



SALUD

Comité Intersectorial

Guía para la Vigilancia, Prevención y Control de Virus del Oeste del Nilo.

2012



CONTENIDO

1. Introducción	6
2. Antecedentes	7
2.1 Epidemiología y datos históricos de la infección causada por EVON	7
3. Objetivos	9
3.1 Objetivo general	9
3.2 Objetivos específicos	9
4. Metodología	10
4.1 Estrategias	10
4.2 Áreas de estudio	11
4.3 Investigaciones epidemiológicas	12
4.4 Diagnóstico de casos en humanos	12
4.5 Lineamientos de laboratorio, toma, manejo y envío de muestras	14
4.5.1 Toma de muestra para serología	15
4.5.2 Toma de muestra para líquido cefalorraquídeo	15
4.5.3 Toma de muestras <i>postmortem</i>	16
4.5.4 Envío de muestra	16
4.6 Actividad a realizar en los laboratorios centinelas, según nivel de bioseguridad disponible	19
4.6.1 Laboratorios estatales sin nivel de bioseguridad 2	19
4.6.2 Laboratorios estatales con nivel de bioseguridad 2	19
4.6.3 Laboratorios estatales con nivel de bioseguridad 3	19
4.7 Diagnóstico en vectores, huéspedes y reservorios	19
4.7.1 Aislamiento viral en mosquitos	19
4.7.2 Aislamiento viral en ganado equino	19
4.8 Vigilancia epidemiológica	20
4.8.1 Vigilancia clínica	21
4.8.1.1 Caso sospechoso	21
4.8.1.2 Caso probable	21
4.8.1.3 Caso confirmado	21
4.8.1.4 Acciones	22
4.8.2 Comités de vigilancia epidemiológica	22
4.8.3 Funciones y flujo de información según estructura de salud	23
4.8.3.1 Nivel local	23
4.8.3.2 Nivel jurisdiccional o delegacional	23
4.8.3.3 Nivel estatal	23
4.8.3.4 Nivel nacional	23
4.8.4 Vigilancia entomológica	24
4.8.4.1 Actividades entomológicas básicas en un programa de vigilancia	24
4.8.4.2 Aislamiento viral en mosquitos	25
4.8.4.3 Métodos de captura para poblaciones entomológicas	25

4.8.4.4	Trampas para hembras grávidas	26
4.8.4.5	Colectas larvarias	26
4.8.4.6	Método de control larvario	26
4.8.5	Vigilancia ornitológica	26
4.8.5.1	Corto plazo	26
4.8.5.2	Mediano plazo	27
4.8.5.3	Largo plazo	27
4.8.5.4	Aves centinelas	28
4.8.5.5	Captura de aves silvestres	28
4.8.5.6	Toma de muestra de sangre en aves	28
4.8.6	Vigilancia veterinaria	29
4.8.6.1	Determinación de huéspedes vertebrados y reservorios	29
4.8.6.2	Diagnóstico de casos en equinos	29
4.8.6.3	Definición de casos de una infección de VON en equinos	30
4.8.6.3.1	Caso confirmado	30
4.8.6.3.2	Caso probable	30
4.8.6.4	Toma y envío de muestras en equinos	31
4.8.6.4.1	Colección de muestras de equinos moribundos	31
4.8.6.4.2	Colección de muestras en equinos muertos	31
4.9	Notificación de casos y brotes	32
4.10	Información y participación comunitaria	33
4.11	Difusión de la información	34
5.	Anexos	
5.1	Anexo 1. Estudio Clínico Epidemiológico	35 y 36
5.2	Anexo 2. Modelo del flujo de información en la vigilancia epidemiológica del VON en México	37
5.3	Anexo 3 Bioseguridad	38
5.3.1	Medidas de seguridad en el laboratorio	38
5.3.2	Precauciones para la colecta de aves muertas y otros animales en el campo	38
5.3.3	Precauciones para el manejo de muestras sospechosas en necropsia	39
5.3.4	Precauciones para el manejo de muestras clínicas sospechosas en humanos y animales	39
5.3.5	Precaución para el aislamiento del virus y su manipulación en el laboratorio	40
6.	Bibliografía	41

INSTITUCIONES PARTICIPANTES

Secretaría de Salud

Mtro. Salomón Chertorivski Woldenberg
Secretario de Salud

Dr. Pablo Kuri Morales
Subsecretario de Prevención y Promoción de la Salud

Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades CENAPRECE

Dr. Miguel Ángel Lezana Fernández
Director General del Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades

Dr. Juan I. Arredondo Jiménez
Director del Programa de Enfermedades Transmitidas por Vector

Dr. Gustavo Sánchez Tejeda
Subdirector de Vectores

Biól. Fabián Correa Morales
Jefe del Departamento de Dengue/Virus del Oeste del Nilo

Dirección General de Epidemiología

Dr. Jesús Felipe González Roldán
Director General de Epidemiología

Dr. Cuitláhuac Ruiz Matus
Director General Adjunto de Epidemiología

Dr. José Alberto Díaz Quiñonez
Director General Adjunto del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos

**Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca
Alimentación SAGARPA**

M.V.Z Hugo Fragoso Sánchez
Director General de Salud Animal-SAGARPA

M.V.Z. Igor Francisco Romero Sosa
Director de la CPA-SAGARPA

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales SEMARNAT

Roberto Aviña Carlin
Director General de Vida Silvestre

Dr. Antonio Gonzalez Origel
Subdirector de Sanidad

1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, se han descrito nuevos virus asociados con síndromes severos en los seres humanos y se ha observado un aumento marcado en la incidencia de muchas enfermedades infecciosas ya conocidas en todo el mundo. La re-emergencia de padecimientos que se han situado como principales problemas de salud pública, tiene su origen en la combinación de muchos factores; sin embargo, posiblemente uno de los puntos más importantes para su resurgimiento es la carencia de recursos para la prevención. La forma más adecuada para modular la re-emergencia de enfermedades es a través del reforzamiento de las prácticas de salud pública en cada país, incluyendo una mejora de la vigilancia y el control (Saluzzo y Dodet, 1997; Heymann, 1997).

Durante muchos años el trabajo realizado por los virólogos en el área de los arbovirus consistió principalmente en estudiar las grandes epidemias producidas por éstos, como la fiebre amarilla o el dengue; y en hacer un inventario de los nuevos virus circulantes entre los vectores (mosquitos y garrapatas) y/o entre los reservorios (roedores y aves) de las regiones tropicales. A partir de la década de 1980, con el reconocimiento de las enfermedades emergentes y re-emergentes, surgió un nuevo método para el estudio de las enfermedades producidas por arbovirus, a través del cual se establecen los mecanismos de emergencia y la posible distribución de estos virus desde su fuente tropical, donde se pueden mantener en un ciclo enzoótico (Saluzzo y Dodet, 1997). Actualmente se sabe que el grupo de los arbovirus contiene más de 500 nuevas especies, de las cuales alrededor del 25% se han asociado con enfermedad en los seres humanos.

Las alteraciones ecológicas y las perturbaciones climáticas producidas por el hombre no son los únicos factores que explican la emergencia o re-emergencia de enfermedades, ya que la evolución molecular de los virus, particularmente los virus de RNA, proporcionan una fuente constante de agentes que pueden causar enfermedades nuevas. Por lo tanto el establecimiento de un sistema de vigilancia para estos virus es indispensable.

Enzootias, epizootias y epidemias

El ciclo de transmisión *enzoótica* puede darse a baja intensidad entre ciertos hospederos vertebrados y algunas especies de vectores, focalizado en hábitats específicos en ambientes rurales y semiurbanos. Si ciertos factores externos ocurren simultáneamente (baja inmunidad en hospederos, abundancia de hospederos y presencia de vectores, condiciones climatológicas favorables), el alcance y la intensidad del ciclo de transmisión se acentúan, produciendo una *epizootia*. Si ésta se da al inicio de la temporada de transmisión y si el foco se extiende a centros urbanos con vectores y hospederos adecuados, el riesgo de contagio humano (brote o epidemia) aumenta.

La prevención y control de arbovirosis depende de la identificación y monitoreo de las especies que funcionan como hospederos y vectores del virus y el análisis de una serie de factores que pueden desencadenar epizootias y epidemias. Las especies de vectores y hospederos involucrados en el ciclo de transmisión *enzootica* pueden ser los mismos involucrados en una epidemia (CDC, 1993).

2. ANTECEDENTES

El Virus del Oeste del Nilo (VON) se transmite por artrópodos. Fue aislado por primera vez en el distrito del Oeste del Nilo en Uganda. Pertenece al género *Flavivirus* de la familia *Flaviviridae* y es miembro del serocomplejo de la Encefalitis Japonesa (JE), en el que se incluyen también, los virus de la JE, de la Encefalitis de San Luis (SLE) y de la Encefalitis del Valle Murray.

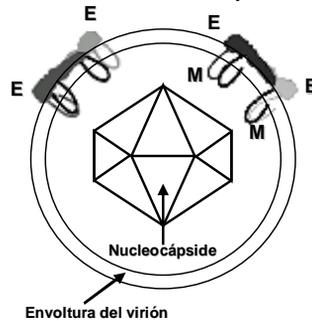


Figura 1.- Esquema del VON (Petersen *et al*, 2001)

La partícula que envuelve al virión mide entre 45 y 50 nm de diámetro, presenta un núcleo icosaédrico que posee en su interior un genoma de RNA de una sola cadena de sentido positivo de aproximadamente 11,000 nucleótidos (Petersen 2001) (Figura 1).

2.1 Epidemiología y datos históricos de la infección causada por VON.

El Virus del Oeste del Nilo circula en ciclos de transmisión natural **que** involucran varias especies de aves y mosquitos, principalmente del género *Culex*, mientras que los humanos y una variedad importante de vertebrados son hospederos incidentales (Lanciotti *et al*, 2000). Aunque las infecciones humanas en áreas endémicas de VON son comunes, la mayoría de éstas son generalmente leves o subclínicas, mientras que la enfermedad severa se relaciona generalmente con personas de la tercera edad (CDC, 2001; Lanciotti *et al*, 2000).

La infección por el VON puede causar mortalidad entre equinos, así como en ciertas aves domésticas y silvestres. El VON ha circulado durante mucho tiempo en diferentes partes del mundo, principalmente en África, Asia, sur de Europa y Australia, siendo el responsable de epidemias importantes, entre las

que destacan las ocurridas en: Israel (en los años 1950's), Francia (1962), Sudáfrica (1974) y Rumania (1996). En 1999 el VON fue responsable de dos epidemias importantes, una en Belgrado, Rusia y la otra en la Ciudad de Nueva York, EUA, en donde se confirmaron 62 casos humanos, con 6 fallecimientos (Lanciotti *et al*, 2000).

