



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

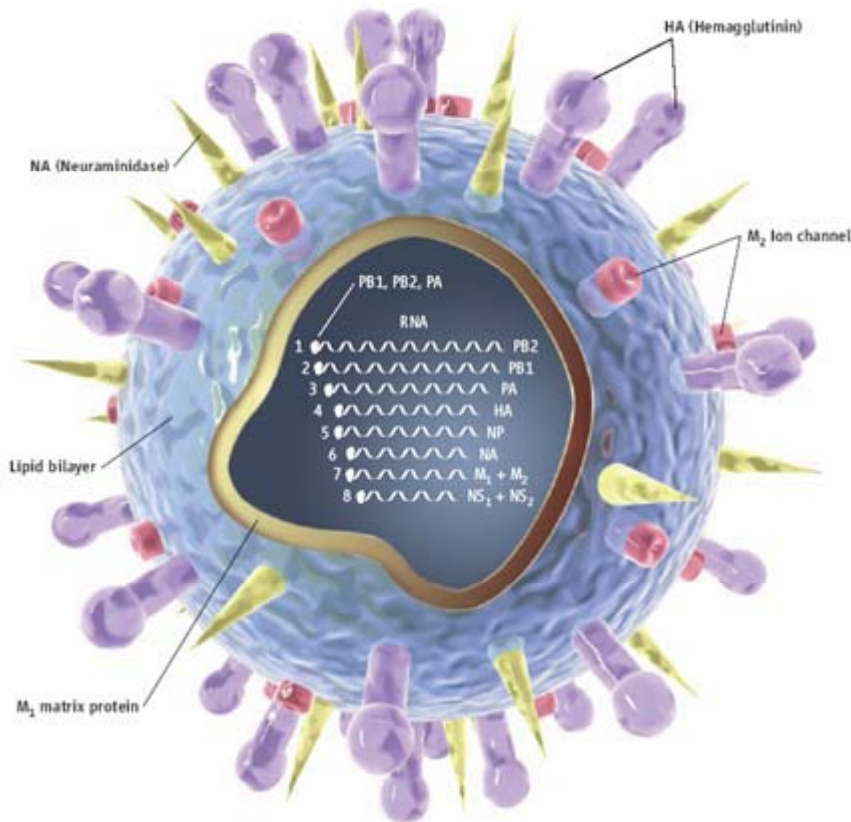


Diagnóstico de Influenza

Victor Fiestas Solórzano

Centro Nacional de Salud Pública

Virus Influenza



- Familia Orthomyxoviridae
- 3 tipos: A, B, C
- RNA con 8 segmentos
- Subtipos del tipo A son determinados por antígenos hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N)
- La estructura de la hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N) cambian periódicamente



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Cambios antigénicos del virus

- **Drift:** **Cambio menor, mismo subtipo**
Mutaciones puntuales en genes
Puede causar epidemia
- **Shift:** **Cambio mayor, nuevo subtipo**
Intercambio de segmentos de genes
Puede causar pandemia



