SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Vigilancia por Laboratorio: Diagnóstico Diferencial del Virus Chikungunya

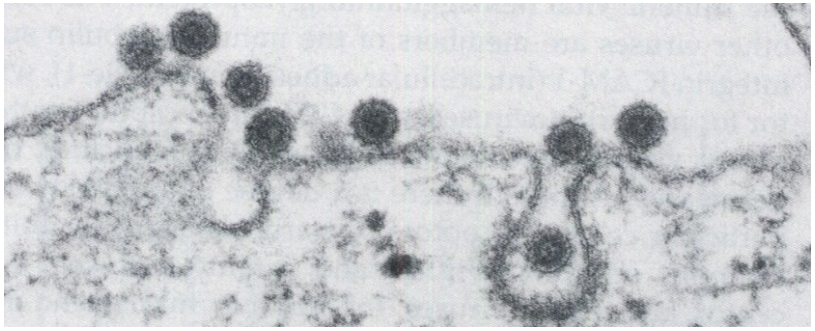
Dr. J. Alberto Díaz Quiñonez

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos

"Dr. Manuel Martínez Báez"

Reunión Nacional de Virus Chikungunya
Guadalajara, Jalisco; 27 de julio de 2014

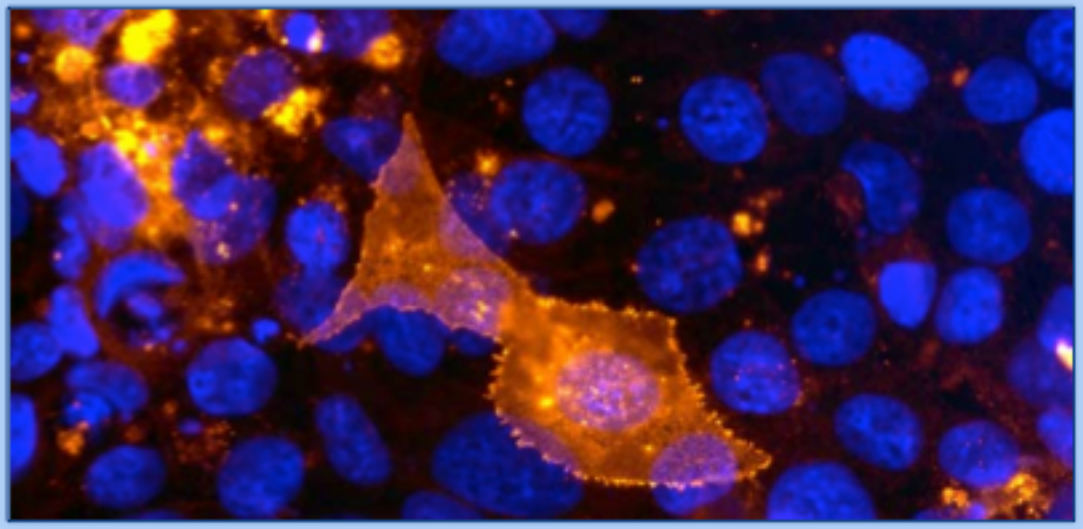
Agenda



- Antecedentes
- Clasificación y taxonomía
- Diagnóstico diferencial
- Algoritmos para la vigilancia en México
- Estatus de la vigilancia por laboratorio

Fiebre chikungunya. Antecedentes

El virus se aisló en la epidemia de Tanzania en 1952-1953; en Asia se aislaron cepas de CHIKV durante grandes brotes urbanos en Bangkok, Tailandia en la década de 1960; en Calcuta y Vellore, India durante las décadas de 1960 y 1970.