Durante el periodo de verano-otoño en 1999 y 2000 ocurrieron dos epidemias de encefalitis humana causadas por el VON en la región este de los EUA. A pesar de que la vigilancia epidemiológica en aves demostró actividad viral desde la frontera con Canadá hasta Carolina del Norte, solamente en tres estados de la Unión Americana se reportaron casos humanos: Nueva York, Connecticut y Nueva Jersey (Emerging Infectious Diseases, 2001).

Se sospecha que las aves migratorias son los principales hospederos introductorios del virus, pues los brotes en las regiones templadas ocurren en general durante el fin del verano y principios del otoño, coincidiendo con la llegada de grandes grupos de aves migratorias. Los brotes a menudo ocurren entre los seres humanos que habitan cerca de zonas pantanosas, donde se establece contacto entre concentraciones de aves con gran número de mosquitos, que a su vez son capaces de infectar a los humanos (Rappole *et al*, 2000). Además de las aves migratorias, los viajes internacionales de personas infectadas hacia Nueva York y la importación de aves o de mosquitos son otras posibles fuentes de introducción del virus del VON a Norteamérica (CDC, 2001). Se ha sugerido también, que las aves predatoras pueden infectarse al alimentarse a su vez de presas infectadas (otras aves, ranas, pequeños mamíferos) (Environmental Risk Analysis Program, 2002).

Por otra parte, la migración de diferentes especies de aves provenientes de regiones del norte de los EUA a distintos estados del territorio mexicano durante la temporada invernal, hace suponer que nuestro país está en riesgo potencial de presentar en algún momento brotes de esta arbovirosis. Además, en México existen especies del género *Culex*, principal género de mosquitos involucrados en los ciclos epizooticos reportados en el noreste de EUA y en los brotes reportados en el Viejo Mundo. La diversidad climática y de ecosistemas en México, facilita las condiciones adecuadas para que el virus logre amplificarse en hospederos vertebrados susceptibles.

En resumen, nuestro país presenta condiciones climáticas adecuadas, a niveles locales, presencia de especies de vectores y vertebrados susceptibles a VON; por lo cual, es necesario iniciar actividades enfocadas a una vigilancia epidemiológica adecuada para detectar oportunamente, si es el caso, la introducción del virus en territorio mexicano. Es necesario establecer este sistema antes y durante la temporada de hibernación de las especies migratorias en nuestro país (garzas, gaviotas, palomas, cuervos y gorriones), las cuales podrían arribar infectadas a los estados donde acostumbran llegar (Peterson, 1989).

3. OBJETIVOS

3.1 Generales

- Establecer y desarrollar un sistema de vigilancia epidemiológica del virus del Oeste del Nilo en México.
- Desarrollo de un modelo de prevención con participación comunitaria.

3.2 Específicos

- Establecer procedimientos y criterios homogéneos para la vigilancia epidemiológica y control de la enfermedad asociada al Virus del Oeste del Nilo.
- Definir y establecer los mecanismos para la búsqueda y detección viral en las poblaciones de vectores, equinos y población humana (poblaciones hospederas).
- Conformar grupos interdisciplinarios que permitan evaluar en forma permanente las medidas de vigilancia, prevención y control de la enfermedad.
- Identificar oportunamente grupos y áreas de riesgo y promover la difusión y uso de la información epidemiológica para la toma de decisiones.
- Establecer una red interinstitucional de unidades centinela para el diagnóstico oportuno de casos y brotes de Encefalitis por Virus del Oeste del Nilo.
- Garantizar la calidad de la notificación con apoyo del laboratorio.
- Identificar la distribución geográfica y temporal del Virus del Oeste del Nilo en el territorio mexicano.
- Contribuir al desarrollo de un cuadro regional de la distribución geográfica e incidencia de los arbovirus con importancia clínica y epidemiológica en México.

4. METODOLOGÍA

4.1 Estrategias

Las estrategias para fortalecer la vigilancia epidemiológica, se deberán instrumentar en forma oportuna mediante la participación de todas las instituciones del Sector Salud, las cuales comprenden:

Integración de un Grupo Intersectorial para la Vigilancia, Prevención y Control el Virus del Oeste del Nilo. Este grupo coordinará la instrumentación, seguimiento y evaluación de las actividades de vigilancia epidemiológica, prevención y control. El grupo deberá estar integrado por autoridades y profesionales de las especialidades de epidemiología, infectología, neurología,

laboratorio, salud pública, salud veterinaria, entomología, ornitología y otras afines, de acuerdo a las necesidades de operación del sistema.

Cada Grupo contribuirá al garantizar el funcionamiento del sistema vigilancia y de la Red de Unidades Centinela en las entidades federativas y en todas las jurisdicciones sanitarias, de los Servicios Estatales de Salud, particularmente en grupos de riesgo y áreas geográficas con potencial de ocurrencia de casos. Además, de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), con otros sectores de interés como instituciones académicas y de investigación (UNAM, IPN, UAM, UADY, UANL etc.), Secretaria de Turismo, entre otras.

Establecimiento de una Red de Unidades Centinela, constituida por unidades representativas del segundo y tercer nivel de atención del Sistema Estatal de Salud, particularmente de la RHOVE. Su selección deberá atender preferentemente a los siguientes criterios:

- 2.1. Accesibilidad geográfica.
- 2.2. Localidades con alta concentración de población.
- 2.3. Disponibilidad de recursos básicos para la vigilancia epidemiológica, en particular de epidemiólogo y personal de enfermería, así como de la logística para la toma y envío de muestras.
- 2.4. Contar con teléfono, fax u otro medio de comunicación para la notificación inmediata y semanal de casos y defunciones.
- 2.5. Ubicación en zonas de importancia comercial, turística o de índole fronteriza.

Fortalecimiento de la capacidad de laboratorio. Simultáneamente, se deberán identificar las necesidades de recursos (humanos, materiales, financieros, técnicos) para la obtención y el procesamiento de las muestras, o en su caso, para el envío de las mismas al Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) u otro centro especializado de diagnóstico. Asimismo, deberán identificarse y resolverse las necesidades de capacitación del personal de laboratorio.

Vigilancia activa de casos y defunciones. Tiene como propósito asegurar la detección oportuna de casos. Se llevará a cabo ante la presencia de un caso, o el incremento poco común de casos, o de defunciones compatibles con EVON, en una área geográfica donde existe sospecha o evidencia de la circulación del agente causal. La presencia de brotes epidémicos deberá ser objeto de estudio inmediato y análisis en los Comités Estatales de Vigilancia Epidemiológica

(CEVE's) o los grupos multidisciplinarios que para este efecto se establezcan en cada entidad o jurisdicción sanitaria.

También se deben considerar las fuentes no formales de información para la identificación de casos y defunciones, en las cuales participa activamente la comunidad.

Notificación, se llevará a cabo de acuerdo en lo dispuesto en la NOM 017 para la Vigilancia Epidemiológica.

4.2 Áreas de estudio.

Estados de Baja California, Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Quintana Roo, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán representan áreas a las cuales llegan al menos 11 diferentes especies de aves provenientes de Nueva York (Rappole *et al*, 2000) y que podrían funcionar como transporte del VON directamente a nuestro país, por lo que deben considerarse áreas prioritarias para establecimiento de unidades centinela y monitoreo.

Las entidades de Coahuila, Chihuahua y Nuevo León, también serán incluidas como áreas prioritarias para el establecimiento de unidades centinela y monitoreo por la relevancia que tienen como parte de la región fronteriza y el importante movimiento migratorio de México a Estados Unidos.

Esta priorización obedece a la presencia de distintas especies de aves migratorias (garzas, gaviotas, palomas, cuervos, gorriones, entre otras) que se relacionan con la presencia del Virus del Oeste del Nilo en Estados Unidos y por los antecedentes de enzootias y epizootias (Peterson y Chalif, 2001).

Se seleccionarán áreas de refugio de aves migratorias que tengan antecedentes de epizootias por arbovirus como puntos para iniciar la búsqueda del virus en muestras entomológicas, de mamíferos, aves domésticas y silvestres, y en humanos.

Organización de un sistema de vigilancia epidemiológica a nivel nacional

Se establecerá una coordinación estrecha y el intercambio de datos entre los Servicios de Salud Pública federal, estatal y local, la Dirección de Enfermedades Transmitidas por Vector, la Dirección General Adjunta de Epidemiología, la SAGARPA y la SEMARNAT.

4.3 Investigaciones epidemiológicas

a) Elaboración de formularios estándar y preparación de cuestionarios para la población expuesta, con prueba piloto previa.

b) Realización de encuestas de corta duración sobre las epizootias o epidemias para determinar la presencia de la enfermedad y evaluar la magnitud del problema (determinar fuente, incidencia, prevalencia y riesgo de propagación), con especial énfasis en áreas de proximidad a zonas endémicas y en puertos

marítimos y aeropuertos, áreas de transportes de carga y regiones de comercio proveniente de zonas enzoóticas.

c) Investigaciones epidemiológicas en poblaciones afectadas por arbovirosis. La principal actividad de vigilancia del VON, será el estudio de factores epizooticos involucrados para determinar casos humanos, examinar reservorios, huéspedes y vectores.

4.4 Diagnóstico de casos en humanos

a) Diagnóstico clínico.

Infección leve

La mayoría de las infecciones son leves y a menudo sin síntomas

- Aproximadamente el 20% de las infecciones desarrollan una enfermedad leve (fiebre del VON)
- El periodo de incubación se encuentra en un rango de 3 a 14 días.
- Los síntomas generalmente duran de 3 a 6 días

Los reportes de los primeros brotes describen la forma leve de la infección por VON como una enfermedad febril de inicio súbito comúnmente acompañada de

- | | |
|--------------------|------------------|
| < malestar general | < cefalea |
| < anorexia | < mialgia |
| < náusea | < rash |
| < vómito | < linfadenopatía |
| < dolor de ojos | |

El espectro clínico de la fiebre por VON no ha sido determinado en Norteamérica.

Infección severa

Aproximadamente 1 de 150 infecciones origina enfermedad neurológica

- El riesgo más significativo para el desarrollo de enfermedad neurológica severa es la edad avanzada.
- La encefalitis es más comúnmente reportada que la meningitis.

En los brotes recientes, los síntomas más comunes entre los pacientes hospitalizados son:

- | | |
|-------------|-------------------------------|
| < fiebre | < gastrointestinales |
| < debilidad | < cambio en el estatus mental |
| < síntomas | |

- Un número menor de pacientes con enfermedad severa desarrollaron erupción maculopapular o morbiliforme en cuello, tronco, brazos o piernas.
- Algunos pacientes presentaron debilidad muscular severa y parálisis flácida
- Las presentaciones neurológicas incluyeron:

- | | |
|-------------------|------------------|
| < ataxia y signos | extrapiramidales |
|-------------------|------------------|

- < anomalías de nervios craneales
- < mielitis
- < neuritis óptica
- < polioradiculitis
- < ataques epilépticos

Aunque no se observó en brotes recientes, se han descrito miocarditis, pancreatitis y hepatitis fulminante

Sospecha clínica

El diagnóstico de infección por VON está basado en un alto índice de sospecha clínica y por los resultados específicos de las pruebas de laboratorio.

