



**LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA**

Recomendaciones de laboratorio para la toma, almacenamiento y envío de muestra para el diagnóstico de la infección por el virus de la viruela del mono (viruela símica)

ANTECEDENTES Y SITUACION ACTUAL

La viruela del mono se descubrió por primera vez en 1958 cuando ocurrieron dos brotes de una enfermedad similar a la viruela en colonias de monos mantenidos para la investigación, de ahí el nombre "viruela del mono". El primer caso humano de viruela del simio se registró en 1970 en la República Democrática del Congo (RDC) durante un período de intensificación de los esfuerzos para eliminar la viruela. Desde entonces, se han notificado casos de viruela del simio en personas de varios otros países de África central y occidental. La mayoría de las infecciones están en la República Democrática del Congo.

Región de las Américas la Organización Mundial de la Salud (OMS) desde el 15 de mayo pasado, reporta la notificación de casos confirmados y casos sospechosos de viruela símica en Países NO ENDÉMICOS (Australia, Bélgica, Canadá, Francia, Alemania, Italia, Países Bajos, Portugal, España, Suecia, Reino Unido y Estados Unidos, Argentina).

Este documento está basado en la guía provisional de la Organización Mundial de la Salud sobre las pruebas de laboratorio para el virus de la viruela del mono, 23 de mayo de 2022, y tiene por objeto proporcionar orientación a los Laboratorios sobre la detección del virus de la viruela del mono, asegurando la identificación oportuna de los casos sospechosos, la recolección de muestras, y la implementación de protocolos de detección molecular, en los Laboratorios Nacionales de Referencia, de acuerdo con la capacidad existente.

Estas orientaciones se actualizarán de acuerdo con los hallazgos de las investigaciones que se encuentran en curso.

Esta enfermedad es producida por el **Monkeypoxvirus** (MPXV) es un virus ADN de doble cadena, miembro del género *orthopoxvirus* dentro de la familia *Poxviridae*. Los poxvirus son causantes de enfermedades en humanos y en muchos otros animales; la infección generalmente resulta en la formación de lesiones, nódulos de la piel o erupción diseminada. Otras especies patógenas para los humanos incluyen el virus de la *viruela bovina* y el virus de la *variola* (que causa la viruela, que ha sido erradicada).

Hay dos clados del virus de la viruela del simio: el clado de África Occidental y el clado de la Cuenca del Congo (África Central). Aunque el clado de África occidental a veces conduce a una enfermedad grave en algunas personas, la enfermedad suele ser autolimitada. Se ha documentado que la tasa de letalidad para el clado de África occidental es de alrededor del 1 %, mientras que para el clado de la cuenca del Congo puede llegar al 10 %.

TOMA DE MUESTRAS Y BIOSEGURIDAD

Recomendaciones para el manejo de muestras sospechosas de viruela símica.

Elaborar un POE (Procedimiento operativo estándar) en base a una evaluación de riesgos bien robusta, aprobada por las autoridades competentes de la institución donde se tomará la muestra.

El personal debe estar entrenado para la recolección, el almacenamiento, el embalaje y el transporte de muestras.

Para la Toma de muestra se deben tener las siguientes consideraciones:



**LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA**

- 1- Definir un lugar específico para la toma de muestra.
- 2- Preparar los insumos para la toma de muestras de forma anticipada.
- 3- El personal que recolecta la muestra debe usar Equipo de Protección Personal (EPP) que debe incluir: bata antifluidos, protector facial, mascarilla N95 con la prueba de ajuste, guantes, gorro y cubre calzados.
- 4- Completar las documentaciones necesarias (ficha epidemiológica) detenidamente. En caso de algún derrame sobre la ficha, elaborar una nueva.
- 5- Preparar el área de trabajo donde deben ser colocados los elementos para el procedimiento de la toma de muestra.
- 6- Si se produce algún derrame por las paredes externas del tubo, o sobre la superficie, descontaminar inmediatamente con una gasa embebida con hipoclorito de sodio al 1%.

TIPOS DE MUESTRAS

El tipo de muestra recomendada para la confirmación de laboratorio de la viruela del mono es el material de la lesión cutánea, que incluye:

- 1- Hisopado de la superficie y/o del exudado de la lesión (lesiones maculares)
- 2- Bordes superiores de más de una lesión (superficie de las lesiones), o
- 3- Costras de lesiones.
- 4- Hisopado Orofaringeo.

Ver anexo 1 sobre los tipos de lesiones.