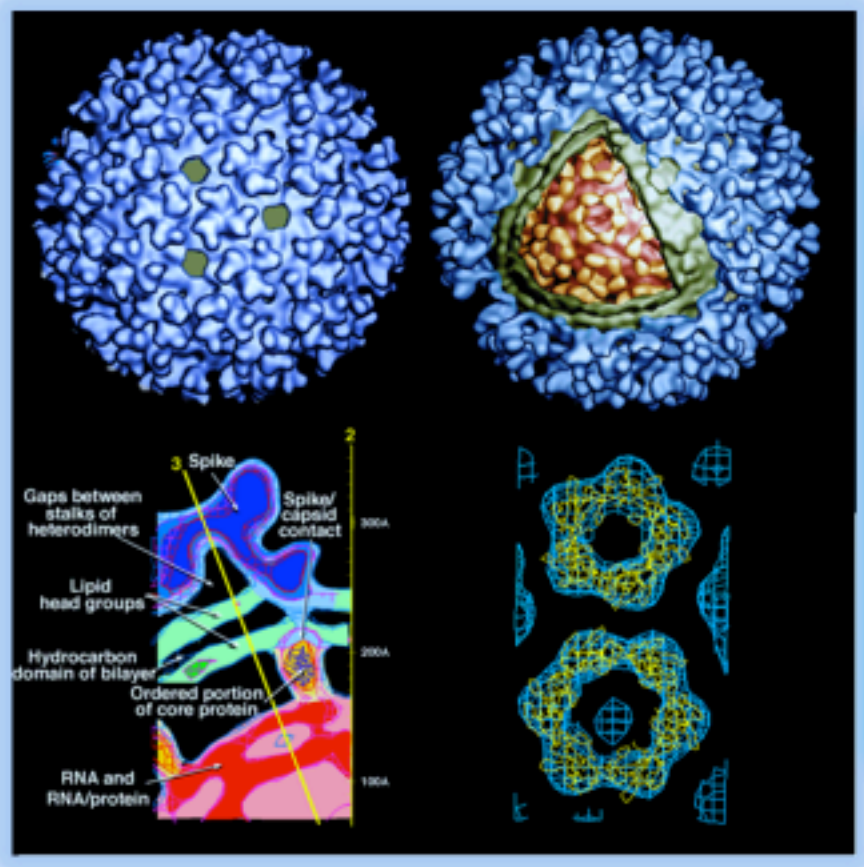


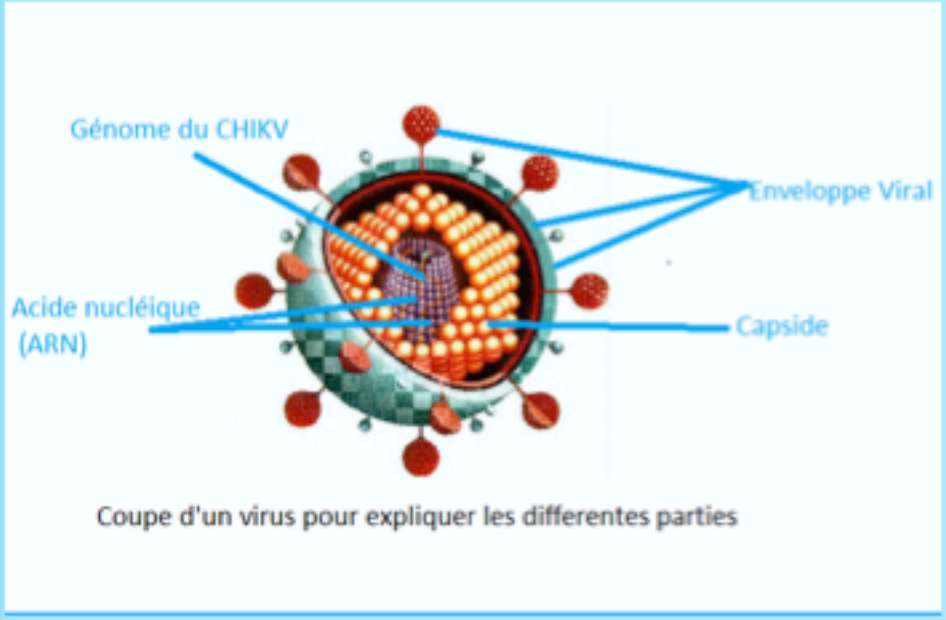
Lumsden WHR. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1955;49(1):33-57.
Shah KV. *Indian J Med Res*. 1964;52:676-683.

Virus chikungunya (CHIKV)

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Es un virus ARN que pertenece al género alfa virus