- o La infección por VON u otra enfermedad arboviral como encefalitis de San Luis, deben ser consideradas en adulto ≥ 50 años que desarrollen encefalitis o meningitis de causa desconocida en verano o a principios del otoño.
- o La presencia local de actividad enzoótica u otros casos humanos son causa de mayor sospecha.
- o La obtención de un historial de viajes también es importante.

Nota: La enfermedad neurológica severa debida a infección por VON ha ocurrido en pacientes de todas las edades. La transmisión en personas de alrededor de 1 año es posible en algunas áreas; por lo tanto, debe considerarse VON en todas las personas con encefalitis y meningitis de causa desconocida.

Se deberá incluir en este estudio condiciones de la vivienda a fin de determinar la fuente huésped-vector de la infección.

Además del estudio de actividades humanas, sociales y económicas tanto personales como del área que puedan facilitar la transmisión y su dispersión: movimientos humanos, presencia de vectores y hospederos infectados (aves domesticas, aves residentes silvestres y aves migratorias).

b. Diagnóstico serológico.

1. Demostrar la presencia de anticuerpos IgM en sueros pareados (inicio de la enfermedad y convalecencia) o LCR por ELISA.
2. Aislamiento del agente en cultivo celular a partir de suero, plasma, LCR, tejido cerebral o médula espinal.
3. Identificación del agente por inmunofluorescencia indirecta
4. Identificación de ácido nucleico del VON por RT-PCR

Para dar cumplimiento al objetivo de “Desarrollar un cuadro regional completo de la distribución geográfica e incidencia de otros arbovirus clínicamente importantes en México”, se buscará con los reactivos disponibles para las diferentes arbovirosis: Encefalitis de San Luis, Encefalitis Equina Venezolana, Encefalitis Equina del Este y Encefalitis Equina del Oeste. Las pruebas a realizar serán: Inhibición de la hemaglutinación (aumento del título de anticuerpos IgG en muestras pareadas), ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima para IgM específico de VON (ELISA IgM), aislamiento viral a partir de

sangre, suero o líquido cefalorraquídeo (LCR), detección de anticuerpos IgM o antígenos virales mediante otras pruebas serológicas.

4.5 Lineamientos de laboratorio, toma, manejo y envío de muestras.

El Virus del Oeste del Nilo (VON) es un patógeno emergente cuyo comportamiento en nuestro territorio aún está en estudio y dada la dificultad para el diagnóstico por laboratorio, debido a la ocurrencia de dengue en gran parte del país; y el cruce de estos *Flavivirus* en las pruebas serológicas, es necesario realizar algunas adecuaciones para una mayor certeza en el diagnóstico, por lo que los criterios de toma, manejo y envío de muestras humanas al InDRE, son los siguientes:

- **Líquido Cefalorraquídeo (LCR) y plasma** de pacientes: con 1 a 7 días de iniciados los síntomas, para RT-PCR y aislamiento viral. Debido a que no siempre es detectable el ácido nucleico, será necesario enviar una segunda muestra de suero con 2 semanas de evolución para confirmar el resultado por ELISA de IgM (MAC-ELISA). Enviar inmediatamente las muestras (24 h máximo).
- Las muestras de **LCR** con más de 7 de días y hasta de 15 días de evolución serán procesadas para ELISA de IgM (MAC-ELISA).
- En el caso de muestras de **suero** de más de 7 días y hasta de 300 días de iniciados los síntomas se procesarán por MAC-ELISA.
- Las muestras de **LCR** y **suero** entre 7 y 14 días podrían presentar títulos de IgM bajos, por lo que se solicitará una segunda muestra de suero.

Las muestras deberán enviarse como se indica más adelante hasta su recepción en el laboratorio.

Es importante mencionar que la técnica de MAC-ELISA utilizada actualmente se realiza para discriminar entre dengue y VON, mientras que las pruebas comerciales no lo incluyen y podrían originar resultados falsos positivos.

4.5.1 Toma de muestra

Las muestras se obtendrán de pacientes con diagnóstico clínico que se ajuste a la definición de caso probable. Las muestras sanguíneas serán obtenidas por venopunción, como sigue:

Usar prácticas de bioseguridad estándar (uso de bata, guantes, mascarilla y protección para los ojos).

Muestra de sangre completa para el diagnóstico del VON en fase virémica (RT-PCR y/o cultivo):

Colectar 5 mL de sangre completa con anticoagulante EDTA en tubo *vacutainer* (tapón lila). Mezclar perfectamente para evitar la formación de coágulo y etiquetar con los datos del paciente.

Las muestras para RT-PCR y aislamiento deberán enviarse al laboratorio para su análisis inmediatamente (en las primeras 24 horas) y de la forma adecuada, como se indica en envío de la muestra.

Muestras de suero:

Tomar 5 ml de sangre para detección de anticuerpos (sin anticoagulante), dejar a temperatura ambiente aproximadamente 20 min para que se separe el suero

La muestra de sangre será centrifugada, para separar el suero, durante 10 minutos, a una velocidad de 3,000 a 6,000 r.p.m. (de acuerdo a la capacidad de la centrífuga). Separar el suero obtenido y colectar en criotubos de 2 ml,

El suero obtenido será repartido en al menos 2 criotubos de 2 ml con tapa de rosca externa y empaque de seguridad.

Cada criotubo será previamente etiquetado con nombre del paciente, tipo de muestra y fecha de muestreo (día/mes/año).

En caso de ser muestra de 1-7 días de evolución, indicar que se debe tomar una segunda muestra de suero con dos semanas de evolución del padecimiento.

4.5.2 Toma de muestra para líquido cefalorraquídeo:

Se tomará una muestra de LCR, entre el día 1 y 7 de iniciado el cuadro clínico (fase aguda).

Las muestras, en criotubos perfectamente etiquetados, deberán enviarse al laboratorio para su análisis. Deberán congelarse inmediatamente en hielo seco si se busca el aislamiento del virus.

De cada muestra (plasma, suero y LCR) deberá enviarse al menos 2.0 mililitros. En caso de requerirse deberán mantenerse en refrigeración o congelación, según sea el caso, hasta el momento de su envío.

MUESTRAS ADECUADAS PARA LAS TÉCNICAS DIAGNOSTICAS DE VON,
DE ACUERDO A LOS DÍAS DE EVOLUCIÓN.

InDRE, ABRIL DE 2004

MUESTRAS ADECUADAS																									
LIQUIDO CEFALORRAQUÍDEO Y PLASMA							LIQUIDO CEFALORRAQUÍDEO Y SUERO							SUERO											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	300				
DIAS DE EVOLUCIÓN																									
RT-PCR Y AISLAMIENTO							ELISA DE IgM (MAC-ELISA)																		

TÉCNICA A UTILIZAR



4.5.3 Toma de muestra *post mortem*:

En caso de fallecimiento tomar muestras de tejido por duplicado de diferentes zonas del cerebro (incluyendo corteza, tallo cerebral y cerebro medio) Las muestras deberán congelarse (si es posible a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$), en criotubos perfectamente etiquetados y enviar en hielo seco como se indica abajo.

4.5.4 Envío de la muestra:

Las muestras recolectadas serán enviadas al laboratorio centinela más cercano o al InDRE, vía servicio de mensajería en contenedores portátiles con refrigerantes o hielo seco, según sea el caso, bajo las normas de seguridad adecuadas para muestras biológicas.

Embalaje:

Debe usarse un sistema de triple embalaje que cumpla con las especificaciones de la Agencia Internacional de Transporte Aéreo (IATA) bien sellado y con la información del destinatario.

El material a enviarse no debe salir del empaque que lo contiene bajo circunstancias normales de transporte, por lo cual las muestras deberán incluirse en un sistema de triple embalaje y mantenerse, según sea el caso, en refrigeración (entre $4\text{ y }8\text{ }^{\circ}\text{C}$) o congelamiento (en hielo seco):

- El primer recipiente (contenedor primario) que contendrá la muestra, deberá ser un criotubo con tapa de rosca y cierre hermético. Cada recipiente se cubrirá envolviendo con material absorbente (por ejem. con gasa o toalla de papel absorbente) suficiente para absorber todo el fluido en caso de ruptura o fuga. Cada criotubo deberá etiquetarse con los siguientes datos (letra legible):

- Nombre del paciente
- Tipo de muestra
- Fecha de colecta

• 2o recipiente (contenedor secundario), de material rígido, con tapa de rosca, a prueba de filtraciones, en el que se guarda y protege uno o más de los recipientes primarios. En caso de incluir varios recipientes primarios, usar suficiente material absorbente para protegerlos y evitar el choque entre ellos. Cerrar firmemente.

• 3er recipiente (contenedor externo de envío), de material rígido (hielera de plástico rígido o hielera de poliestireno -unicel- dentro de una caja de cartón corrugado) que proteja al contenedor secundario, y a su contenido, de los elementos externos como daño físico y agua. Se incluyen aquí los geles refrigerantes o el hielo seco en cantidades suficientes para mantener el recipiente a la temperatura adecuada durante el transporte al laboratorio. También se incluyen, en una bolsa de plástico con cierre hermético, las solicitudes de diagnóstico u otros documentos correspondientes a cada una de las muestras (Figura 2.)

Los sistemas de embalaje aprobados se pueden obtener de diferentes proveedores comerciales. Sin embargo, éstos pueden sustituirse por un sistema triple hecho a partir de material reciclable del laboratorio. Aunque en este caso deberán extremarse las precauciones para evitar fugas o roturas de los contenedores primarios: utilizar cantidades suficientes de material absorbente que también funcione como amortiguador durante el transporte.

Las muestras congeladas deberán enviarse con suficiente hielo seco.