Procedimiento de toma:

- 1- Preparar el área de trabajo con los insumos correspondientes.
- 2- Etiquetar todas las muestras correctamente, identificando el tipo de muestra en los tubos utilizados y datos del paciente (nombre, CI, otros).
- 3- Se debe frotar vigorosamente la lesión con el hisopo para garantizar que se recolecte suficiente material para la obtención del ADN viral. En caso que se requiera, utilizar aguja estéril, lanceta o bisturí para obtener el material.
- 4- Los hisopos se deben coleccionar en tubos secos y en tubos con medios de transporte viral (VTM):
 - a- Dos o más lesiones del mismo tipo deben recogerse en un solo tubo, preferiblemente de diferentes lugares del cuerpo.
 - b- Si las lesiones son de tipos diferentes (lesiones, costras y fluidos vesiculares) los hisopos no deben mezclarse en el mismo tubo, (se deben utilizar hisopos y tubos diferentes)
 - c- Muestra de Hisopado orofaríngeo en VTM
- 5- Deberán tomarse muestras de todo tipo de lesiones:
 - a- Si las lesiones son vesiculares se tomarán en 3 tubos: dos con VTM y otra en un tubo seco;
 - b- Si las lesiones son costras o maculares se tomarán 3 tubos: dos con VTM y otra en un tubo seco. (Se debe raspar la costra, posteriormente levantar y colocar en los tubos).
 - c- Se debe hisopar una muestra orofaríngea, colocar en un tubo con VTM.
- 6- Romper el extremo del aplicador de cada hisopo en el tubo y tapar.
- 7- Desinfectar con hipoclorito de sodio 1% la superficie del tubo asegurando que este herméticamente cerrado el recipiente primario.
- 8- Para el diagnóstico diferencial realizar la recolección de otros especímenes adicionales.



**LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA**

Para más detalles sobre muestras, material de recolección y temperatura de almacenamiento para detección de MPXV y diagnóstico diferencial (Ver Tabla 1).

ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

En caso de necesidad de almacenamiento, colocar los tubos en un envase secundario, bien sujetos de tal forma a evitar fugas, identificando correctamente con marcador indeleble, asegurando la biocustodia y limitando la accesibilidad.

Las muestras deben refrigerarse (2 a 8 °C) y remitir inmediatamente al LCSP hasta máximo 48 horas. Si el transporte excede las 48 horas para que la muestra sea remitida, las muestras deben almacenarse a -20 °C.

Se recomienda el almacenamiento de muestras a largo plazo (>60 días desde la recolección) a -70 °C.

Se deben evitar los ciclos repetidos de congelación-descongelación porque pueden reducir la calidad de los especímenes.

Durante la permanencia en el servicio, se deberá colocar los tubos en gradillas dentro de un envase secundario rígido y hermético, asegurando que la misma no se mueva dentro del contenedor. Conservar siempre la muestra refrigerada.

ENVÍO DE MUESTRAS

Las muestras deben ser enviadas refrigeradas al Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP), para el diagnóstico molecular tan pronto como sea posible después de la recolección.

El manejo y almacenamiento correcto de las muestras durante el transporte es esencial para realizar un diagnóstico preciso.

El embalaje de muestras debe ser realizado por personal capacitado en procedimientos técnicos y de bioseguridad. Informar al transportista la naturaleza de la muestra a ser transportada.

El envío al LCSP se hará en triple envase: Colocar los tubos o envases primarios en el envase secundario con suficiente absorbente de tal forma que en caso de derrame no afecte a los demás tubos. Introducir el envase secundario en un contenedor terciario rígido y bien cerrado. (Ejs: hisopor, conservadora), que debe contener suficiente cantidad de refrigerantes para la conservación de la muestra.

Las documentaciones (ficha epidemiológica) que acompañan a la muestra irán fuera del envase terciario, protegidas con un folio de polietileno evitando todo contacto con las muestras y la humedad del refrigerante.

Si se envía la muestra con vehículos comerciales ajustarse para el empaque, a las Normas de transporte de sustancias peligrosas de la DINATRAM. Disponible en: http://www.dinatram.gov.py/cp_normativa.html

PRUEBAS DE LABORATORIO

Las pruebas de diagnóstico confirmatoria serán realizadas en el LCSP.

La confirmación de la infección por MPXV se basa en pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT), utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, para la detección de secuencias específicas de ADN viral. La PCR se puede usar sola o en combinación con la secuenciación.

Las pruebas para detectar la presencia de MPXV deben realizarse en laboratorios debidamente equipados por personal capacitado en los procedimientos técnicos y de Bioseguridad tipo II (BSLII) con prácticas de Bioseguridad de tipo III (BSLIII) pertinentes.