PERÚ

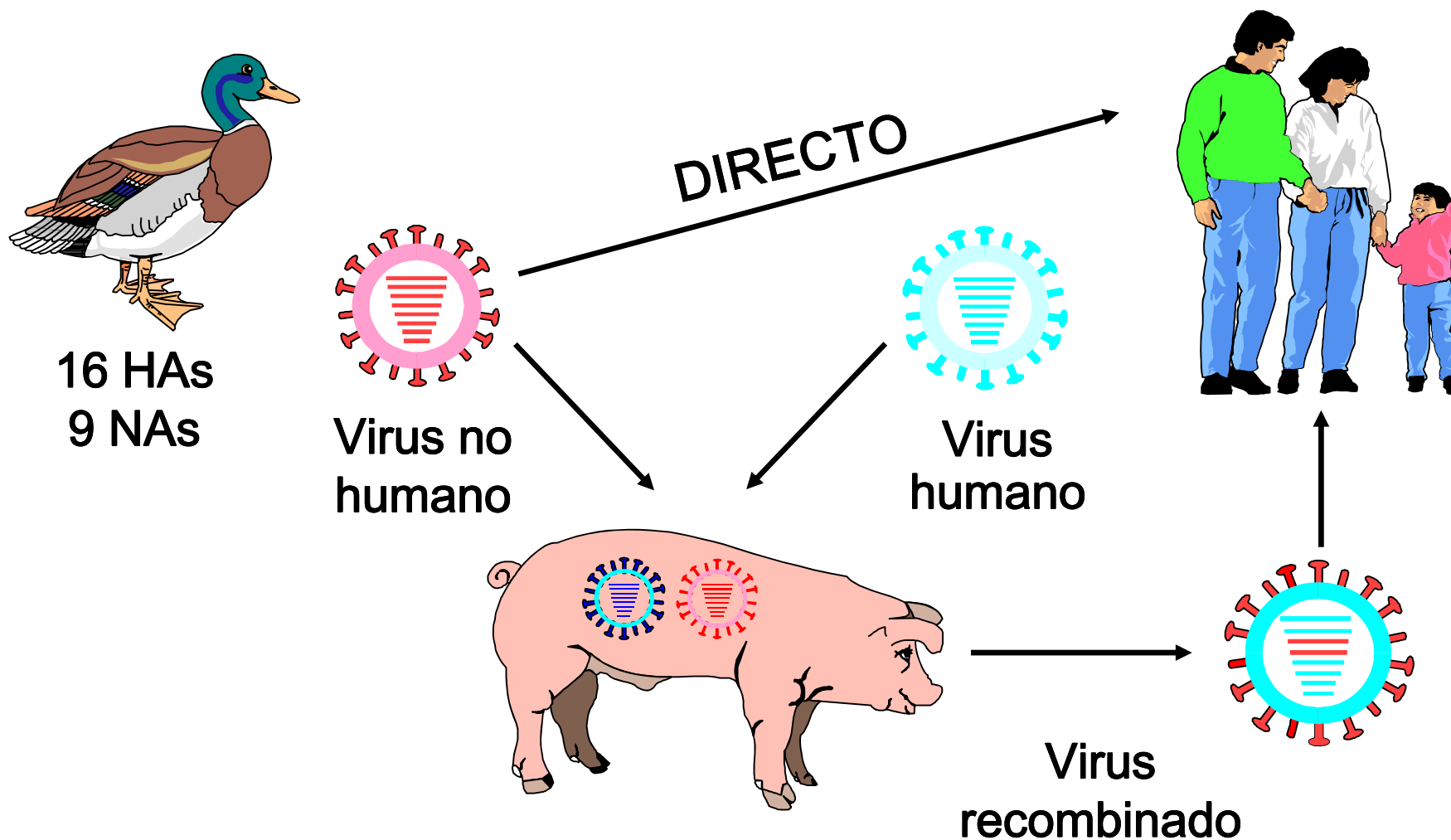
Ministerio de Salud

Instituto Nacional de Salud

Investigar para Proteger la Salud



Mecanismos del “Shift” antigénico del Virus Influenza





PERÚ

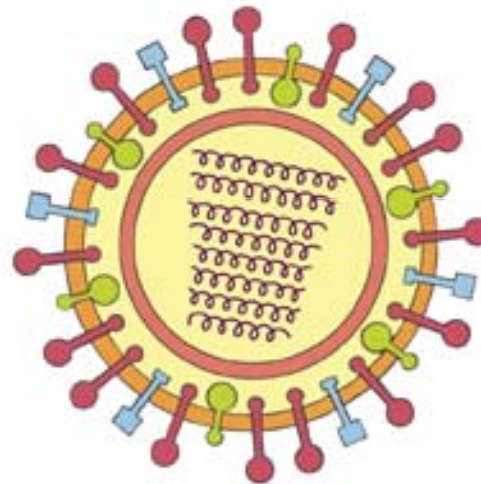
Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Virus Influenza



Tipo de influenza

Año de aislamiento

Subtipo Hemaglutinina

A/Sydney/5/97 (H3N2)