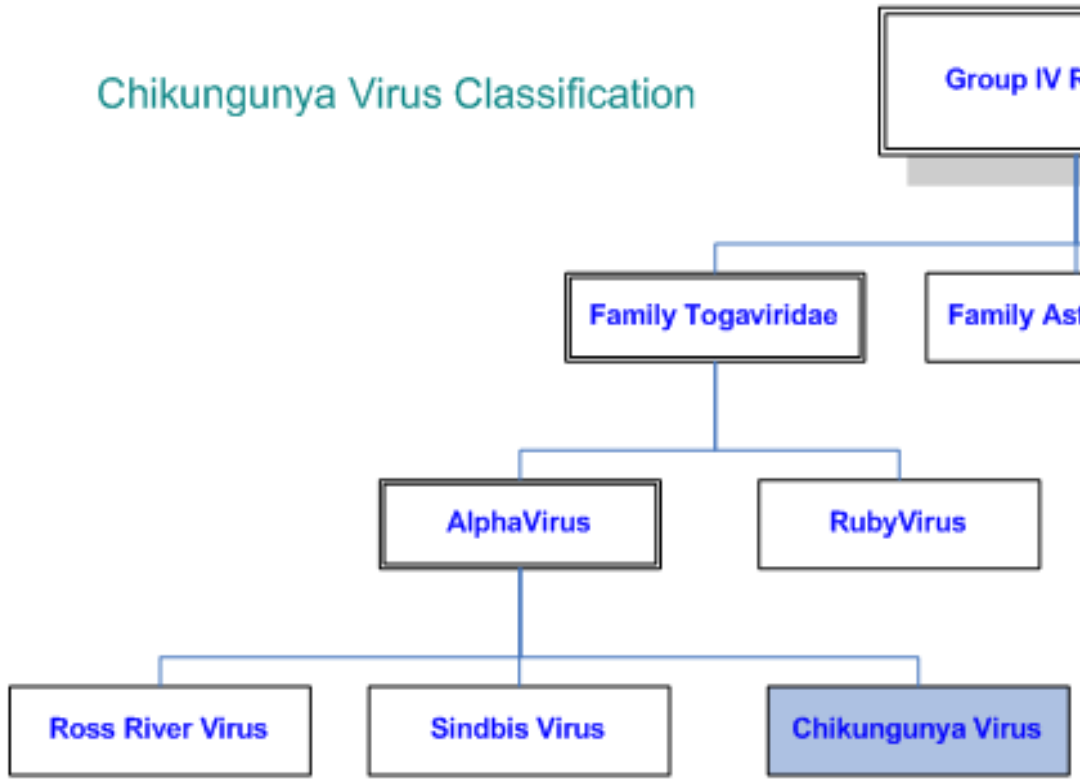


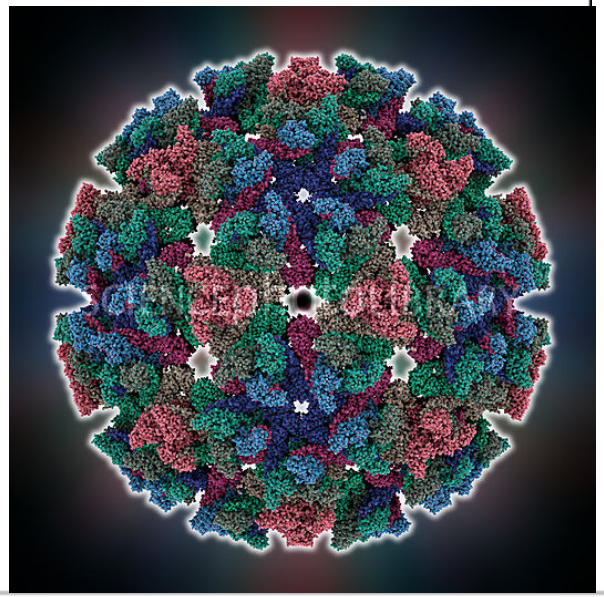


Coupe d'un virus pour expliquer les differentes parties

Clasificación del CHIKV

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD





Copyright © http://www.chikungunya.in

CHIKV *vs* DENV

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Características clínicas y de laboratorio	Infección por virus chikungunya	Infección por virus del dengue
Fiebre (>39°C o 102°F)	+++	++
Mialgias	+	++
Artralgias	+++	+/-
Cefalea	++	++[b]
Rash	++	+
Discracias sangrantes	+/-	++
Shock	-	+
Leucopenia	++	+++
Neutropenia	+	+++
Linfopenia	+++	++
Hematocrito elevado	-	++
Trombocitopenia	+	+++

Fiebre chikungunya: Presentación clínica (diagnóstico diferencial)

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Enfermedad o agente	Presentación
Malaria	Periodicidad de la fiebre y alteraciones de la conciencia
Dengue	Fiebre y dos o más de los siguientes signos y síntomas: dolor retro orbital u ocular, cefalea, rash, mialgias, artralgias, leucopenia o manifestaciones hemorrágicas
Leptospirosis	Mialgia severa localizada en los músculos de la pantorrilla y congestión conjuntival/o hemorragia subconjuntival con o sin ictericia u oliguria. Considerar contacto con agua contaminada
Infección por alfa virus (virus Mayaro, Ross River, Barmah Forest, O´nyong nyong y Sindbis	Presentación similar a CHIKV; recurrir a antecedentes de viajes y áreas conocidas de Mayaro en las Américas

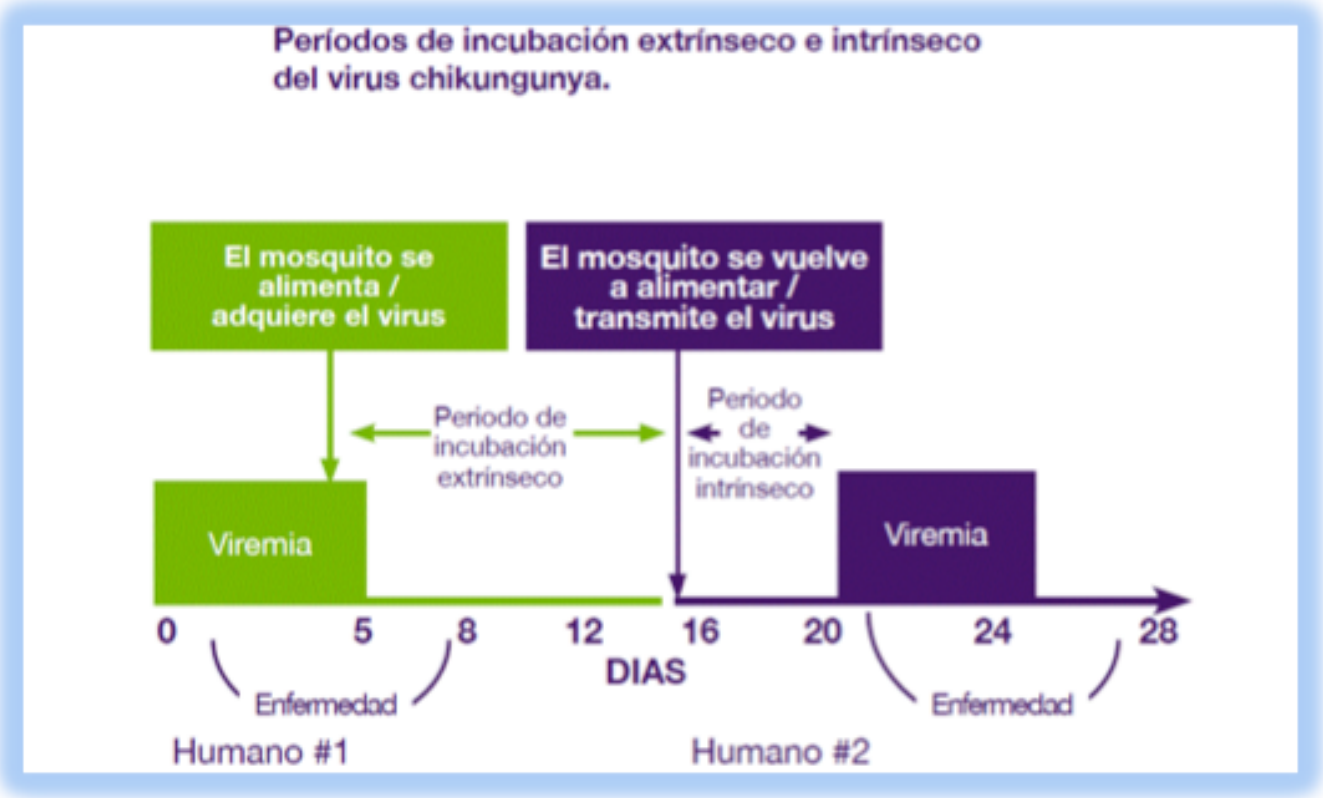
Fiebre chikungunya: Presentación clínica (diagnóstico diferencial)