Ante la presencia de un resultado Negativo para MPXV se debe considerar otras causas potenciales de lesiones cutáneas discretas o una erupción diseminada y



**LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA**

otras etiologías de apariencia similar en las diferentes etapas de desarrollo, en las que se incluirán: Varicela, Herpes Zoster, el virus del Sarampión, Zika, Chikungunya, Dengue, *Treponema pallidum* (Sífilis), las infecciones bacterianas de la piel (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*) e infecciones micóticas con manifestaciones cutáneas: histoplasmosis y criptococcosis diseminada, paracoccidiodomicosis aguda infanto-juvenil.

Los laboratorios deberán realizar las determinaciones diferenciales conforme a su capacidad en cada servicio.

MANEJO DE RESIDUOS.

La gestión de residuos (manipulación, almacenamiento, tratamiento y eliminación de EPIs utilizados, apósitos de pacientes, etc.) deben realizarse acorde a la reglamentación de materiales peligrosos, ajustada a la **Ley 3361/07**; con el debido control de su cumplimiento. Disponible en:

<https://bacn.gov.py/archivos/3414/20150605093505.pdf>

Tabla 1: Muestras, material de recolección y temperatura de almacenamiento para detección de MPXV y diagnóstico diferencial

Tipo de espécimen	Materiales de colección*	Temperatura de almacenamiento	Finalidad de la recogida
Material de la lesión cutánea, que incluye: • Hisopado de exudado de la lesión, borde superior de las lesiones (techos). • Costras de lesiones.	Hisopos de Dacrón o poliéster con VTM e hisopo seco/ aguja estéril, lanceta o bisturí.	Refrigerar (2-8 °C) por 48 horas, -20°C después de 48 horas.	Recomendado para el diagnóstico.
Hisopado Orofaringeo	Hisopos de Dacrón o poliéster con VTM	Refrigerar (2-8 °C) por 48 horas, -20°C después de 48 horas.	Recomendado para el diagnóstico.
Sangre** 5 ml	Tubos seco con separadores	Refrigerar (2-8 °C) por 48 horas, -20°C después de 48 horas.	A ser considerado para serología o para apoyar el diagnóstico o la investigación.

*Además de los materiales de recolección específicos indicados, otros materiales y equipos necesarios incluyen: contenedores de transporte, bolsas de recolección de muestras, empaques triples, refrigeradores y compresas frías o hielo seco, equipos estériles de extracción de sangre (por ejemplo, agujas, jeringas y tubos), etiquetas y marcadores permanentes, EPP y materiales para la descontaminación de superficies.

** Enviar muestras de sangre total sin centrifugar por bioseguridad.



**LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA**

Referencias

- Organización Panamericana de la Salud. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus de la viruela del mono. PAHO 2022. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/directrices-laboratorio-para-deteccion-diagnostico-infeccion-por-virus-viruela-mono>
- Organización Panamericana de la Salud. Alerta Epidemiológica Viruela símica en países no endémicos - 20 de mayo de 2022. Washington, DC: PAHO;2022. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/alerta-epidemiologica-viruela-simica-paises-no-endemicos-20-mayo-2022>
- Organización Mundial de la Salud. Pruebas de laboratorio para el virus de la viruela del mono. Ginebra: OMS; 2022. Disponible en <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MPX-laboratory-2022.1>
- Centers Diseases Control. Specimen Collection and Transport Guidelines for Suspect Smallpox Cases. CDC, 2022 Disponible en:

<https://www.cdc.gov/smallpox/lab-personnel/specimen-collection/specimen-collection-transport.html>



**LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA**

ANEXOS

Anexo 1: Tipo de lesiones cutáneas.





**LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA**

Anexo 2: Ficha epidemiológica. Disponible en:

