneva, 2004. Available online at http://www.who.int/ihr/publications/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/
5. Charrel RN, Leparac-Goffart I et al. State of knowledge on Zika virus for an adequate laboratory response [Submitted]. *Bull World Health Organ* E-pub: 10 Feb 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.16.171207>
6. World Health Organization. *Guidance on Regulations for the Transport of Infectious Substances 2015-2016*. Geneva, 2015. Available online at http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_2015.2/en/
7. World Health Organization. *Emergency Use Assessment and Listing (EUAL) Procedure for Zika Virus Disease (IVDs)* [Webpage]. Accessed 20 Feb 2016. Available online at http://www.who.int/diagnostics_laboratory/eual-zika-virus/zika/en/

© Organización Mundial de la Salud 2016

Se reservan todos los derechos. Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud están disponibles en el sitio web de la OMS (<http://www.who.int>) o pueden comprarse a Ediciones de la OMS, Organización Mundial de la Salud, 20 Avenue Appia, 1211 Ginebra 27, Suiza (tel.: +41 22 791 3264; fax: +41 22 791 4857; correo electrónico: bookorders@who.int). Las solicitudes de autorización para reproducir o traducir las publicaciones de la OMS - ya sea para la venta o para la distribución sin fines comerciales - deben dirigirse a Ediciones de la OMS a través del sitio web de la OMS (http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html).

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Mundial de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

La Organización Mundial de la Salud ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la Organización Mundial de la Salud podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.

Anexo 1. Algoritmos para la realización de las pruebas

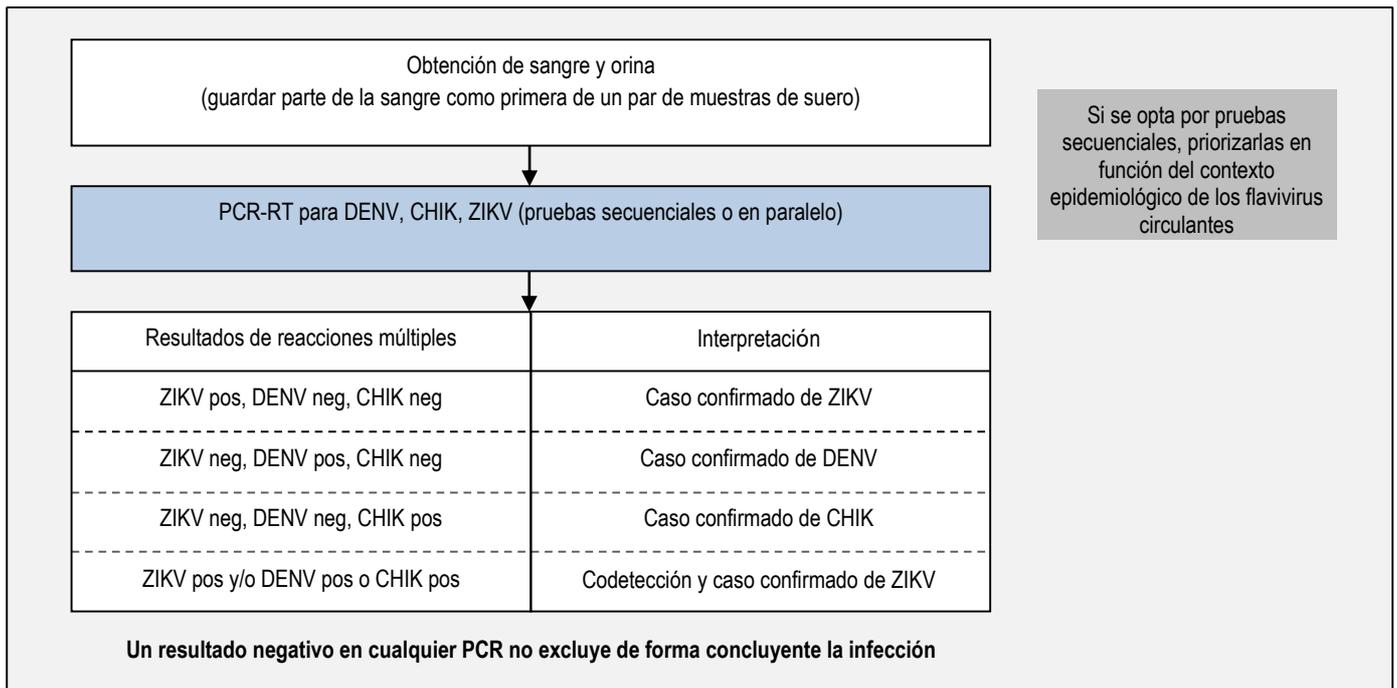


Figura 1. Algoritmo propuesto para los casos sospechosos de infección por arbovirus identificados en los 7 días siguientes al inicio de los síntomas