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

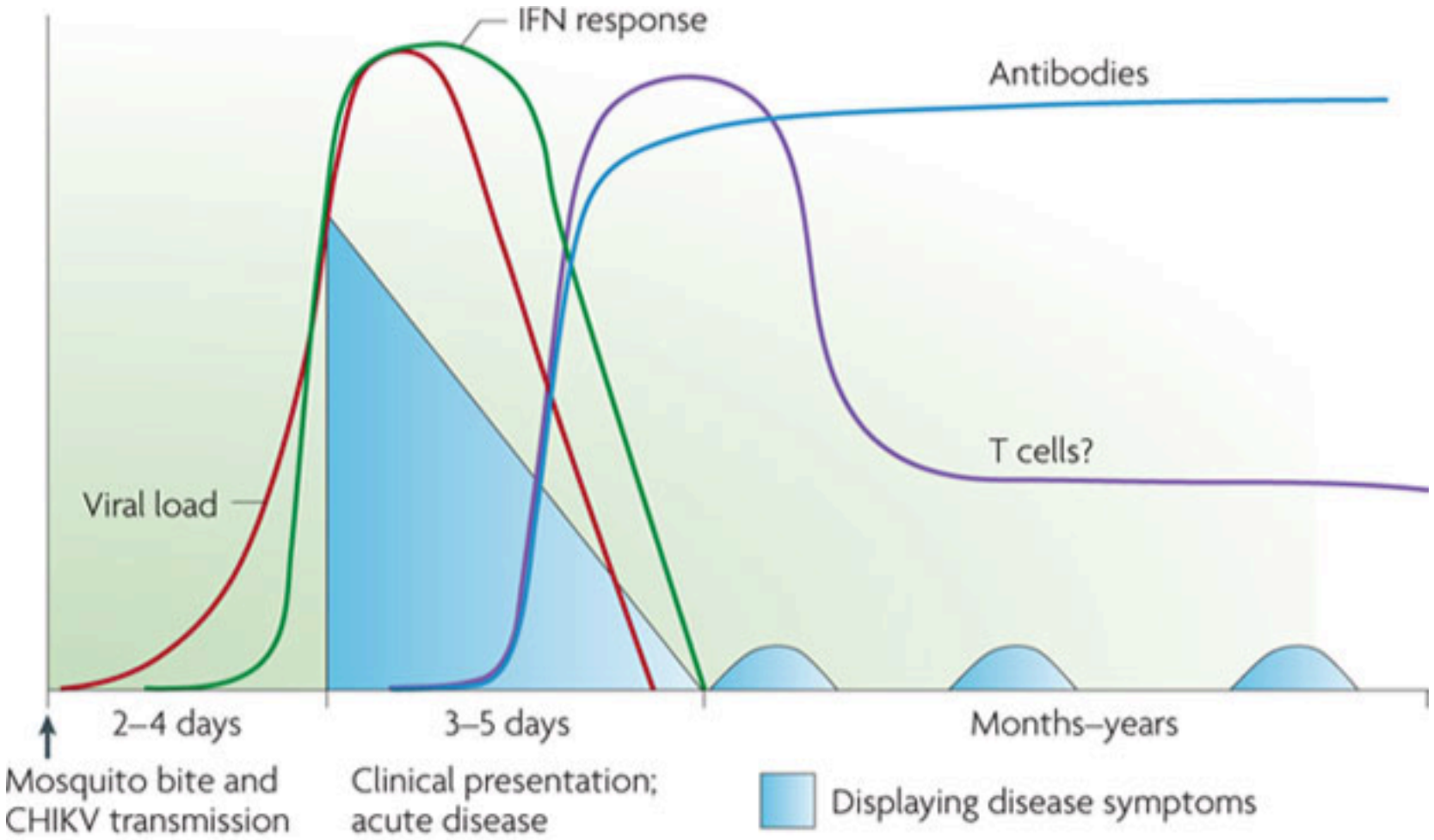
Enfermedad o agente	Presentación
Artritis post-infección (incluyendo fiebre reumática)	Artritis en una o más articulaciones, generalmente grandes, debido a enfermedad infecciosa como clamidia, shigella y gonorrea. La fiebre reumática se presenta más comúnmente en niños con poliarteritis migratoria que afecta sobre todo a articulaciones grandes. Considerar titulo de antiestreptolisinas O y antecedente de dolor de garganta junto con los criterios de Jones para el diagnóstico de fiebre reumática
Artritis reumatoide juvenil	Comienzo abrupto de fiebre y compromiso articular subsecuente en niños

Fiebre chikungunya: Periodo de incubación

- Los mosquitos adquieren el virus a partir de un huésped virémico
- Después de un período de incubación extrínseca de 10 días, el mosquito es capaz de transmitir el virus a un huésped susceptible



Patogenia y respuesta inmune



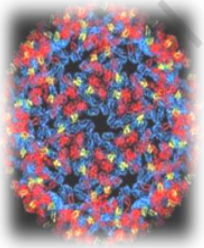
Nature Reviews | Microbiology

Preparación y respuesta de México (2011): Participación del InDRE en panel internacional