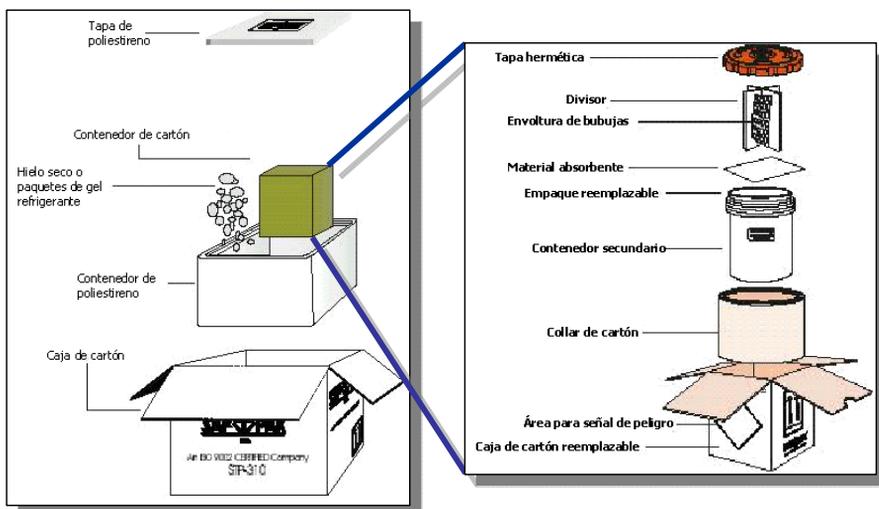


Figura 2.- Sistema de triple embalaje.

Nota: No colocar hielo seco dentro del recipiente secundario ya que existe peligro de explosión. El contenedor de envío deberá ser de material aislante, pero que permita el escape del CO₂.

Tiempo de envío: Lo más pronto posible (evitar enviarlas en viernes o en días festivos). Dirigir al Departamento de Enfermedades Emergentes, con atención a M en C Rita Flores León, indicando que se envían para diagnóstico de VON.

Datos requeridos: Las muestras de cada paciente deberán incluir los datos que se solicitan en el formato anexo, en original y con letra de molde legible.

Criterios de rechazo de muestras: Serán rechazada todas aquellas muestras que:

- no cumplan con definición de caso,
- hayan sido tomadas fuera del periodo señalado,
- no incluyan el formato anexo o que lleguen con datos incompletos (sin fecha de inicio de síntomas y/o fecha de toma de muestra, etc.),
- lleguen derramadas
- lipémicas o hemolisadas

4.6 Actividades a realizar en los laboratorios centinelas, según nivel de bioseguridad disponible:

4.6.1 Laboratorios estatales sin nivel de bioseguridad 2

- Funcionar como centro de acopio de muestras humanas y animales.
- Garantizar que las muestras lleguen al laboratorio con Gabinete de Bioseguridad Nivel 2.
- Orientar a la población en general sobre el manejo de animales muertos.

4.6.2 Laboratorios estatales con nivel de bioseguridad 2

Manejar el material contaminado de acuerdo a las normas de Bioseguridad nivel 2 (BSL 2) (uso de bata, guantes, mascarillas con careta, gabinete de bioseguridad 2).

Llevar a cabo diagnóstico serológico (bajo las recomendaciones hechas en el apartado de bioseguridad).

4.6.3 Laboratorios estatales con nivel de bioseguridad 3

Manejar el material contaminado de acuerdo a las normas de Bioseguridad nivel 3 (BSL 3) (uso de bata, guantes, gabinete de bioseguridad 3).

Llevar a cabo diagnóstico serológico, aislamiento viral y RT-PCR.

4.7 Diagnóstico en vectores, huéspedes y reservorios.

4.7.1 Aislamiento viral en mosquitos.

El aislamiento viral en mosquitos se llevará a cabo con el fin de identificar las especies vectores que participan en el ciclo de transmisión y enfocar las actividades de vigilancia, y llegado el caso de control hacia las formas larvarias y adultas de estas especies.

4.7.2 Aislamiento viral en ganado equino

El ganado equino es en especial un huésped muy importante en la permanencia de esta enfermedad y su calidad como amplificador es conocida, por lo que es de suma importancia la vigilancia sobre esta especie.

Un diagnóstico de presunción puede basarse en los signos clínicos, la historia, y la ocurrencia estacional (el aumento de casos ocurre generalmente en verano), y es apoyado por el conocimiento de áreas endémicas o de una actividad epidémica conocida del virus.

Por lo que para la detección del virus en los caballos y en diferentes especies, se propone la recolección de muestras sanguíneas en los estados mencionados como de mayor riesgo, que a su vez cuentan con la presencia de aves migratorias, antecedentes históricos de brote de encefalitis y presencia del vector.

Las muestras recolectadas se analizarán con serología, se procesarán por el método de ELISA para buscar anticuerpos IgM. Una de las características más útiles de este método es la de proveer un diagnóstico rápido con una muestra. Entre 6 y 10 días después de haberse iniciado la enfermedad la detección de positivos es de más del 90%.

Aunado a esto se recolectarán muestras de animales visiblemente enfermos y que reúnan los signos más comunes en esta patología.

Signos de presunta encefalitis:

- Fiebre
- Alteración de la visión
- Marcha irregular
- Andar de un lado para otro
- Reflejos reducidos

- Dar vueltas en círculos
- Incoordinación
- Bostezo
- Rechinar de dientes
- Somnolencia
- Incapacidad de deglutir
- Incapacidad de levantarse desde una posición acostada.

Así mismo se propone la ubicación de cebos centinelas en las áreas de muestreo para aumentar la diversificación del muestreo.

En las entidades donde el riesgo es menor la recolección de muestras estará sujeta a la disposición de insumos y personal, pero el muestreo en los animales sospechosos por enfermedad deberá ser de forma obligatoria.

Involucrar el Sistema de Vigilancia en el funcionamiento de las de Clínicas Centinelas de febriles en la vigilancia del VON.

4.8 Vigilancia epidemiológica

La vigilancia epidemiológica es el estudio permanente y dinámico del estado de salud en la población y tiene como propósito presentar alternativas para la toma de decisiones. Desde el punto de vista operativo incluye la recopilación, procesamiento y análisis de los daños y riesgos en salud.

La vigilancia de VON ofrece la oportunidad de utilizar el enfoque de riesgo en epidemiología desde el contexto de la historia natural de la enfermedad, ya que su frecuencia, distribución y características están condicionadas por la participación de factores de riesgo específicos en la comunidad. Con el propósito de sistematizar los componentes involucrados en la transmisión del VON y facilitar su estudio, se pueden clasificar como clínicos, entomológicos, virológicos y de factores de riesgo.

Para cada uno de estos componentes se han diseñado procedimientos específicos que, analizados de manera integral, permiten establecer el riesgo global de la enfermedad.

4.8.1 Vigilancia Clínica

La vigilancia clínica de VON incluye la detección, notificación, estudio, seguimiento y clasificación de casos y defunciones.

Para la vigilancia epidemiológica de VON se han elaborado definiciones operacionales de caso, a efecto de unificar los criterios para la su detección, notificación y clasificación. Las definiciones se caracterizan por tener elevada sensibilidad, es decir que permiten detectar la mayoría de los casos a través de los signos y síntomas más frecuentes de la enfermedad.

La especificidad del diagnóstico está dada por los estudios de laboratorio, por lo que es fundamental el contar con los resultados de laboratorio.

4.8.1.1 Caso sospechoso.

Todo paciente con fiebre que presenta signos y síntomas neurológicos (encefálicos o meningeos) o parálisis flácida tipo Guillan Barre.

4.8.1.2 Caso probable.

Todo caso sospechoso que presenta líquido cefalorraquídeo de características compatibles con meningitis o encefalitis aséptica, y uno o más de los siguientes antecedentes:

- Residencia o estancia en áreas donde se ha demostrado por laboratorio circulación viral en animales o humanos.
- Presencia del vector.
- Mortandad inusual de animales en el área.

4.8.1.3 Caso confirmado.

Todo caso probable en el que se demuestra por laboratorio la infección por Virus del Oeste del Nilo.

4.8.1.3 Acciones:

Ante un caso probable de VON

Ante la presencia de casos probables de VON:

- Notificación inmediata de casos, defunciones y brotes a los diferentes niveles.
- Envío de formatos de estudio clínico epidemiológico de casos, estudio de brote o certificado de defunción (Ver Anexo 1).
- Notificación de brotes a través del formato SUIVE-3-2000.
- Realizar búsqueda de casos en: la comunidad, unidades de salud, registros de mortalidad y, fuentes adicionales.
- Toma y envío de muestra sanguínea para efectuar diagnóstico serológico
- Realizar la vigilancia clínica, entomológica, virológica y epizootiológica, canalizando la información.

Ante un caso confirmado de VON

- Notificación a los niveles correspondientes
- Intensificar las acciones integrales de vigilancia, prevención y control con participación de los comités jurisdiccionales y estatales de Vigilancia Epidemiológica.
- Incluir el caso en forma definitiva en los registros y la base de datos correspondientes.

El registro y la notificación de los casos probables o confirmados de VON, se realiza de acuerdo a los procedimientos establecidos en la Nom-017-SSA-2-1994, para la Vigilancia Epidemiológica.

La confirmación de todo caso o defunción de VON deberá ser revisada y analizada en el seno de los Comités de Vigilancia Epidemiológica y los subcomités clínicos en sus diferentes niveles: jurisdiccional, estatal y nacional, a efecto de definir las estrategias de prevención y control.

4.8.2 Comités de vigilancia epidemiológica.

Deberán estar conformados, a efecto de garantizar la obtención análisis y aplicación de la información de manera interinstitucional, al menos por los siguientes representantes:

Por la Secretaría de Salud

- Epidemiólogo estatal de la SSA
- Responsable estatal del Programa de VON
- Jefe de la Jurisdicción afectada
- Director de la unidad notificante
- Epidemiólogo de la unidad tratante
- Responsable del laboratorio de diagnóstico

Por otras instituciones del sector salud

- Epidemiólogos de las diversas instituciones del sector salud

Por otras Dependencias

- Representantes de los integrantes del Comité Intersectorial.

4.8.3 Funciones y flujo de información según estructura de salud (Anexo 2)

4.8.3.1 Nivel local

- Para propósitos de la información epidemiológica, las actividades son:
- Registrar y notificar al nivel inmediato superior los casos y brotes de VON.
- Enviar los casos probables (signos y síntomas neurológicos) a unidades hospitalarias.
- Participar en el Estudio Epidemiológico de Caso.
- Realizar el Estudio de Brote (SUIVE3-2000).
- Notificar las defunciones acompañadas del certificado de defunción.

4.8.3.2 Nivel jurisdiccional o delegacional

- Capturar, registrar, analizar y enviar al nivel superior la información epidemiológica recibida.

- Obtener la información clínica epidemiológica del caso para su clasificación y análisis epidemiológico del VON en el seno del Comité Jurisdiccional.
- Garantizar la toma y envío de muestras para diagnóstico de laboratorio.
- Garantizar el intercambio de información con los representantes de las diversas instituciones que conforman el Comité Intersectorial a través del formato (nombre).