Ubicación geográfica

N° aislamiento

Subtipo Neuraminidasa

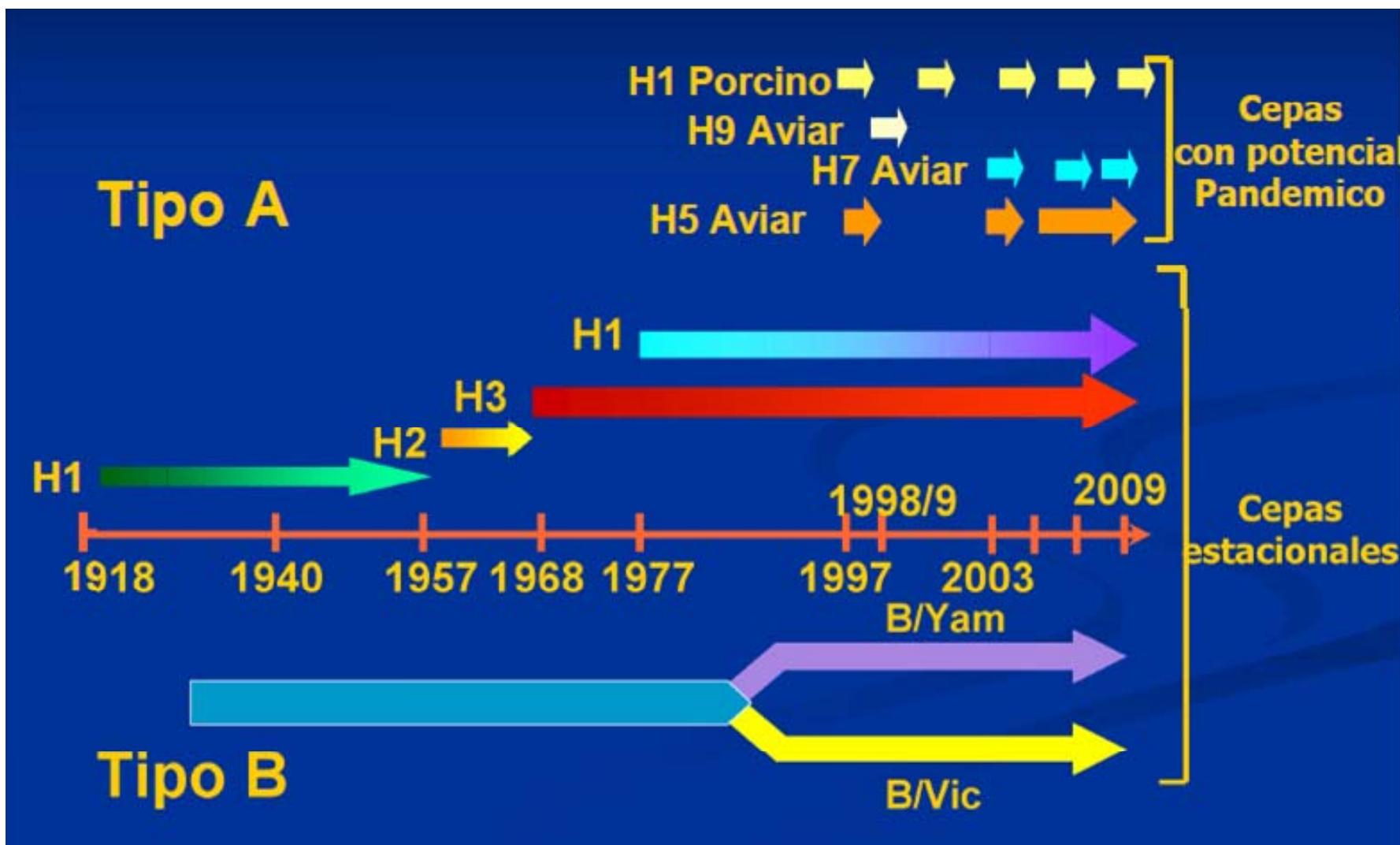


PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de Salud

Investigar para Proteger la Salud





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Obtención y manejo de las muestras



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

Consideraciones importantes para realizar el diagnóstico confirmatorio por laboratorio

- **CORRECTA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA**
- **Correcto registro de datos en la ficha clínico epidemiológica del caso sospechoso**
- **Correcto transporte de la muestra en cadena de frío (2° a 8°C)**



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Tipos de muestra

✓ Hisopado nasal y faríngeo

Otras muestras:

✓ Aspirados nasofaríngeos

✓ Lavado bronqueo alveolar o aspirado traqueal



PERÚ

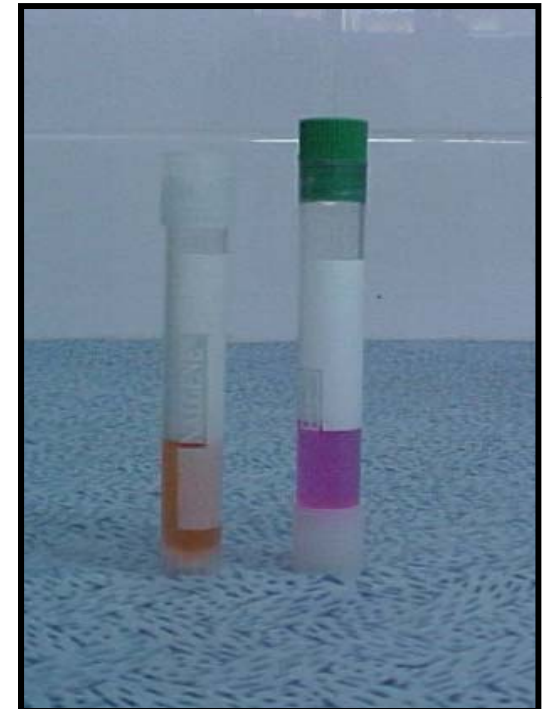
Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

