

Nota técnica

Diagnóstico de laboratorio de Infección humana por influenza A/H5

10 Enero 2023

ANTECEDENTES

Desde principios de 2022, se han detectado múltiples brotes de influenza aviar causados por influenza A/H5 en países de la Región Andina y América del Norte. La influenza aviar (AI) es una enfermedad viral altamente contagiosa que afecta tanto a las aves domésticas como a las silvestres, siendo causada por múltiples subtipos (es decir, H5N1, H5N3, H5N8, etc.) cuyas características genéticas evolucionan rápidamente¹.

De acuerdo con la gravedad de la enfermedad en las aves de corral (pero no en los seres humanos), los virus se clasifican en dos categorías: gripe aviar de baja patogenicidad (LPAI) que generalmente causa pocos o ningún signo clínico; e influenza aviar de alta patogenicidad (HPAI) que puede causar signos clínicos graves y posibles altas tasas de mortalidad en aves¹.

Aunque diferentes especies de aves son los huéspedes naturales de los virus influenza aviar, pueden ocurrir infecciones humanas que van desde una enfermedad leve hasta la muerte². Por lo general, estas infecciones humanas de influenza zoonótica se adquieren a través del contacto directo con animales infectados o ambientes contaminados, pero la transmisión de persona a persona no es sostenida³.

Sin embargo, la circulación emergente y continua de influenza A/H5 en aves y aves de corral se convierte en un problema de salud pública, ya que los virus influenza tienen el potencial de sufrir mutaciones y recombinaciones que pueden resultar en un aumento de la transmisibilidad entre los seres humanos. Si estos virus adquieren la capacidad de propagarse fácilmente entre los seres humanos, ya sea a través de la adaptación o adquisición de ciertos genes de los virus influenza humano, podrían desencadenar una epidemia o una pandemia³.

En este sentido, la vigilancia y la detección temprana de la infección por los virus de la influenza A/H5 en humanos es crucial para identificar y coordinar la respuesta a los brotes de influenza zoonótica, así como para la posible preparación para una pandemia. La caracterización adicional, como secuenciación genómica, de los virus de la influenza A/H5 detectados en humanos es clave para caracterizar tempranamente los virus de la influenza con potencial pandémico.

Teniendo en cuenta la aparición y diseminación de brotes aviarios de influenza A/H5 a múltiples países de las Américas y el riesgo de infección zoonótica, es importante estar preparado para la investigación, y se deben establecer las pruebas de laboratorio que se utilizan para detectar la influenza A/H5 en muestras humanas y las recomendaciones del algoritmo de prueba. Información sobre la definición de caso sospechoso; toma de

¹ WHOA (antigua OIE). Avian Influenza. Disponible en: <https://www.woah.org/en/disease/avian-influenza/>

² OPS. Influenza at the Human-Animal Interface: PAHO Recommendations to Strengthen Intersectoral Work for Surveillance, Early Detection, and Investigation, 9 July 2020. Undisponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52563>

³ OMS. Influenza virus Infections in humans. Disponible en: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/influenza_virus_infections_humans_oct_18.pdf

muestras; reactivos; algoritmo de prueba y el envío; el uso efectivo de la red global de laboratorios; y el informe de casos y resultados de pruebas se pueden encontrar en esta guía provisional.

DETECCIÓN DE LABORATORIO

Recolección de muestras en humanos

Las muestras deben ser recolectadas por personal capacitado en cumplimiento de todas las normas de bioseguridad, incluido el uso de equipo de protección personal (EPP) adecuado para los virus respiratorios.

Las muestras recomendadas son del mismo tipo de muestras que se utilizan para la vigilancia de rutina de la influenza. El hisopo nasofaríngeo es el método óptimo de recolección de muestras para las pruebas de influenza. Sin embargo, se puede recolectar una muestra combinada de hisopado nasal y faríngeo o muestras de aspirado.

Se debe usar un hisopo estéril de dacrón / nylon para la recolección de muestras. No se recomiendan los hisopos con punta de algodón y con madera, ya que interfieren en el procesamiento de la muestra e inhiben las reacciones de diagnóstico molecular.

Los hisopos deben colocarse en un tubo de transporte viral que contenga 3 ml de medio de transporte viral estéril y transportarse en el mismo tubo con medio de transporte viral (MTV).