4.8.3.3 Nivel estatal

- Recibir, concentrar y analizar la información epidemiológica estatal sobre VON.
- Garantizar el envío de las muestras y la recepción de resultados.
- Coordinar las Instituciones del Comité Intersectorial, a través del Comité Estatal de Vigilancia Epidemiológica (CEVE), para que se optimicen las acciones en el manejo y análisis de la información, así como la evaluación de las actividades de vigilancia, prevención y control.

4.8.3.4 Nivel nacional

- Normar las funciones para la Vigilancia de VON.
- Recibir, concentrar, analizar, avalar y difundir la información epidemiológica nacional de VON.
- Convocar reuniones para el analizar en el seno del CONAVE la situación epidemiológica del VON al nivel nacional, reorientando las acciones de manera permanente.

4.8.4 Vigilancia Entomológica.

De un modo general, el objetivo principal de un sistema de vigilancia entomológica para prevención de brotes de encefalitis tiene como propósito detectar tempranamente la circulación del virus en los vectores locales, detectar aumento en las poblaciones vectoriales (normalmente esta condición se da antes de la aparición de un brote), y tener un registro de las especies de vectores responsables de la transmisión, en caso de tener que pasar de una fase de vigilancia y prevención a una de control.

Los datos de abundancia poblacional y tasa de infección viral permiten:

- Evaluar el riesgo de infección en humanos.
- Identificar áreas geográficas de alto riesgo.
- Identificación de hábitat larvarios.
- Monitoreo del impacto de las medidas de prevención y control.
- Establecer intervalos de tiempo entre una intervención de control y otra, así como la intensidad de las mismas.

4.8.4.1 Actividades entomológicas básicas en un programa de vigilancia.

Identificación y Mapeo de hábitat larvarios: permite tener un estimado de las

poblaciones vectoriales futuras; y a veces permite actuar directamente en su eliminación. Actualmente el método más efectivo para prevenir casos humanos es reducir el riesgo de la interacción entre vector / hospedero humano mediante el control vectorial. El control vectorial más económico y efectivo es la reducción de poblaciones larvarias (CDC, 2001)

Monitoreo de poblaciones adultas: tiene el propósito de vigilar las variaciones en la densidad poblacional. La abundancia de vectores está regulada por varios factores, principalmente el clima, la disponibilidad de recursos alimenticios y de espacio para poblaciones larvarias. Un clima adecuado favorece el aumento en poblaciones de mosquitos, así como la amplificación viral en vertebrados. Cuando los criaderos tienen suficiente espacio y alimento para la población larvaria presente, las poblaciones adultas derivadas de éstas serán más grandes y robustas que aquéllas que durante la etapa larvaria compitieron por espacio y alimento. Esto influye directamente en la *longevidad* de las hembras: una hembra longeva tiene más posibilidades de infectarse y transmitir el patógeno que una hembra con una *tasa de supervivencia* menor. El patógeno tiene más posibilidades de desarrollar su período de incubación extrínseca (y ser transmitido a un hospedero) en una hembra longeva.

Determinar estructura de edades: excepto en los casos de transmisión transovárica, la permanencia y transmisión viral depende mucho de la longevidad de las hembras, como se mencionó anteriormente. Se asume que la abundancia de vectores está directamente relacionada con el riesgo de transmisión; pero frecuentemente esta suposición está equivocada. Si las condiciones de desarrollo fueron adecuadas, las hembras serán más longevas y por lo tanto, con mayores posibilidades de infectarse y volverse infectivas. El sector de la población importante en la transmisión es la proporción de hembras multíparas. Posiblemente hay más correlación entre la abundancia de hembras longevas y la tasa de transmisión viral que entre este último parámetro y la población total del vector (CDC, 1993).

4.8.4.2 Aislamiento viral en mosquitos

La búsqueda del patógeno en mosquitos es necesaria para determinar qué especies están involucradas en el ciclo de transmisión. La *Tasa Mínima de Infección (TMI)* se expresa como el número de mosquitos infectados por 1000 entre número de individuos examinados.

Este valor en un tiempo y localidad dados es un indicador de la prevalencia viral en el hábitat, de la intensidad de la transmisión y, en algunos casos, del riesgo de infección en humanos (Nasci et al, 2001). En un sistema de vigilancia, en ausencia de un brote, el objetivo es sobre todo detectar a tiempo la presencia del virus en poblaciones vectoras para decidir las medidas de prevención más adecuadas.

4.8.4.3 Métodos de captura para poblaciones entomológicas.

El uso de trampas de luz y de CO₂ es recomendable en sitios fijos para evaluar

cambios espaciales y temporales en la densidad poblacional de mosquitos. También es conveniente tener la opción de colocar trampas en sitios que pueden variar, según la presencia de aves, de poblaciones abundantes de mosquitos, para aumentar las posibilidades de capturar mosquitos positivos a VON. Al mismo tiempo, es conveniente situarlas lejos de hábitat larvarios para reducir la captura de machos y hembras nulíparas. También pueden usarse las técnicas de cebo humano, animal y trampas para hembras grávidas. Por último, es conveniente enfocarse sobre todo a *Culex spp.*, una vez localizado en *Culex*, se pueden examinar lotes de otras especies para aislar el virus (CDC, 2001).

Las trampas de captura de mosquitos son muy variables, dependiendo del objetivo que se persigue. Muchas especies pueden ser capturadas en sus lugares de descanso, y se obtienen de este modo poblaciones representativas de las distintas estructuras de edades. Generalmente este tipo de muestreo consume mucho tiempo y esfuerzo a comparación de otros métodos de captura. Existen diferentes métodos de captura: cebo humano, trampas cortina con cebo animal, la trampa Magoon, que es una variable de la trampa cortina, trampas de luz con o sin CO₂ como atrayente. Estas últimas, son usadas rutinariamente en colectas de mosquitos en varios estados de la Unión Americana. Existen variantes como la trampa New Jersey, muy utilizada a causa de su gran atractivo para los mosquitos y su durabilidad, la trampa de luz desarrollada por el CDC, más pequeña y portátil, aunque por su tamaño no atrae mosquitos con la misma abundancia que trampas más grandes.

4.8.4.4 Trampas para hembras grávidas.

Las trampas para hembras grávidas son muy importantes para realizar aislamiento viral. Teniendo en cuenta que esta porción de la población se ha alimentado al menos una vez, existen más probabilidades de aislar virus de muestras obtenidas por este método. Las ovitrampas sólo para huevecillos pueden dar un estimado indirecto de la proporción de hembras alimentadas recientemente.

La elección del tipo de trampas que se utilizarán para monitorear poblaciones entomológicas en un sistema de vigilancia depende de los objetivos del sistema a nivel regional, de los recursos económicos y humanos con los que se cuenta a nivel estatal. Sin embargo, todo programa de vigilancia deberá enfatizar las colectas entomológicas para aislamiento viral, determinación de densidades relativas y proporción de hembras múltiparas.

4.8.4.5 Colectas larvarias

Se llevarán a cabo colectas de estadios larvarios en esas mismas áreas para identificación taxonómica y para el mapeo de hábitat larvarios. Esto implica la búsqueda de larvas en diversos tipos de cuerpos de agua, que se llevará a cabo con la ayuda del personal estatal de vectores.

La identificación taxonómica quedará a cargo del InDRE, en coordinación con

el CENAPRECE y personal entrenado para la identificación taxonómica, para examinar las muestras de todos los estados.

4.8.4.6 Métodos de control larvario.

Se utilizarán los métodos de control físicos, biológicos y químicos aprobados por la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2000.

4.8.5 Vigilancia ornitológica

Un posible plan para la investigación ornitológica se puede contemplar de la siguiente manera:

4.8.5.1 Corto plazo

- Actualizar la información disponible sobre el Virus del Oeste del Nilo y su relación con las aves silvestres.
- Delimitar, desde el punto de vista ornitológico, las áreas que actualmente pudieran tener mayores posibilidades de poseer aves infectadas con el virus.
- Ofrecer cursos de capacitación y/o actualización en materia ornitológica para personal técnico y tomadores de decisiones.
- Monitoreo y captura en las zonas delimitadas como de interés o riesgo y para la obtención de ejemplares y muestras.

Actualizar la información disponible sobre el Virus del Oeste del Nilo y su relación con las aves silvestres, esto comprende:

- Revisión y análisis de la literatura disponible para generar criterios ornitológicos basados en información confiable.
- Elaboración crítica de un listado avifaunístico actualizado, con base en las especies identificadas como portadoras del virus y de aquéllas que también pudieran considerarse probables portadoras, cuidando los aspectos taxonómicos (nombres científicos y sinonimias) y nombres comunes pertinentes.
- Ubicar espacialmente la distribución de las especies de interés en México, de acuerdo a los conocimientos ornitológicos actuales.
- Delimitar, desde el punto de vista ornitológico, las áreas que actualmente pudieran tener mayores posibilidades de poseer aves infectadas con el virus.
- Participar en un plan de salidas a campo para coleccionar muestras de ejemplares que pudieran ser portadores del virus, considerando analíticamente la distribución espacial y temporal particular de cada especie. Este aspecto deberá estar en concordancia con el plan de trabajo del resto de los especialistas.
- Analizar los datos coleccionados en campo, en cuanto a las especies de aves, los sitios muestreados y las condiciones ambientales prevalentes, para generar nuevos criterios ornitológicos para las siguientes decisiones a tomar.

- Colaborar, de manera conjunta, en la elaboración de los informes y documentos pertinentes que difundan el trabajo realizado durante el primer año de trabajo.

4.8.5.2 Mediano plazo

- Monitorear sitios donde se haya detectado aves infectadas con el virus.
- Monitorear sitios donde se sospeche la posible aparición de aves infectadas con el virus.
- Analizar la problemática desde el punto de vista ornitológico y contribuir a la proposición de medidas de acción.
- Mantener actualizada la información de acuerdo al grado de avance, en correspondencia con los otros especialistas participantes.
- Ofrecer cursos de actualización para el monitoreo ornitológico asociado con el virus.
- Participar en foros especializados de acuerdo al grado de avance, en correspondencia con los otros especialistas participantes.

4.8.5.3 Largo plazo

- Continuar con los monitoreos de aves y la actualización de la información
- Ofrecer cursos de capacitación y difusión de la información, a nivel nacional e internacional

Actualización de la información específica analizando los siguientes rubros:

- El fenómeno de invasión del virus, desde el ámbito ornitológico
- La comprensión de la dinámica del virus y las aves silvestres en su lugar de **origen** desde que apareció el virus infectando aves en el continente.
- La posible propagación del virus en México por medio de las aves

4.8.5.4 Aves centinelas

Los centinelas cautivos han demostrado ser un medio eficaz para vigilar la transmisión de arbovirus de una forma estandarizada, especialmente en focos históricos de transmisión enzootica. Las bandadas de centinelas cautivos deben ser ubicadas en focos de transmisión parecidos es decir cerca de criaderos o de congregación de mosquitos adultos. En forma alternativa, pueden usarse como centinelas a las aves previamente cautivas por ejemplo: aves domésticas, palomas y colecciones en zoológicos.