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

InDRE

Reporte de Resultados del Panel Internacional para Detección Serológica (MAC ELISA) y Molecular (qRT-PCR) de Infecciones Causadas por Virus Chikungunya



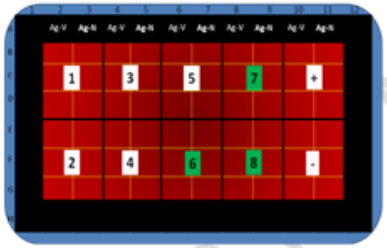
Presenta:
Mauricio Vázquez Pichardo

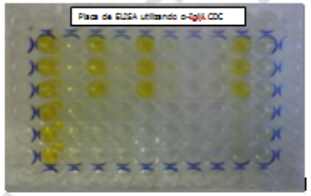
Departamento de Virología
Laboratorio de Arbovirus

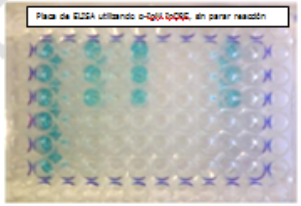
12

b) Distribución de muestras en placa y foto de placa con resultados

Los pozos con muestras 6, 7 y 8 marcados en verde no se utilizaron.



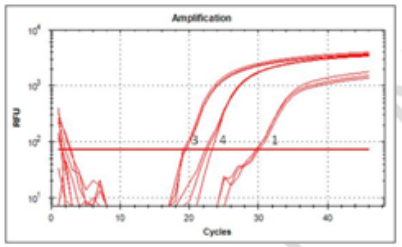


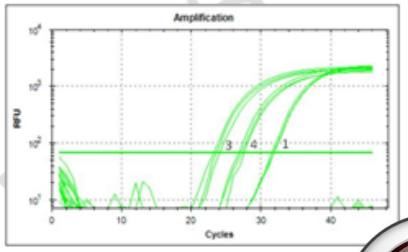


Elaborado por Mauricio Vázquez Pichardo

27

Gráficas de amplificación en escala logarítmica para TEXAS RED y FAM

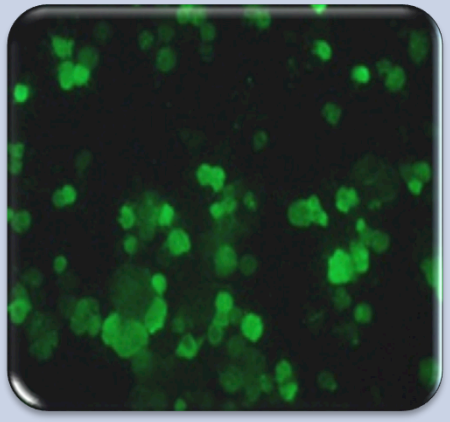


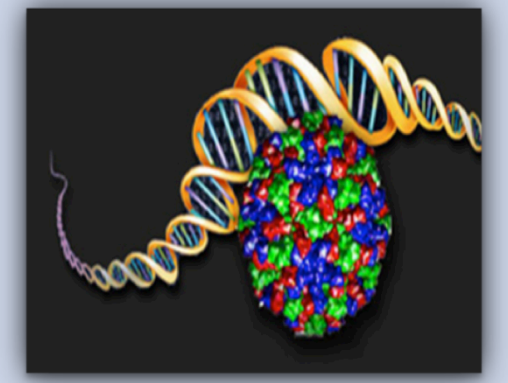


Elaborado por Mauricio Vázquez Pichardo

100% de concordancia en Biología Molecular (RT-qPCR) y Serología (MAC-ELISA)

Marco analítico para CHIKV en InDRE





VIROLÓGICOS

AISLAMIENTO VIRAL

Células C6/36

BHK21

Vero

MOLECULARES

RT- PCR tiempo real

(Cepas Africanas y cepas Asiáticas)

Secuenciación

SEROLÓGICOS

MAC-ELISA

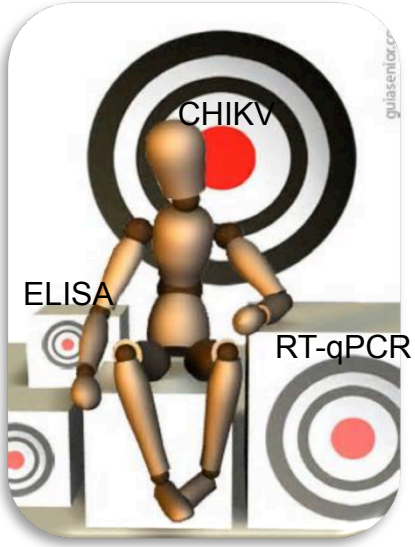
GAC-ELISA

Microneutralización

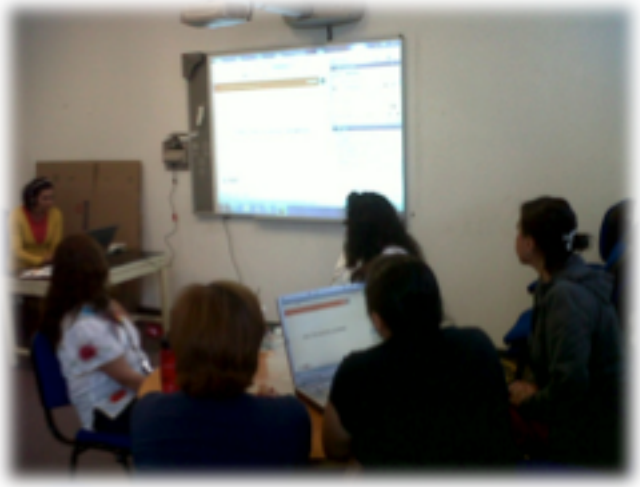
Estuches comerciales (SD)