Material para la obtención de la muestra

- Un criovial con medio de transporte viral (MTV)
- Dos hisopos de dacrón o poliéster estéril.
- Cooler con refrigerante
- Gradilla
- Plumón indeleble





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

Protección personal durante la obtención de la muestra

Utilizar los equipos de protección personal indicados para agentes infecciosos transmitidos por aerosoles:

- Mandilón
- 2 pares de guantes descartables (un par debe ser desechado después de cada obtención de muestra)
- Respirador NIOSH N95
- Lentes protectores y
- Gorros descartables.





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de Salud

Investigar para Proteger la Salud

Ministerio de Salud del Perú
Vigilancia de influenza y otros virus respiratorios
Ficha de investigación clínico - epidemiológica

ESTABLECIMIENTO NOTIFICANTE
 Establecimiento de Salud: DIRESA / DISA:
 Nombre del médico tratante: Correo:

IDENTIFICACION DEL PACIENTE
 Apellido paterno: Apellido materno: Nombres:
 Fecha de nacimiento (dd/mm/aa): Edad: Años Meses
 Sexo: Masculino Femenino DNI: Ocupación:
 Dirección y/o domicilio: Teléfono:

ANTECEDENTES
 Contactos con otras personas con sintomatología respiratoria en últimos 7 días: Sí No
 Contacto con animales: Sí No ¿Cuáles?
 País-lugar que visitó últimos 15 días (Lugar, fecha ingreso y salida):
 Vacunación Antigripal: Sí No Fecha de Vacunación (dd/mm/aa):

CLINICA
 Fecha de inicio de síntomas:
 Fiebre: Sí No Medida con termómetro: Sí No Temperatura Máxima (°C):
 Tos Sí No Otalgia Sí No Adenopatías Sí No
 Dolor garganta Sí No Fotofobia Sí No Astenia Sí No
 Rinorrea Sí No Congestión conjuntival Sí No Cefalea Sí No
 Expectोरación Sí No Vómitos Sí No Mialgias Sí No
 Sibilancias Sí No Dolor abdominal Sí No Malestar general Sí No
 Congestión faríngea Sí No Diarrea Sí No Erupción dérmica Sí No
 Otras manifestaciones:

Criterios de gravedad (compromiso sistémico)
 Hospitalización Sí No Dificultad respiratoria Sí No Colapso circulatorio Sí No
 Falla multi orgánica Sí No Pérdida de conciencia Sí No Muerte Sí No
 Fecha de defunción:
 Diagnóstico presuntivo

Laboratorio

| Tipo de muestra | Fecha de obtención (dd/mm/aa) | Tipo de Prueba | Resultado |
|------------------------------|-------------------------------|----------------------|----------------------|
| Hisopado nasal: | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Hisopado faríngeo: | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Aspirado nasofaríngeo | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Suero de fase aguda: | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Suero de fase convalescente: | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Otros: <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |

Tratamiento
 Antibióticos: Sí No Cuáles: Antivirales: Sí No Cuáles:
 Fecha de llenado de la ficha:
 Nombre y firma de la persona que llena la ficha: _____

PROCEDIMIENTOS

1. Registrar los datos en la ficha de investigación

En forma completa y legible del caso sospechoso



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

2. Rotular el criovial

Rotular con plumón indeleble en la parte externa del criovial la siguiente información:

- Apellidos y nombres
- Fecha de obtención
- Procedencia





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

3. Preparar el hisopo

Embeber el hisopo en el medio de transporte viral, y escurrir el exceso, antes de tomar la primera muestra.





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

4. Realizar la obtención de muestra nasal

Introducir el hisopo hasta el cornete y obtener la muestra con un movimiento rotatorio firme



Hisopado nasal



Nota: Lo más importante es obtener células, no secreciones.



PERÚ

Ministerio de Salud

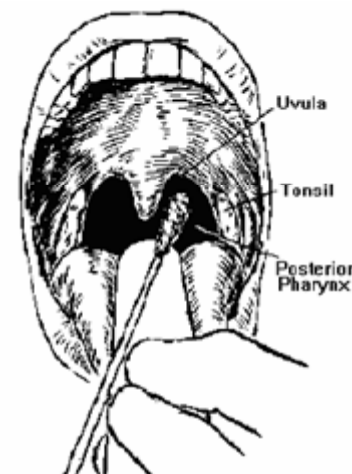
Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

5. Realizar la obtención de muestra faríngea



Con la ayuda de un baja lengua introducir el hisopo hasta las amígdalas y parte posterior de la faringe.