https://dgvs.mspbs.gov.py/files/simica/FICHA_VIRUELA_SIMICA.pdf

									
FICHA DE NOTIFICACION – CASO SÓSPECOSO – VIRUELA SIMICA									
<p>Definición de caso sospechoso: persona de cualquier edad en un país no endémico de viruela símica con exantema agudo inexplicable y que presenta uno o más de los siguientes: cefalea, inicio súbito fiebre (>38,5°C), mialgia, dolor de espalda, astenia, linfadenopatía. Y presente además al menos uno de los siguientes antecedentes epidemiológicos en los últimos 21 días al inicio de los síntomas que haya tenido:</p> <p>CONTACTO ESTRECHO: con un caso sospechoso o confirmado de viruela símica y/o</p> <p>ANTECEDENTES DE VIAJE: a un país endémico o donde se estén registrando casos de viruela símica y/o</p> <p>EXPOSICIÓN AL RIESGO: exposición estrecha sin protección respiratoria; contacto físico directo, incluido el contacto sexual; o contacto con materiales contaminados, como ropa o ropa de cama con una persona que haya viajado a países endémicos o países no endémicos donde se estén registrando casos actualmente. Al mismo tiempo descartar los siguientes diagnósticos: varicela, herpes zóster, sarampión, Zika, dengue, chikungunya, herpes simple, infecciones bacterianas de la piel, infección gonocócica diseminada, sífilis primaria o secundaria, chancroide, linfogranuloma venéreo, granuloma inguinal, molusco contagioso, reacción alérgica y cualquier otra causa común localmente relevante de erupción, vesicular o papular.</p>									
DATOS DEL ESTABLECIMIENTO Y NOTIFICANTE									
Región Sanitaria:					Distrito:				
Institución Notificante:					Fecha Notificación:				
Nombre del Notificante:									
DATOS DEL PACIENTE									
Nombre y apellidos:									
CI N°		Código:		Fecha de nacimiento:		Edad:			
Sexo:		Hombre		Mujer		Otros			
Profesión:					Lugar de trabajo:				
LUGAR DE RESIDENCIA									
Departamento:					Distrito:				
Localidad/Barrio:					Dirección (calles)				
Referencia:					Teléfono:				
DATOS DE LA ENFERMEDAD									
Fecha de consulta: / /									
Fecha de inicio de síntomas (indicar la del primer síntoma que aparezca) / /									
Manifestaciones clínicas a lo largo de todo el proceso (marcar las opciones que correspondan)									
<input type="checkbox"/> Fiebre		<input type="checkbox"/> Dolor muscular		<input type="checkbox"/> Cefalea					
<input type="checkbox"/> Astenia		<input type="checkbox"/> Dolor de garganta		<input type="checkbox"/> Linfadenopatías					
<input type="checkbox"/> Exantema		<input type="checkbox"/> Fecha de aparición del exantema							
Distribución del exantema en el momento del diagnóstico (marcar las opciones que correspondan):									
<input type="checkbox"/> Cara		<input type="checkbox"/> Lesiones genitales							
<input type="checkbox"/> Planta de los pies		<input type="checkbox"/> Lesiones perianales							
<input type="checkbox"/> Palma de las manos		<input type="checkbox"/> Pecho							
<input type="checkbox"/> Piernas		<input type="checkbox"/> Abdomen							
<input type="checkbox"/> Brazos		<input type="checkbox"/> Espalda							
<input type="checkbox"/> Cavidad oral									
DATOS EPIDEMIOLÓGICOS									
Historia de viaje internacional en los 21 días anteriores al inicio de los síntomas									
Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>									
En caso de responder sí, especificar el lugar y fecha de arribo al país:					Motivo de viaje:				
Especificar destino(s) (País):					Fecha: / /				
Posibles exposiciones de riesgo en los 21 días anteriores a FIS									
Exposición ocupacional de riesgo (pinchazo, laboratorio, contacto con material potencialmente contaminado, profesional sanitario sin EPI, otra) Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>									
Es contacto estrecho de un caso sospechoso o confirmado de viruela símica (excluye exposiciones ocupacionales de riesgo) Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>									
Asistencia a evento de gran concurrencia: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>									
Ha tenido relaciones sexuales con: (marcar todas las que correspondan)									
Hombre <input type="checkbox"/>					Mujer <input type="checkbox"/>				
DATOS CLÍNICOS									
Hospitalizado (Estadía de al menos una noche en el hospital): Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>									
Fecha de ingreso en Hospital: / /					Fecha de alta hospitalaria: / /				
Lugar:									
Hospitalizado en UCI: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>									
Fecha de ingreso en UCI: / /					Fecha de alta en UCI: / /				
Lugar:									
Defunción: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Fecha de defunción: / /									
DATOS DE LABORATORIO									
Fecha de toma de muestra:									
<input type="checkbox"/> Líquido vesicular									
<input type="checkbox"/> Muestras de lesiones cutáneas (costra)									
LISTADO DE CONTACTOS (personas con las que el caso estuvo en contacto desde el inicio de síntomas)									
NOMBRE Y APELLIDO	C.I. N°	TELEFONO	DOMICILIO	FECHA DE ÚLTIMO CONTACTO	TIPO DE CONTACTO				
					Lesiones	Fluidos corporales	Gotas	Materiales contaminados	Otros