Capacitación a la RNLSP de México

En Noviembre del 2012 InDRE capacitó a la RNLSP como parte de la preparación ante la inminente introducción de CHIKV en México



Vía webex



Práctico

Teórico

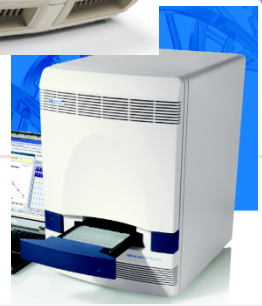
Recreativo

Capacidad analítica en la RNLSP
Dengue + CHIKV

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

RNLSP con capacidad de
Vigilancia Molecular en dos plataformas
(CFX96 y 7500)

RNLSP con capacidad de
Vigilancia Serológica (Estuche comercial)

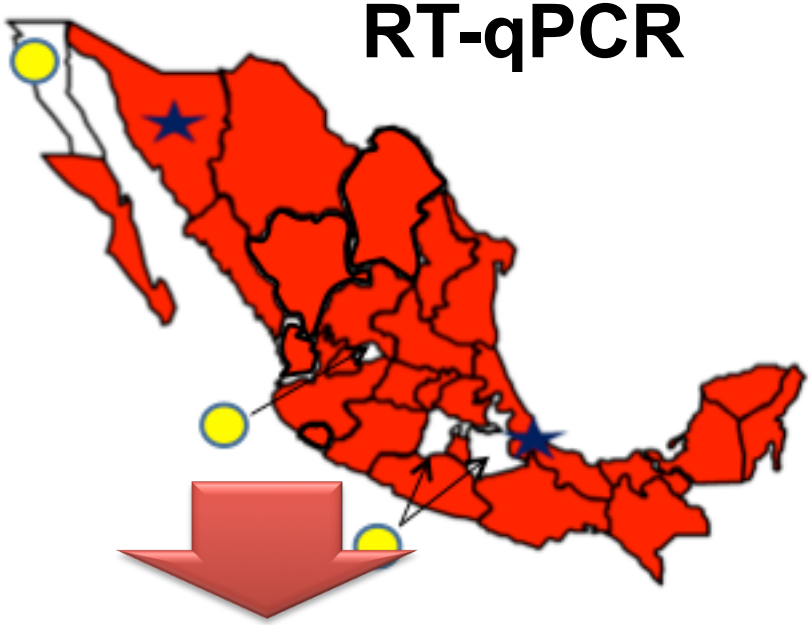


InDRE adopta la vigilancia

Cómo va a trabajar la RNLSP?

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

RT-qPCR



- El 100% de los casos positivos deberán ser enviados al InDRE para CC. (selección para secuenciación)
- Esto aplicará durante los primeros dos meses Si cumplen con 100% de concordancia = LIBERACIÓN.
- En este momento el único en reportar casos confirmados será el InDRE.
- Ell 10% de los casos negativos deben ser enviados a InDRE para Control de calidad, hasta obtener liberación del Dx por laboratorio.
- InDRE solicitará muestras para búsqueda de otros agentes etiológicos.

IgM

- El 100% de los casos positivos mediante estuche comercial, para confirmación por MAC ELISA y el 10% de los casos negativos deben ser enviados a InDRE para control de calidad, hasta obtener liberación del Dx por laboratorio.
- InDRE solicitará muestras para búsqueda de otros agentes etiológicos para ser analizados mediante microneutralización.

Toma, manejo y envío de muestras

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

• Toma de sangre de aproximadamente 10 mL, para obtener **4-5 mL** de suero.

• La toma deberá realizarse en **tubo con tapa de color rojo de plástico** (vacutainer con gel separador).

• Obtener **suero** y enviar en red fría (2-8ºC) al LESP y al InDRE.

• **El volumen mínimo** para enviar al **InDRE** es de **1.5 mL**.

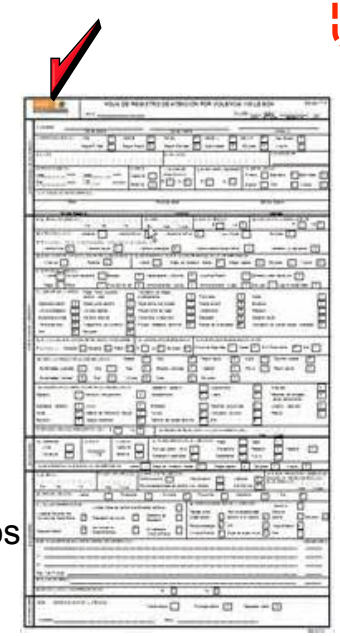
• Para el envío de **muestras negativas** para diagnóstico **diferencial ampliado** será de **1.5 mL**, incluyendo las **defunciones** confirmadas o descartadas.

• El envió al InDRE deberá realizarse en triple embalaje (Primario - tubo tipo eppendorf, Secundario - en caja de unicel y Terciario - caja de cartón).

• Las muestras deberán estar **perfectamente identificadas**.