Se recomienda la recolección de muestras dentro de los 4 días posteriores a la aparición de los síntomas para obtener el mayor rendimiento del virus de la influenza y una mejor detección. No se recomienda el muestreo de contactos asintomáticos, a menos que se considere necesario de acuerdo con las directrices nacionales.

Las muestras deben mantenerse refrigeradas (4-8 °C) y enviarse al laboratorio (central, nacional o laboratorio de referencia) donde deben procesarse dentro de las primeras 24-72 horas posteriores a la recolección.

Si no se pueden enviar muestras dentro de este período, se recomienda congelar a -70 °C (o menos) hasta que se envíen las muestras (asegurando que se mantenga la cadena de frío).

Flujo de muestras y algoritmo de pruebas de laboratorio

En las Américas, todos los centros nacionales de influenza (NIC) y laboratorios nacionales de referencia (LNR) para la influenza humana, como parte del el Sistema Global de Vigilancia y Respuesta de Influenza (GISRS) de la OMS, utilizan protocolos y reactivos de diagnóstico molecular desarrollados y validados por el Centro Colaborador de la OMS en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC).

Ante la identificación de casos sospechosos de infección humana causada por influenza aviar A/H5, se debe tomar una muestra respiratoria y remitir al NIC o al LNR para su análisis (Figura 1)⁴.

Las muestras recogidas de casos humanos sospechosos expuestos a aves o contacto con casos humanos infectados con influenza A/H5 deben analizarse para influenza. Las muestras positivas para influenza A deben subtipificarse posteriormente para H5 (Figura 2)⁴.