Hisopado faríngeo



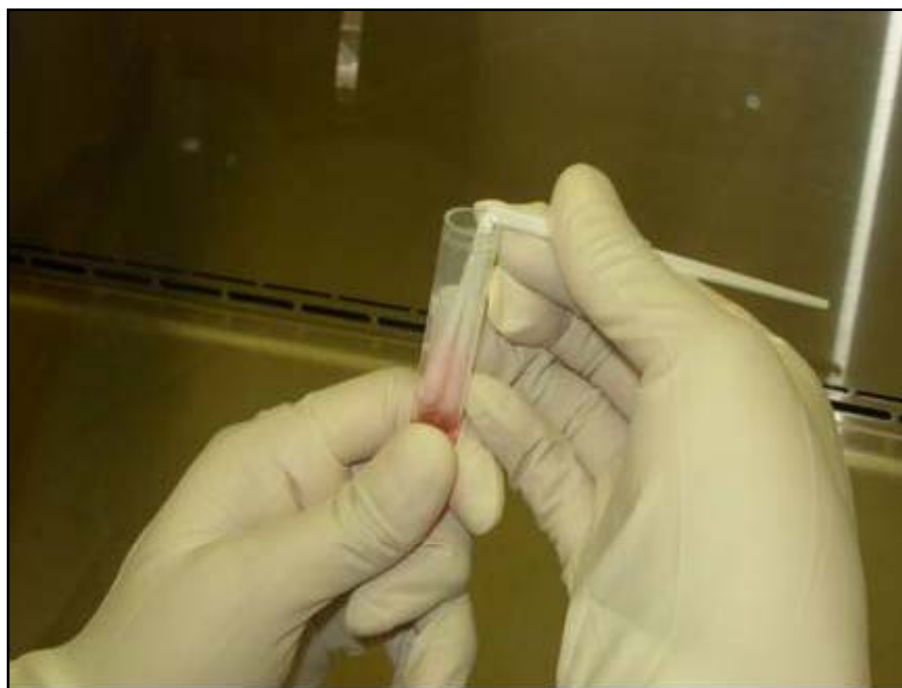
PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

6. Colocar el hisopo en el criovial





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

7. Conservación y transporte de muestras

Los crioviales deben ser colocados en una gradilla para asegurar su transporte en posición vertical con la finalidad de evitar derrames.

Asegurar que la muestra se mantenga en cadena de frío durante su transporte, colocándola en un cooler con refrigerante o caja transportadora de muestras (2° – 8° C).





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Métodos diagnósticos



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



El Instituto Nacional de Salud es el centro de referencia nacional para el diagnóstico de influenza y otros virus respiratorios en humanos





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Métodos de diagnóstico

- Pruebas rápidas
- Inhibición de la hemaglutinación
- Inmunofluorescencia indirecta
- RT – PCR
- RT – PCR en tiempo real
- Cultivo y aislamiento viral



PERÚ

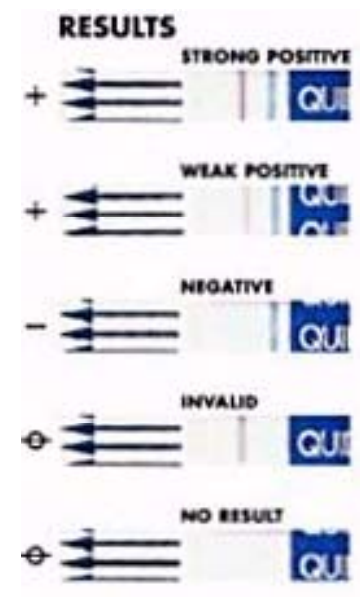
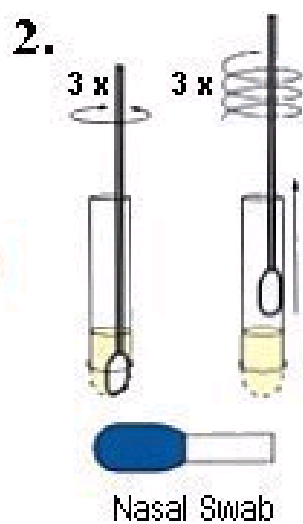
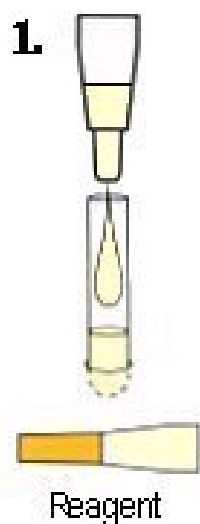
Ministerio de Salud