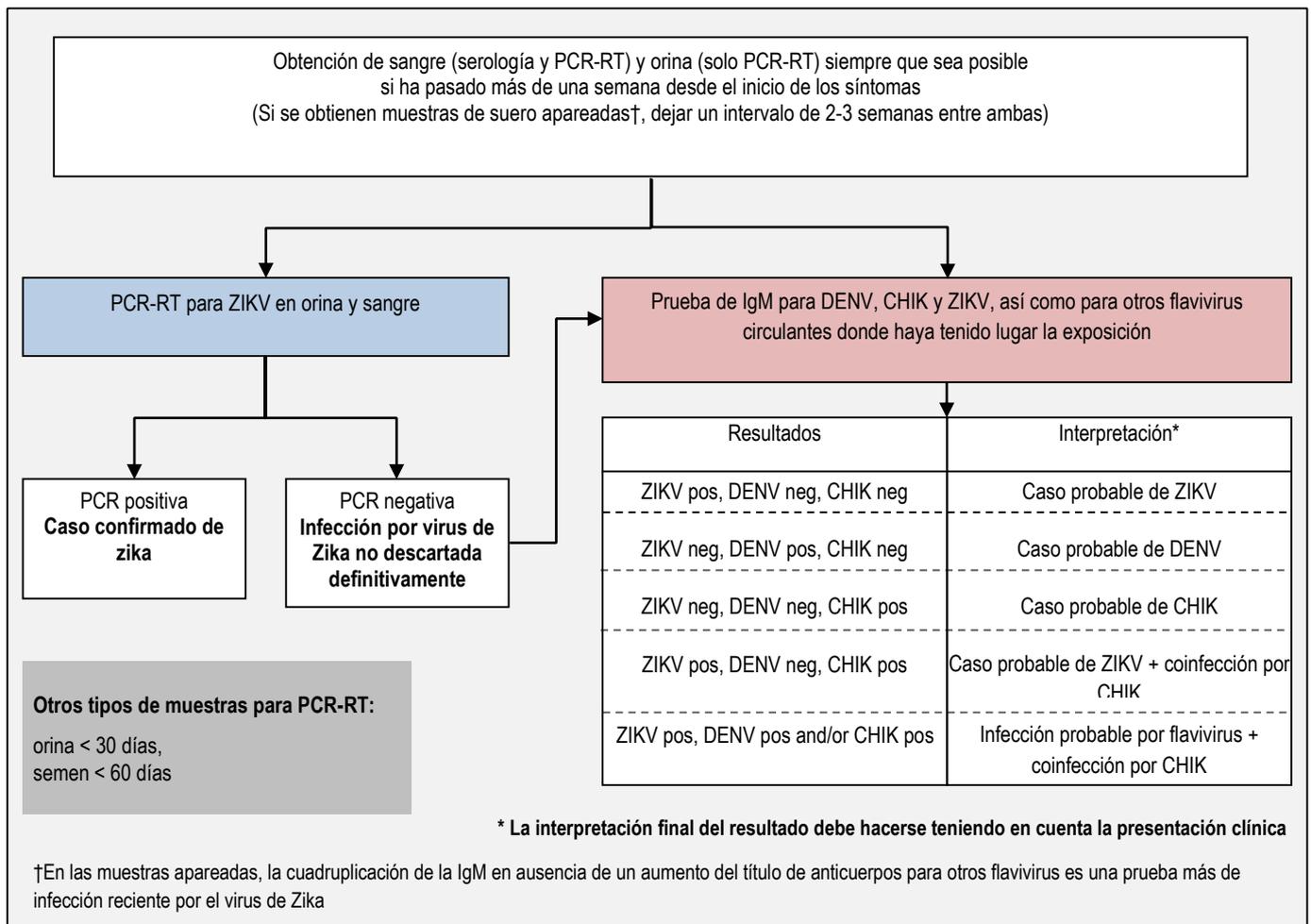


Figura 2. Algoritmo propuesto para los casos sospechosos de infección por arbovirus identificados más de una semana después del inicio de los síntomas