4.8.5.5 Captura de aves silvestres

Se consideran dos opciones, el querer capturar individuos muertos (cacería) o contar con individuos vivos que posteriormente han de ser liberados, la finalidad del muestreo determinará cual opción es más conveniente.

La captura de las aves se puede realizar de diferentes maneras por ejemplo: con redes de niebla, armas y de otras formas.

El uso de aves vivas de vuelo libre o aves silvestres, proporcionan la oportunidad de realizar muestreo de especies hospederas y puede usarse a la vez para la detección precoz y para monitorear la actividad del virus. En cada zona geográfica, las especies óptimas de aves silvestres deben ser determinadas por encuestas de seroprevalencia.

4.8.5.5 Toma de muestra de sangre en aves

Las muestras se obtendrán de individuos vivos capturados que posteriormente han de ser liberados. Las muestras sanguíneas serán obtenidas por venopunción, como sigue:

- Usar prácticas de bioseguridad estándar (uso de bata, guantes, mascarilla y protección para los ojos).

La muestra de sangre será depositada en microtubos con solución buffer, para separar el suero, será previamente etiquetado con nombre científico y común del ave capturada, tipo de muestra y fecha de muestreo (día/mes/año)., dejando la muestra en refrigeración o en una hielera a una temperatura aproximada a 5 °C para que posteriormente se realice el estudio en laboratorio.

Las muestras de las aves se analizaran en el laboratorio para la detección de anticuerpos contra VON por ELISA de captura para IgM y por Ensayos de Neutralización por Reducción de Placas (PRNT).

4.8.6 Vigilancia veterinaria

4.8.6.1 Determinación de huéspedes vertebrados y reservorios.

Teniendo en cuenta la importancia de algunos animales domésticos como reservorios de virus de encefalitis, el objetivo principal es detectar la presencia temprana del mismo, para determinar las medidas de Prevención y control a realizar y evitar brotes.

Como otras enfermedades causadas por un virus, la enfermedad del Oeste del Nilo es una zoonosis, es decir, se perpetúa en la naturaleza gracias a hospederos invertebrados y vertebrados. Cuenta con un ciclo epizootico donde intervienen mosquitos y caballos generalmente, otro ciclo es enzootico o natural, aquí intervienen mosquitos, roedores y aves entre otras especies silvestres.

Los hospederos por lo general son mamíferos o aves susceptibles y capaces de alojar al virus a niveles suficientemente altos para infectar al vector hematofago, los hospederos más adecuados son aquellos que permanecen asintomático, pero alojan suficiente concentración de virus durante el tiempo adecuado para infectar un gran número de vectores.

El ganado equino en especial es un hospedero importante en la permanencia de esta enfermedad y su calidad como amplificador es conocida por lo que es importante la vigilancia sobre esta especie.

4.8.6.2 Diagnóstico de casos en equinos

Con el propósito de realizar una investigación adecuada sobre la detección y confirmación de casos de VON en áreas de riesgo, es necesario reunir información epidemiológica que permita establecer las medidas concretas para el control inmediato de la enfermedad y la prevención de nuevos casos.

Por lo que un diagnóstico presuntivo debe basarse en los signos clínicos, la historia clínica y la ocurrencia estacional (el aumento de casos ocurre generalmente en verano), apoyado en el conocimiento de áreas de riesgo con presencia de rutas migratorias de aves silvestres, confirmación de la circulación del virus, presencia de vectores y notificación de casos sospechosos durante el 2002.

Un diagnóstico de VON no puede ser hecho únicamente por los signos clínicos encontrados y requiere de una confirmación del laboratorio. El diagnóstico definitivo será realizado por el aislamiento del virus del Oeste del Nilo a partir de muestras de suero, encéfalo o líquido cerebro espinal o evidencia serológica de reciente infección por prueba de Elisa para detección de anticuerpos IgM con la demostración de títulos de 4 veces mayores en sueros pareados por un periodo de 6 a 10 días entre la fase aguda y convaleciente.

4.8.6.3 Definición de caso de una infección de VON en equinos

4.8.6.3.1 Caso confirmado

- Signos compatibles como ataxia (incluyendo dificultad para caminar, tropiezos, tambaleo, andar titubeante o incoordinación) o por lo menos dos de lo siguientes signos, caminar en círculos, debilidad en los miembros posteriores, incapacidad para estar de pie, parálisis múltiple en los miembros, fasciculación del músculo, dificultades propioceptivas, ceguera, caída o parálisis del labio, rechinado de dientes o muerte aguda, más uno de los siguientes diagnósticos:
- Aislamiento de VON en tejidos, preferentemente para el diagnóstico en equinos se requiere el cerebro o la médula espinal; aunque se puede incluir sangre o LCR, los únicos informes conocidos de aislamiento del virus o PCR positivo a partir de sangre caballar o de líquido cefalorraquídeo (LCR) se han realizado de animales experimentalmente infectados
- Cuadruplicación de los títulos de anticuerpos o mayor cambio en la prueba de reducción de la neutralización en placa (PRNT) para VON en tiempo. El primer suero debe extraerse lo más pronto posible después de los primeros signos clínicos y el segundo por lo menos siete días después del primero.
- Resultados positivos a ambas pruebas: detección de anticuerpos para VON por ELISA de captura para IgM en suero o LCR y un elevado título (1:10 o mayor) de anticuerpos de VON por PRNT en suero.
- Resultados positivos a ambas pruebas: detección de anticuerpos para VON por ELISA de captura para IgM en suero o LCR y a la prueba

positiva a la reacción de cadena de polimerasa (PCR) para secuencia genómica en los tejidos antes mencionados.

- Resultados positivos a ambas pruebas: detección de anticuerpos para VON por ELISA de captura para IgM en suero o LCR y a la prueba positiva a inmunohistoquímica (IHC) para el antígeno de VON en tejido.
- Resultados positivos a ambas pruebas: de IHC para el antígeno de VON en tejido y prueba positiva para PCR por secuencia genómica en tejidos.

4.8.6.3.2 Caso Probable

- Presencia de los signos antes mencionados más uno de los siguientes diagnósticos:
- Detección de anticuerpos contra VON por ELISA de captura para IgM en suero o LCR, pero sin títulos elevados a VON (menores a 1:10 o negativos) por PRNT en suero, no ser positivo a PCR por secuencia genómica en los tejidos antes mencionados o no ser positivo a la prueba de inmunohistoquímica (IHC) para el antígeno de VON en tejido. En caso de suero colectado 22 días o más después de los signos clínicos de la enfermedad y sin títulos elevados por PRNT será reclasificado como un caso negativo,
- Positivo a IHC para el antígeno de VON en tejido.
- Positivo a PCR por secuencia genómica en tejidos [2].
- Positivo a la prueba de inmunohistoquímica (IHC) para el antígeno de VON en tejido.

Un caballo clasificado como caso probable debe, si posible, ser sometido a un diagnóstico extenso que pueda confirmar o descartar VON como la causa de los signos clínicos.

La detección de anticuerpos de IgG en los monitoreos en equinos indicará una previa infección del VON en las poblaciones susceptibles.

4.8.6.4 Toma y envío de muestras en equinos

4.8.6.4.1 Colección de muestras de caballos enfermos o moribundos

Colectar una muestra de suero de la vena yugular en un tubo de 10 ml (tapa roja) o un tubo con separación del coágulo, la sangre se deja coagular de 15 a 20 minutos a temperatura ambiente; el coágulo se desprenderá de las paredes del tubo con un aplicador y se separará del suero, el cual debe verse transparente y de color ligeramente amarillo, después se pasa a otro tubo estéril. Para su envío este suero se conserva en refrigeración (5° grados centígrados) por 2 o 3 días o en congelación a menos 20 grados centígrados por más tiempo, las muestras enviadas deberán estar perfectamente identificadas con una etiqueta adherible o marcador indeleble. Se puede incluir la colección de sangre completa (en un tubo de 10 ml EDTA tapa lavanda), pero tiene menos importancia, al igual que la colección de líquido

cefalorraquídeo, aunque en caso de obtenerse debe ser enviado también a la CPA en un tubo de tapa roja etiquetado con el sitio de colección (cervical o lumbosacra).

4.8.6.4.2 Colección de muestras de equinos muertos

Se debe utilizar ropa apropiada cuando se colecten y procesen las muestras postmortem (revisar las “Recomendaciones para Realizar la Necropsia de Casos sospechosos de VON).

Si el equino sospechoso es sacrificado, antes de practicar la eutanasia se debe colectar al menos una muestra de suero en un tubo de 10 ml de tapa roja o tubo con separador de coágulos, si se desea se puede incluir una muestra de sangre completa (en un tubo lavanda de 10 ml de EDTA).

Para la colección de muestras de encéfalo de equinos muertos se sugiere seguir la técnica para la obtención del encéfalo que se encuentra en el anexo 4, utilizando una sierra. A la muestra del encéfalo se realizará un corte para separar los dos hemisferios, los cuales serán colocados en dos frascos de boca ancha con cierre hermético. El primero se colocará en un frasco con formol al 10% para estudios histopatológicos y el segundo hemisferio en otro frasco herméticamente cerrado en refrigeración que será utilizado para realizar el aislamiento viral del VON en el Laboratorio de Alta Seguridad.

Las muestras de los dos hemisferios deberán enviarse en termos aislantes separados para evitar contaminaciones en el envío.

El hemisferio para aislamiento viral deberá enviarse con suficientes refrigerantes, se recomienda no utilizar hielo debido a que puede contaminar las muestras cuando se funde y no está empacado en bolsas cerradas, para que la muestra al recibirla el laboratorio llegue en condiciones de ser trabajada; para este propósito se utilizará un transporte que entregue la muestra al laboratorio antes de 48 horas.

Las muestras deberán estar acompañadas del formato SIVE 01, 02 o VON 001 donde se indique claramente si los animales han sido vacunados y contra cuáles enfermedades, identificadas con una etiqueta y enviadas por la vía más rápida posible a la Comisión México Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y Otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA).

La mejor forma de preparar la caja termo para el envío es proteger con tiras de papel o aserrín los tubos o frascos de las muestras. La historia clínica en la forma SIVE 01, 02 o VON 001 se protege con una bolsa de plástico que se colocará con cinta adhesiva en la cara interior de la tapa de la caja térmica y una copia en un sobre adherido a la parte externa de la caja de envío, después de verificar que la caja quede perfectamente cerrada y que no pueda abrirse durante el viaje, se identifica con una etiqueta autoadherible y se envía por la vía más rápida a la CPA.