Instituto Nacional de Salud

Investigar para Proteger la Salud



Prueba rápida para influenza





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Ventajas

- Se puede realizar en cualquier establecimiento de salud y no requiere personal especializado
- No se requiere equipamiento.
- Lectura visual

Desventajas

- Baja sensibilidad
- Algunos kits no pueden diferenciar tipo (A/B)
- No pueden subtipificar
- Costo (\$12 - \$25)



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

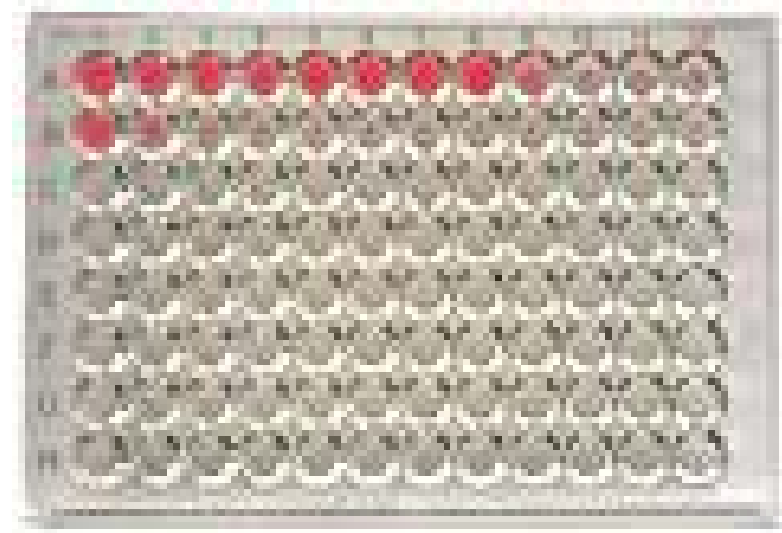
Inhibición de la hemaglutinación

Ventajas

- Detecta de manera indirecta al virus de la Influenza, por la capacidad de aglutinar a los eritrocitos.
- El equipamiento es mínimo.
- Lectura visual.

Desventajas

- Es necesario tener muestras pareadas (Suero de fase aguda y fase de convalecencia).
- Seguimiento de pacientes para obtener muestras pareadas.
- Son pruebas específicas para un tipo y es sensible.