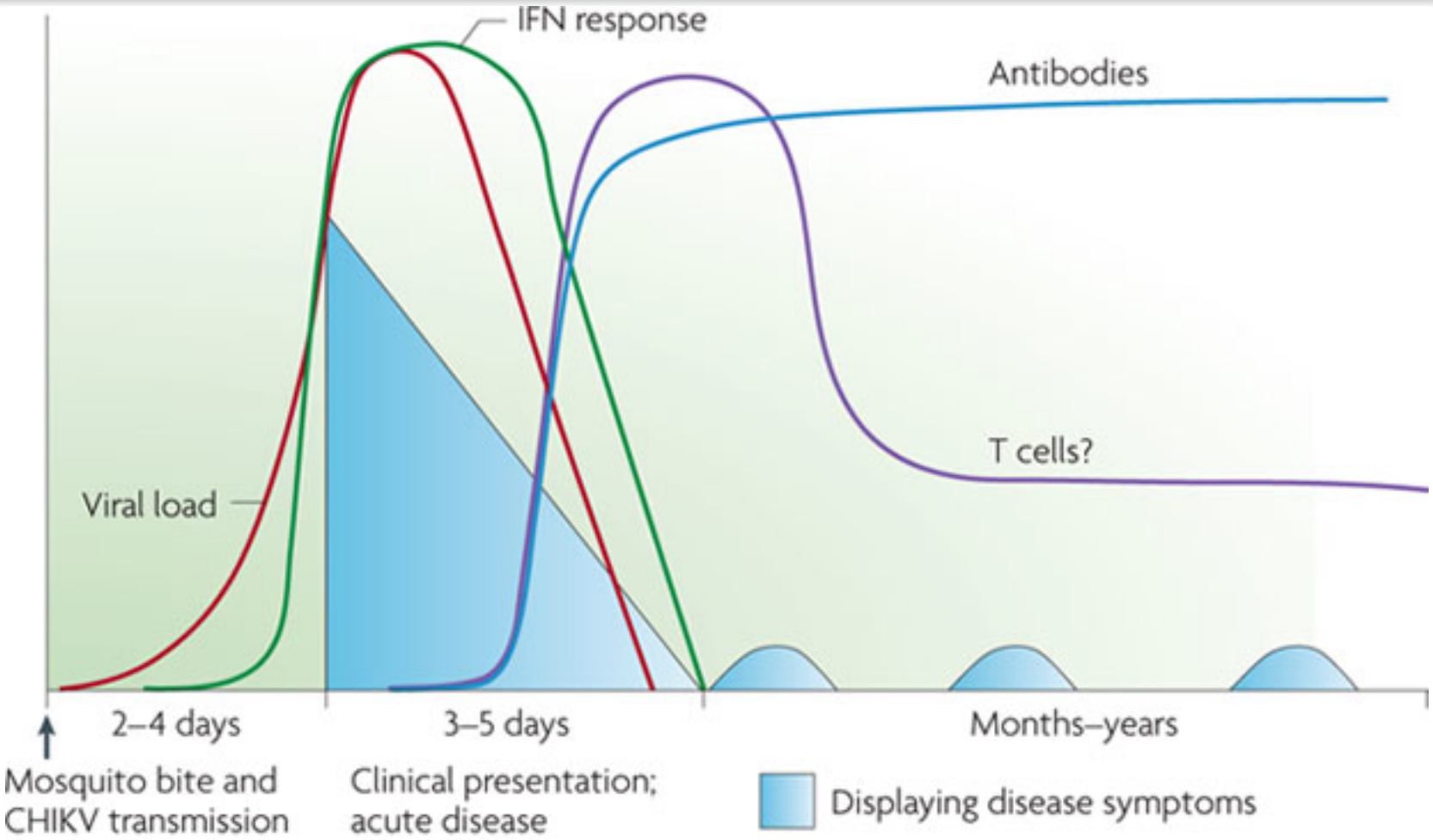
• La muestra debe ir acompañada con el **formato de envío de muestras al InDRE** perfectamente **requisitado**, con datos completos.

• Muestras que no cumplan con los criterios de aceptación serán **RECHAZADAS DEFINITIVAMENTE** en los LESP y en el InDRE.



CODIGO de COLOR	ADITIVO	MUESTRA	ANALISIS
Roja	Sin Aditivo	Suero	Química Serología
Roja/Gris Amarilla Tapa Hemolyzed	Gel/Sin Aditivo	Suero	Química Serología
Celeste	Citrato	Plasma	Coagulación
Lila	EDTA	Plasma	Hematología
Verde	Heparina	Plasma	Química Serología
Negra	Citrato	Plasma	V.H.S.
Gris	Fluoruro	Plasma	Glucosa