Notificación de casos y brotes

A fin de obtener información de las tendencias se requiere establecer un sistema de información que incluya:

- Informe de rutina del nivel local hacia el nivel intermedio a través de notificación diaria y semanal para lo cual se deberá estandarizar el estudio de caso y formatos de informe detallado.
- Del nivel intermedio al nivel central con misma periodicidad y en la cual se incluya: análisis de datos del nivel local o periférico, evaluación de las tendencias y toma de decisiones: identificación de grupos y áreas de riesgo, evaluación del impacto de las medidas de control, reajuste y proyección de las medidas de control, orientación en la asignación de recursos.
- Del nivel central al Comité de Expertos.

4.10 Información y participación comunitaria

El control de mosquitos vectores del virus deberá realizarse de manera integral por medio de:

a) Eliminación de larvas mediante la destrucción de criaderos de vectores por medios manuales y físicos: limpieza de algas verdes filamentosas, eliminación o protección de recipientes domésticos con participación comunitaria.

b) Aplicación de medidas antilarvarias como complemento a las actividades de participación comunitaria. Se utilizarán los métodos de control físico, biológico y químico aprobados por la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002, para la Vigilancia, Prevención y Control de las Enfermedades Transmitidas por Vector.

c) Nebulización terrestre y aérea. Se utilizaran los plaguicidas aprobados por Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002, para la Vigilancia, Prevención y Control de las Enfermedades Transmitidas por Vector.

d) Participación comunitaria: organización, capacitación y conducción de acciones comunitarias para propiciar la implementación de conductas saludables.

- Patio limpio y cuidado del agua
- Mejoramiento de la vivienda

e) Promoción y transferencia de acciones a las Autoridades Municipales en el control de mosquitos, en la Participación Comunitaria y en los Programas de Saneamiento Básico y Mejoramiento de la Vivienda.

f) En coordinación con el Programa de Dengue y Paludismo se reforzará el seguimiento y evaluación de la estrategia de Patio Limpio, Cuidado del Agua y Limpieza de Criaderos.

g) Difusión de medidas de protección y de material didáctico de apoyo dirigido a:

- Población en general
- Grupos de alto riesgo
- En el hogar
- Personal de salud

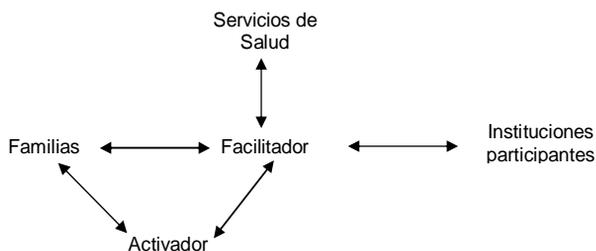
Conceptos de la Estrategia

- Patio Limpio, patio barrido, ordenado y deshierbado
- Cuidado del agua, depósitos limpios y tapados

Metodología

- Identificación de líderes comunitarios-facilitador
- Elaboración de mapa de factores de riesgo y protectores
- Talleres comunitarios
- Desarrollo de medios gráficos para la sensibilización y concientización hacia las prácticas de de Patio Limpio y Agua Limpia
- Comunicación interpersonal y masiva
- Participación social y comunitaria
- Desarrollo humano

Estructura Funcional



4.11 Difusión de la Información

Publicar información exacta través de los medios de comunicación para educar al público sobre la prevención de la enfermedad, consejos para prevenir la invasión del hogar por los vectores infectados e información sobre los medios más eficaces de protección personal. La comunidad debe motivarse adecuadamente para que colabore en los programas nacionales de vigilancia, prevención y control de enfermedades, por lo que es necesario el desarrollo de programas educativos y de divulgación extensos y comprensivos.

5. Anexos

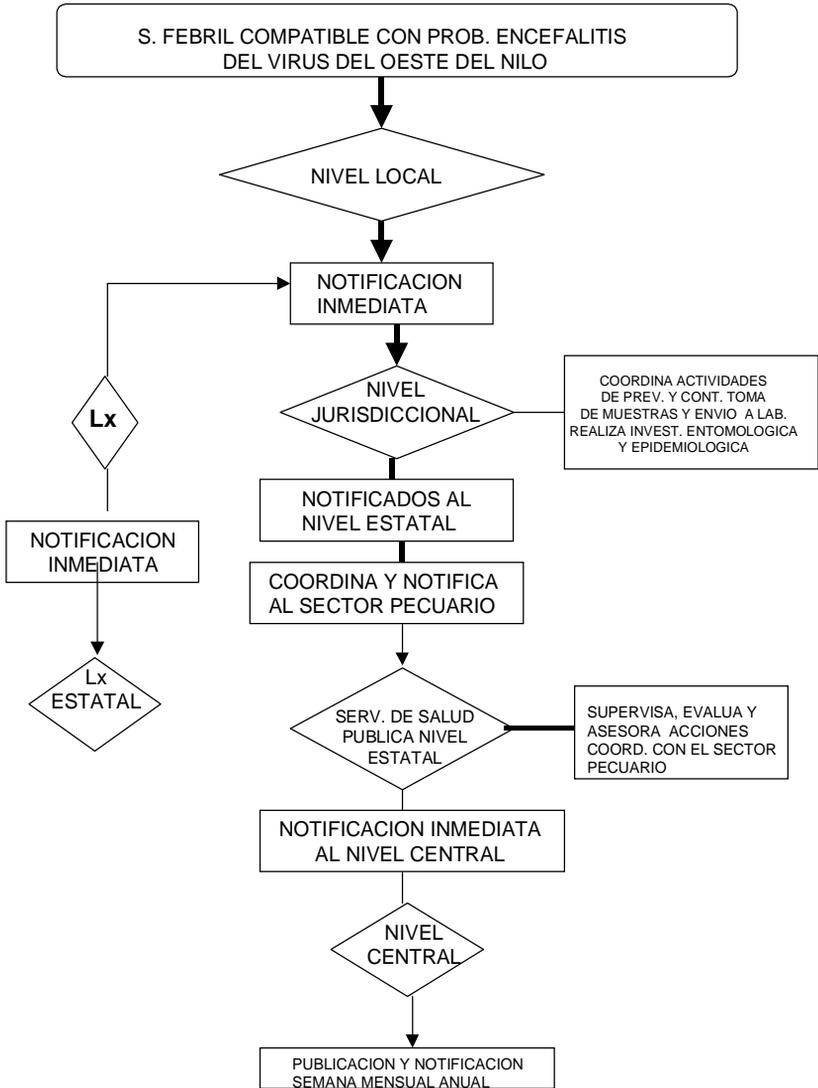
5.1 Anexo 1 Estudio Clínico Epidemiológico

SISTEMA NACIONAL DE SALUD
ESTUDIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DE CASO DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTOR

FOLIO <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>			
I. IDENTIFICACIÓN DE LA UNIDAD			
UNIDAD NOTIFICANTE: _____	CLAVE DE LA UNIDAD: _____		
LOCALIDAD: _____	MUNICIPIO: _____		
ENTIDAD O DELEGACIÓN: _____	JURISDICCIÓN: _____		
INSTITUCIÓN: _____			
FECHA DE NOTIFICACIÓN: ____/____/____ <small>DIA MES AÑO</small>	INICIO DE ESTUDIO: ____/____/____ <small>DIA MES AÑO</small>		
TERMINACIÓN DE ESTUDIO: ____/____/____ <small>DIA MES AÑO</small>			
DIAGNÓSTICO PROBABLE: _____			
DIAGNÓSTICO FINAL: _____			
II. IDENTIFICACIÓN DEL CASO .			
Nombre: _____ No. de afiliación o expediente. _____			
<small>Apellido paterno Apellido materno Nombre (s)</small>			
Sexo: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	Edad: Años <input type="text"/> <input type="text"/> Meses <input type="text"/> <input type="text"/> Días <input type="text"/> <input type="text"/>		
Lugar de residencia: Domicilio _____			
Calle y Núm. _____ Colonia o localidad _____ Teléfono (s) _____			
Localidad <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Municipio <input type="text"/> <input type="text"/> Estado <input type="text"/> <input type="text"/>		
III. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS			
PROCEDENCIA: Local <input type="checkbox"/> Importado <input type="checkbox"/>			
HA VISITADO OTROS LUGARES EN LAS ÚLTIMAS DOS SEMANAS: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> EN EL ÚLTIMO MES SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>			
LUGARES VISITADOS:			
País _____			
Localidad <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Municipio <input type="text"/> <input type="text"/> Estado <input type="text"/> <input type="text"/>		
CONTACTO CON ANIMALES: MOSCO <input type="checkbox"/> CHINCHE <input type="checkbox"/> GARRAPATA <input type="checkbox"/> OTRO _____			
EXISTEN ENFERMOS SIMILARES EN LA LOCALIDAD: _____ HA RECIBIDO TRANSFUSIONES SANGUÍNEAS: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>			
ANTECEDENTES DE MUERTES INUSUALES DE ANIMALES EQUINO <input type="checkbox"/> AVE <input type="checkbox"/> OTRO <input type="checkbox"/>			
IV. CUADRO CLÍNICO			
Fecha de inicio de signos y síntomas: ____/____/____			
Fiebre <input type="checkbox"/>	Fotofobia <input type="checkbox"/>	Alteraciones del gusto <input type="checkbox"/>	Rigidez de cuello <input type="checkbox"/>
Cefalea <input type="checkbox"/>	Dolor abdominal <input type="checkbox"/>	Adenomegalia <input type="checkbox"/>	Estupor <input type="checkbox"/>
Mialgias <input type="checkbox"/>	Diarrea <input type="checkbox"/>	Induración <input type="checkbox"/>	Desorientación <input type="checkbox"/>
Artralgias <input type="checkbox"/>	Conjuntivitis <input type="checkbox"/>	Inflamación de párpado <input type="checkbox"/>	Temblor <input type="checkbox"/>
Dolor retroocular <input type="checkbox"/>	Congestión nasal <input type="checkbox"/>	Disnea <input type="checkbox"/>	Convulsiones <input type="checkbox"/>
Exantema <input type="checkbox"/>	Tos <input type="checkbox"/>	Alteraciones cardíacas <input type="checkbox"/>	Debilidad muscular <input type="checkbox"/>
Prurito <input type="checkbox"/>	Faringitis <input type="checkbox"/>	Nódulos <input type="checkbox"/>	Parálisis <input type="checkbox"/>
Vómito <input type="checkbox"/>	Rinitis <input type="checkbox"/>	Úlceras <input type="checkbox"/>	Otitis <input type="checkbox"/>
Náuseas <input type="checkbox"/>	Hepatomegalia <input type="checkbox"/>	Lesión de membranas mucosas <input type="checkbox"/>	Otras _____
Escalofríos <input type="checkbox"/>	Esplenomegalia <input type="checkbox"/>	Ictericia <input type="checkbox"/>	
ESCAPE DE LÍQUIDOS <input type="checkbox"/>		HEMORRAGIAS <input type="checkbox"/>	
Fecha de inicio de signos y síntomas: ____/____/____		Fecha de inicio de signos y síntomas: ____/____/____	
Petequias <input type="checkbox"/>	Equimosis <input type="checkbox"/>	Hematomas <input type="checkbox"/>	Torniquete positivo <input type="checkbox"/>
Ascitis <input type="checkbox"/>	Derrame pleural <input type="checkbox"/>	Gingival <input type="checkbox"/>	Epistaxis <input type="checkbox"/>
		Hematemesis <input type="checkbox"/>	Melena <input type="checkbox"/>
		Otras _____	
FUE HOSPITALIZADO: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>		FECHAS: INGRESO ____/____/____	
		EGRESO ____/____/____	
V. EVOLUCIÓN EN EL HOSPITAL			
ESTABLE <input type="checkbox"/>	GRAVE <input type="checkbox"/>	MEJORÍA <input type="checkbox"/>	ALTA POR MEJORÍA <input type="checkbox"/>
		ALTA POR DEFUNCIÓN <input type="checkbox"/>	

Nota: Las fechas se pondrán en el siguiente orden día/mes/año

5.2 Anexo 2. Modelo de flujo de Información en la Vigilancia Epidemiológica y Control del Virus del Oeste del Nilo en México



5.3 Anexo 3. Bioseguridad

En el presente anexo se proporcionan las medidas de bioseguridad que deberán observarse para la manipulación de VON y el manejo de muestras clínicas potencialmente infecciosas.