PERÚ

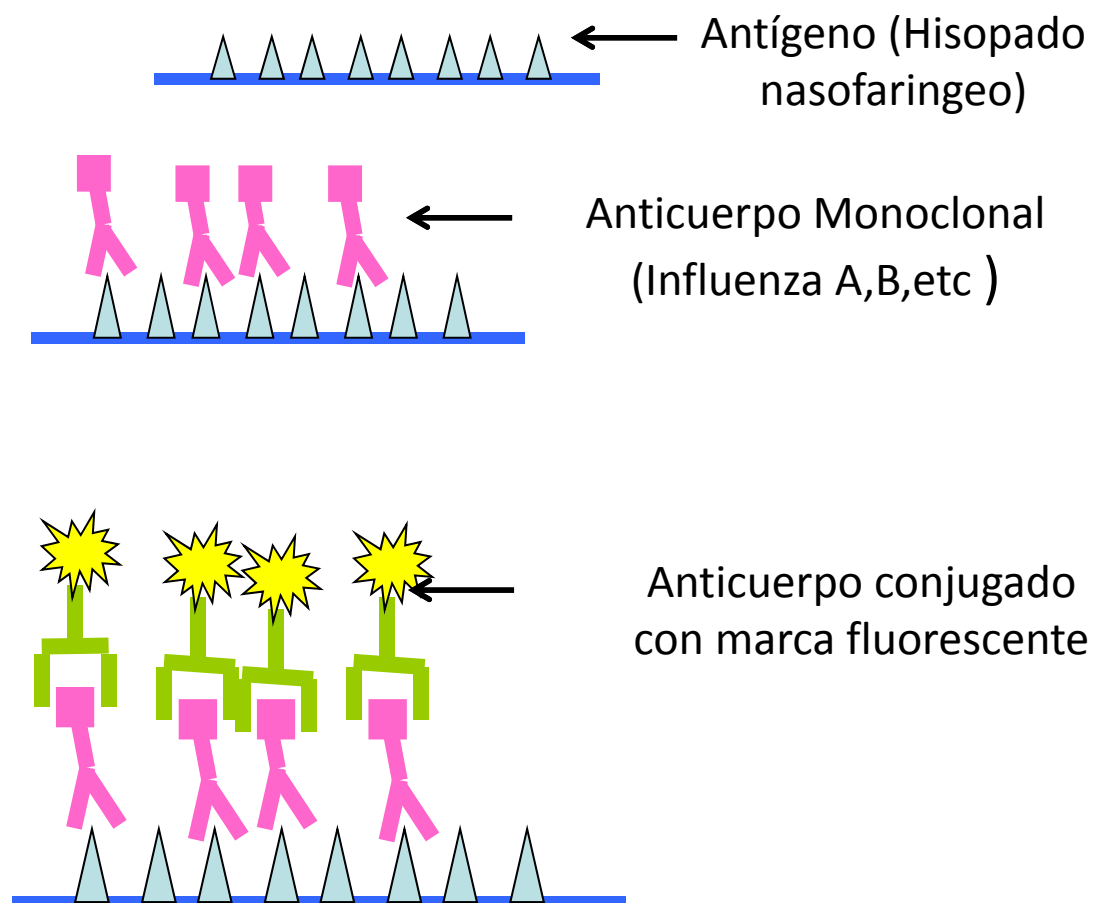
Ministerio de Salud

Instituto Nacional de Salud

Investigar para Proteger la Salud

Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

- Reconoce el antígeno viral indirectamente.
- Anticuerpos monoclonales reconocen al virus.
- Mediana Complejidad
- Detecta 7 tipos de virus respiratorios simultáneamente
- Buena prueba para programas de vigilancia y para utilizarse en el nivel Regional.
- El equipamiento necesario no es de uso exclusivo para esta prueba (Microscopio IF, incubadora, baño maría).
- Baja sensibilidad :
- Costo aprox 28 USD (Kit)





PERÚ

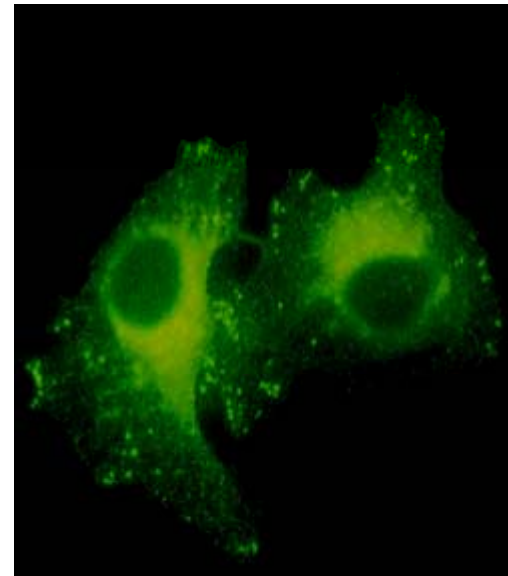
Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud

Esta técnica permite
identificar:

- Influenza A
- Influenza B
- Parainfluenza 1, 2 y 3
- Adenovirus
- Virus Sincicial Respiratorio





PERÚ

Ministerio de Salud

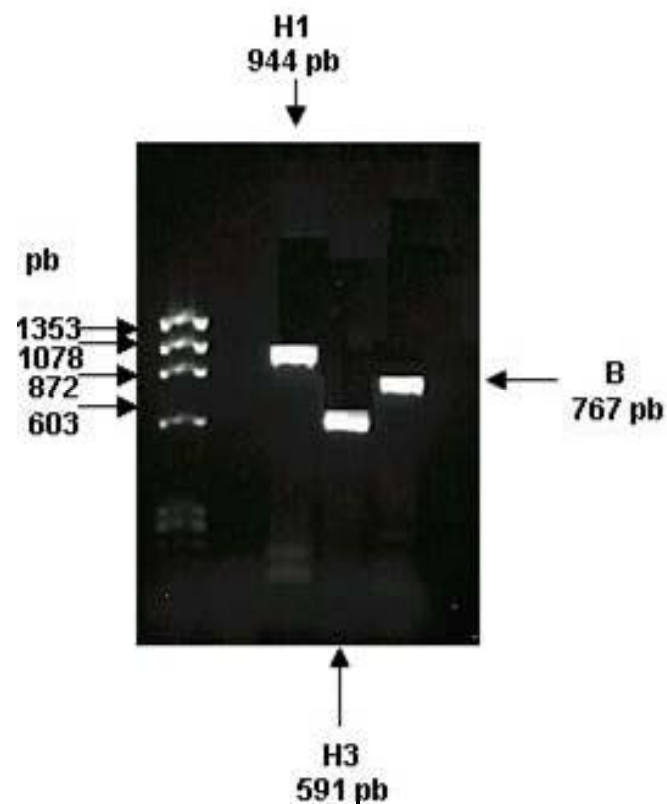
Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Técnicas Moleculares

- Identifica el ARN viral en muestras directas y cultivos
- Alta sensibilidad
- Altísima complejidad
- Realizado en el Instituto Nacional de Salud.
- Método rápido dentro de las 48 hrs.