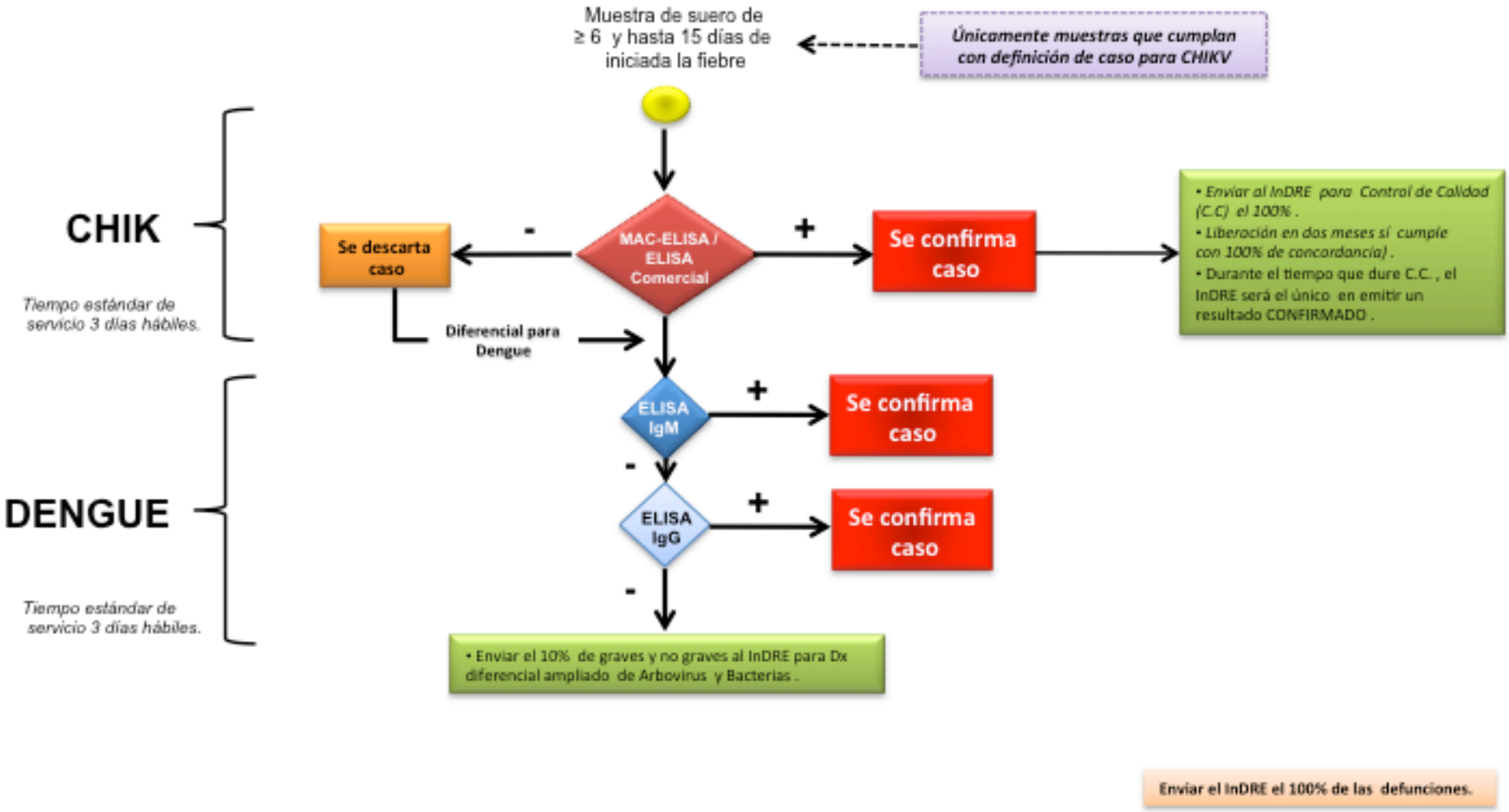
Patogenia y respuesta inmune



Nature Reviews | Microbiology

CHIKV - Algoritmo en fase aguda

CHIKV - Algoritmo en fase convaleciente



Estatus de la vigilancia virológica (diagnóstico molecular) en la RNLSP

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

LESP que recibieron capacitación en NOV de 2012

LESP	LESP	LESP
Jalisco	Michoacán	Tamaulipas
Michoacán	Morelos	Veracruz*
Morelos	Nayarit	Yucatán
Nayarit	Nuevo León	Sonora (ya tiene control pero esta en espera de recibir en próximas semanas los iniciadores u sonda)
Nuevo León	Oaxaca	
Oaxaca	Quintana Roo	
Quintana Roo	San Luis Potosí	
San Luis Potosí		

LESP que cuentan con iniciadores, sonda y control (LISTOS PARA RECIBIR MUESTRAS)

**Estos tres LESP compraron controles comerciales*

LESP
Guanajuato
Quintana Roo
Nuevo León

LESP que cuentan con iniciadores y sonda, pero NO cuentan con control (5 LESP)

LESP
Chiapas*
Chihuahua
Oaxaca*
SLP
Jalisco

- VEINTE LESP recibieron capacitación.
- TRES LESP cuentan con evidencia de la implementación (ya pueden recibir muestras en fase aguda).
- CINCO LESP están esperando los controles para validar los ensayos y poder evidenciar la implementación .
- ONCE LESP están realizando gestiones para la adquisición de los iniciadores y sonda

Estatus de la vigilancia serológica en la RNLSP

LESP	Estuches surtidos
CHIAPAS	1
VERACRUZ	3
TAMAULIPAS	1
JALISCO	1
MICHOACAN	1
NUEVO LEON	1
TABASCO	1
INSP – CRISP - TAPACHULA	1

Lineamientos para Fiebre Chikungunya

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

DGE Dirección General de Epidemiología

SALUD

Lineamientos para la Vigilancia Epidemiológica y Diagnóstico por Laboratorio de

Fiebre Chikungunya

SALUD IMSS ISSSTE SEDENA SEMAR PEMEX DIF CDI

Lineamientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica y Diagnóstico por Laboratorio de Fiebre Chikungunya

JULIO 2014

Agradecimientos

Centers for Disease Control and Prevention
NCEZID, Dengue Branch, Puerto Rico
NCEZID, Fort Collins, CO

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
"Dr. Manuel Martínez Báez"
Dirección de Diagnóstico y Referencia
Departamento de Virología
Coordinación de Enfermedades Virales Zoonóticas y por Vector
Laboratorio de Arbovirus y Virus Hemorrágicos

Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública

Correos electrónicos:
arbored.indre@gmail.com
mvp.arbored.indre@gmail.com
laboratorioarbovirusindre@yahoo.com.mx
mavazpi43@yahoo.com.mx
(55) 5337-1600 Ext 59591

Orgullosamente
Comunidad
SIJAVE
MÉXICO