5.3.1 Medidas de seguridad en el laboratorio.

Se recomienda que toda investigación con virus del VON se lleve a cabo en laboratorios con Nivel de Bioseguridad 3 (BSL-3). Sin embargo, debido a que la restricción del manejo de muestras humanas o animales sólo en laboratorios BSL-3, podría limitar severamente el número de laboratorios capaces de detectar infección por VON de forma oportuna, es posible utilizar laboratorios con Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2) siguiendo las recomendaciones específicas que a continuación se enlistan:

La manipulación del material clínico (suero, LCR, etc.) bajo contención BSL-2, deberá hacerse en gabinetes de bioseguridad clase 2, localizados en cuartos de laboratorio con acceso restringido.

El manejo y procesamiento inicial (homogenización) de muestras colectadas en campo (lotes de mosquitos, tejidos, etc.) para el análisis de ácido nucléico deberán llevarse a cabo en un gabinete de bioseguridad clase 2, localizado en un cuarto de laboratorio con acceso restringido, hasta que la infectividad del virus haya sido destruida (por ejem. a través de la adición de buffer de lisis). En este estado la extracción del ácido nucléico puede continuar en condiciones BSL-2.

Los procedimientos que producen aerosoles (por ejem. lavado de la placa de ELISA) deben realizarse en un gabinete de bioseguridad nivel 2 ó usando equipo que proporcione protección contra aerosoles.

Muestras de animales: todas las necropsias de aves deberán realizarse en gabinete de bioseguridad nivel 2.

5.3.2 Precauciones para la colecta de aves muertas y otros animales en el campo:

Las personas involucradas en la colecta de aves y otros animales muertos deberán seguir las siguientes recomendaciones de seguridad:

- Tomar todas las precauciones para evitar piquetes de mosquitos (por ejem. vestir camisa de manga larga, pantalones largos, calcetines, ropa de color claro y botas) y usar repelentes contra insectos (por ejemplo 20-30% DEET).
- Cuando sea posible, minimizar las actividades en el exterior en aquellos lugares y momentos en los que haya más probabilidad de encontrar mosquitos (por ejemplo al atardecer, por la noche y al amanecer).
- Cuando se manipulen aves muertas, deberá utilizarse guantes.

- Se recomienda utilizar guantes de hule y dos bolsas de plástico volteadas hacia afuera, sobre las manos, para coleccionar las aves muertas. Lavarse las manos después de manipular estos especímenes.

5.3.3 Precauciones para el manejo de muestras sospechosas en necropsias:

Cuando sea posible, las carcasas de los animales deben manipularse dentro de un gabinete de bioseguridad certificado.

- Las carcasas de mayor tamaño (por ejemplo de caballos) deberán manipularse usando medidas de protección equivalentes (por ejem. protección contra salpicaduras para los ojos; batas con frente de protección sólida; guantes de hule/, de látex, de vinil o de PVC etc.; y protección respiratoria (respiradores certificados por NIOSH N-95 a N-100], hemimascarilla o mascarilla completa).

5.3.4 Precauciones para el manejo de muestras clínicas sospechosas en humanos y animales (incluyendo muestras de aves):

Las muestras clínicas humanas o animales potencialmente infecciosas (por ejem., sangre, suero, LCR, tejidos) pueden manipularse en un laboratorio de Bioseguridad Nivel 2, usando prácticas operacionales de Bioseguridad Nivel 3 como sigue:

1. La colecta de sangre debe llevarse a cabo usando precauciones universales de bioseguridad (por ejem. uso de guantes, lavar las manos).
2. La identificación de mosquitos, donde sea posible y práctico deberá realizarse en un laboratorio con Nivel de Bioseguridad 2.
3. Deben usarse gabinetes de bioseguridad certificados para la manipulación de muestras clínicas en el laboratorio.
4. La centrifugación de muestras clínicas (por ejem. separación de sueros) debe realizarse usando tubos de centrifuga sellados o rotores que se carguen y descarguen dentro de un gabinete de bioseguridad.
5. Las alícuotas usadas para serología deben inactivarse por calentamiento a 56°C por 30 minutos.
6. Las pruebas de RT-PCR pueden realizarse en un laboratorio de Bioseguridad Nivel 2 usando prácticas operacionales de Bioseguridad Nivel 3.

5.3.5 Precauciones para el aislamiento de virus y su manipulación en el laboratorio:

El aislamiento viral y la propagación debe realizarse bajo contención Nivel 3, usando prácticas de Bioseguridad Nivel 3.

Los estudios en animales deben realizarse bajo contención animal nivel 3, con prácticas operacionales de Bioseguridad Nivel 3.

Los estudios que involucren mosquitos infectados deben realizarse bajo contención Nivel 3, usando prácticas operacionales de Bioseguridad Nivel **¿?**

6. Bibliografía

1. Center for Disease Control and Prevention. 2001. Epidemic/Epizootic West Nile Virus in the United States: Revised Guidelines for Surveillance, Prevention and Control. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, and National Center for Infectious Diseases, Division of Vector-Borne Infectious Diseases, Fort Collins, Colorado.
2. Chin, James. Organización Panamericana de la Salud. 2001. El Control de la Enfermedades Transmisibles. 17ª Edición, Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. Publicación Científica y Técnica No. 581.
3. Emerging Infectious Diseases. 2000. Vol. 6 No. 4. Jul-Aug.
4. Emerging Infectious Diseases. 2001. Vol. 7 No. 4. Jul-Aug.
5. Guidelines for Evaluating Surveillance Systems. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Center for Disease Control. Epidemiology Program Office. Division Of Surveillance and Epidemiologic Studies. Atlanta, Georgia 30333
6. Heymann DL (1997) emerging and other infectious diseases: partnerships to meet the challenge (En: Factors in the Emergence of Arbovirus diseases. Eds. Saluzzo JF y Dodet B) Elsevier, Paris, Francia pp 17-18)
7. Howell, S.N.G. y S. Webb. 1995. A guide to the birds of México and northern Central America. Oxford University Press. Oxford 851 pp.
8. Lanciotti, RS; Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele K, Crise B, Volpe KE, Crabtree MB, Scherret JH, Hall RA, MacKenzie JS, Cropp CB, Panigrahy B, Ostlund E, Schmitt B, Malkinson M, Banet C, Weissman J, Komar N, Savage HM, Stone W, McNamara T, Gubler DJ. 1999. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* 286: 2333-2337.
9. Lanciotti, RS; Kerst AJ, Nasci, RS, Godsey MS, Mitchell CJ, Savage HM, Komar N, Panella NA, Allen BC, Volpe KE Davis BS, Roehrig JT, 2000. Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a *Taq Man* reverse transcriptase-PCR assay. *J Clin Microbiol* 38: 4066-4071.
10. Nasci, RS, DJ White, H. Stirling, JA Oliver, TJ Daniels, RC Falco, S Campbell, WJ Crans, HM Savage, RS Lanciotti, ChG Moore, MS Godsey, KL Gottfried, CJ Mitchell 2001. West Niles Isolates from Mosquitoes in New York and New Jersey, 1999. *Emerging Infectious Diseases* Vol 7 No. 4.

11. National Audubon Society. 1983. Master guide to birding. National Audubon Society Vol. I, II, III. New York.
12. National Audubon Society. 1999. Field guide to north American birds: eastern region. Segunda Edición. National Audubon Society, New York 797 pp.
13. National Geographic 1999. Field guide to the birds of North America. National Geographic Society, Tercera edición. Washington, D.C. 480 pp.
14. Norma Técnica No. 313 para la Presentación de Proyectos e Informes Técnicos de Investigación en las Instituciones de Atención de la Salud. Diario Oficial de la Federación del 25 de Julio de 1988.
15. Normas y Estándares en Epidemiología: Lineamientos para la Vigilancia Epidemiológica. 1999. Boletín Epidemiológico OPS, Vol. 20 No. 2.
16. Organización Panamericana de la Salud. 2000. El virus del Oeste del Nilo en las Américas. Boletín Epidemiológico OPS Vol. 21, No. 4.
17. Peterson, R.T. 1980. A field guide to the birds: east of the Rockies. Houghton Mifflin Company. Boston, 384 pp.
18. Peterson, R.T. y E.L. Chalif. 1989. Aves de México: Guía de campo. Editorial Diana, México. 473 pp.
19. Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-1994, para la Vigilancia Epidemiológica. Diario Oficial de la Federación, 17 de Noviembre de 1999.
20. Rappole, JH, Derrickson, SR, Hubálek Z. 2000 Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 6 No. 4, Jul-August, 2000.
21. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Diario Oficial de la Federación del 6 de Enero de 1987.
22. Saluzzo JF y Dodet B (1997) Factors in the Emergence of Arbovirus diseases. Elsevier, Paris, Francia pp 286
23. Sibley, D.A. 2000. The Sibley guide to birds. National Audubon Society. New York. 545 pp.
24. Surveillance Information for Action. Pediatric Clinics of North America- Vol. 37, No. 3 June 1990.
25. Zárate-Aquino, María Luisa; A. Morilla-González y D. Batalla-Campero. 1999. Encefalitis Equina por Arbovirus. SAGAR, INIFAP, ICCA, OPS, OMS. 1999