PERÚ

Ministerio de Salud

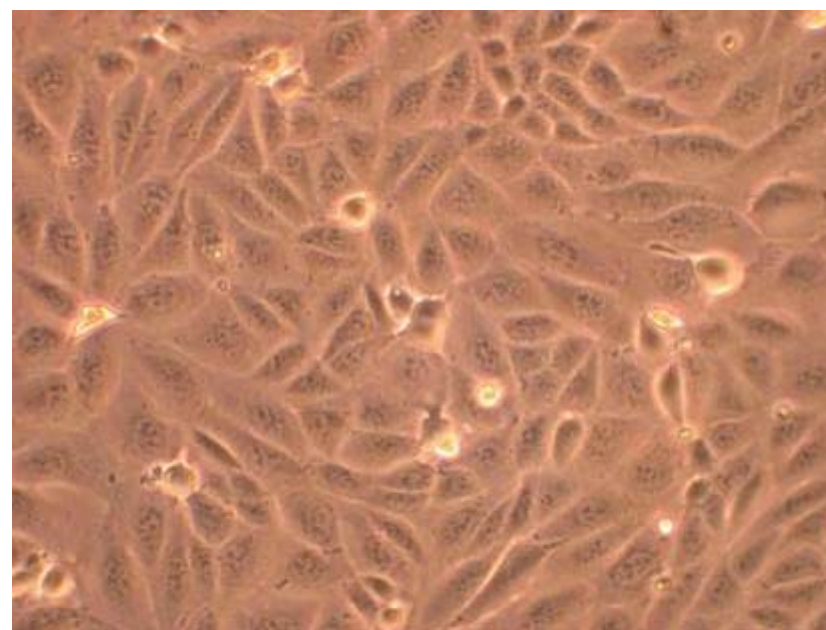
Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Aislamiento viral

- Técnica de alta sensibilidad
- Compleja, lenta y de alto costo
- Requiere personal entrenado e infraestructura para trabajar en condiciones de bioseguridad
- Realizada en el NIC o en algún centro de referencia internacional
- Permite disponibilidad de cepas virales para la producción de vacuna



Cultivo de virus influenza en MDCK



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de Salud

Investigar para Proteger la Salud



Adaptado de *Textbook of influenza* - Nicholson, Webster, Hay, 1998

| Método | Tiempo | Costo/ Muestra | Pericia | Ventajas | Desventajas |
|-------------------------------|-----------------------|-------------------|---------|--|--|
| Aislamiento viral | 2-7 días | \$\$ | +++ | Virus completo Sensibilidad Especificidad | Requiere virus infeccioso Tiempo Pericia Equipo e infraestructura especializada |
| IF | 2-4 horas | \$ | +++ | Velocidad Detección en paralelo de set de virus | Requiere células intactas Pericia Falta del virus Equipo especializado |
| Pruebas de diagnóstico rápido | <1 hora | \$\$ | +/- | No instalaciones especializadas Velocidad Baja Pericia | Costo Falta del virus Sensibilidad |
| PCR y PCR en tiempo real | 8 horas 1-1.5 días | \$\$\$ | +++++ | Sensibilidad Análisis molecular | Costo Pericia Falta del virus Tiempo Equipo especializado |



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



Diagnóstico de nueva influenza A (H1N1)

- Las pruebas rápidas para diagnóstico de influenza A tienen baja sensibilidad comparado a los otros métodos y pueden resultar en falsos negativos
- Es posible que los anticuerpos monoclonales usados en la prueba de inmunofluorescencia pueden no ligarse a los blancos de este virus y pueden resultar en falsos negativos

WHO. Guidance to Influenza Laboratories, 27 April 2009



PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de
Salud

Investigar para Proteger la Salud



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

- Méd. Victor Fiestas Solórzano
- Blga. Yvonne Torres del Carpio

vfiestas@ins.gob.pe

ytorres@ins.gob.pe

Gracias