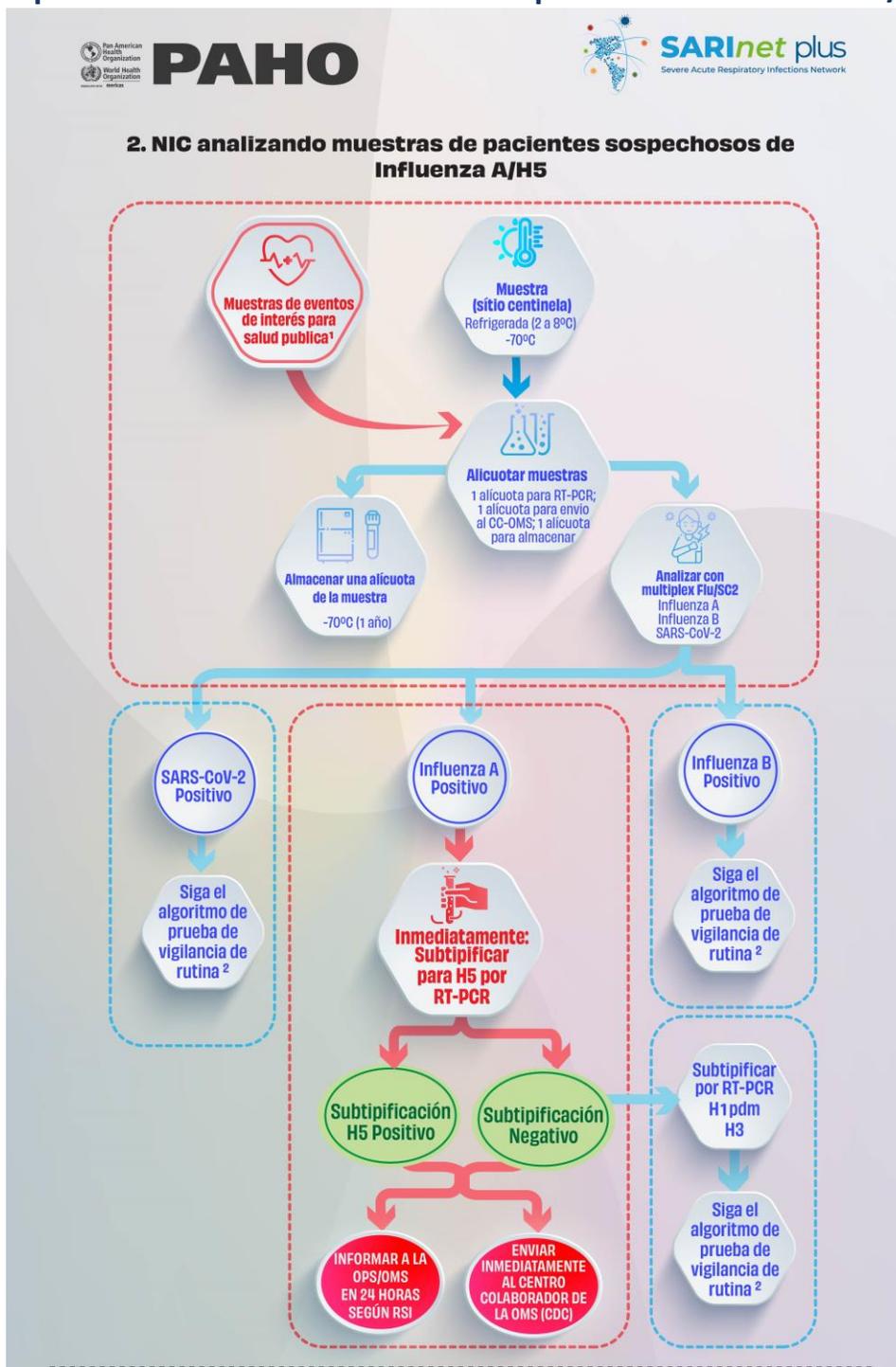
Figura 1

Flujo de muestras para muestras de casos sospechosos de Influenza A/H5 en sitios centinela y laboratorios descentralizados.



⁴OPS. Muestras de pacientes sospechosos de Influenza A/H5 ALGORITMO DE PRUEBAS DE LABORATORIO: <https://www.paho.org/es/documentos/muestras-pacientes-sospechosos-influenza-ah5-algoritmo-pruebas-laboratorio>

Figura 2
NIC procesando muestras de casos sospechosos de Influenza A/H5



¹ Muestras recogidas fuera de la vigilancia rutinaria de eventos de interés para la salud pública. Reglamento Sanitario Internacional de 2005. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241580496>

² Vigilancia integrada de la gripe y el SARS-CoV-2 Algoritmo de pruebas de laboratorio. Disponible en: <https://www.paho.org/en/documents/influenza-and-sars-cov-2-integrated-surveillance-laboratory-testing-algorithm>

Reactivos de laboratorio

Los kits de los CDC de los Estados Unidos para la detección en tiempo real de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (qRT-PCR) de los virus de la influenza están disponibles a través del International Reagent Resource (IRR).

Para la detección de influenza y la subtipificación de influenza A/H5, están disponibles los siguientes kits y controles para la detección molecular:

- Influenza SARS-CoV-2 Multiplex Assay (RUO) (500 reactions) (Catalog No. FluSC2PPB-RUO), dried primers and probes
- Influenza SARS-CoV-2 Multiplex Assay Positive Controls Kit (RUO) (500 reactions) (Catalog No. FluSC2PC-RUO)
- CDC Real-Time RT-PCR Influenza Virus A/H5 (Asian Lineage) Subtyping Panel (VER 4) (RUO) (Catalog No. FluRUO-13)
- CDC Influenza A/H5N1 (Asian Lineage) Real-Time RT-PCR Positive Control with Human Cell Material (RUO) (Catalog No. VA2715)

Interpretación de resultados

Los marcadores (blancos) de los kits de los CDC para la detección del subtipo de influenza A/H5 son: INFA (M), H5a (HA), H5b (HA), RP.

Cuando use el kit de subtipificación de influenza A/H5 de los CDC:

- Las muestras positivas para los marcadores INFA, H5a y H5b se consideran **positivas para influenza A/H5**.
- Las muestras positivas para un solo marcador H5 se consideran **presuntivas para influenza A/H5**.

En ambos casos, las muestras deben remitirse a un Centro Colaborador de la OMS para su posterior caracterización o confirmación (en el caso de resultados presuntivos). Sin embargo, una muestra positiva para influenza A/H5 (ambos marcadores positivos) debe ser notificada inmediatamente.

Actualmente, la OPS está trabajando para apoyar a los Estados Miembros en la preparación y respuesta a la influenza A/H5. Para obtener asistencia adicional, póngase en contacto con flu@paho.org.

Envío de muestras

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos son el Centro Colaborador de la OMS en la Región de las Américas para recibir muestras humanas positivas para la influenza A/H5.

Todos los envíos de muestras humanas al Centro Colaborador de la OMS en US-CDC, fuera del país y por vía aérea deben garantizar el cumplimiento de todas las normas internacionales (Asociación Internacional de Transporte Aéreo - IATA), siendo necesarios documentos especiales para el transporte a los Estados Unidos diferentes de los documentos para envío rutinario de muestras de influenza estacional.

Es importante tener en cuenta que las muestras **no** deben enviarse muestras humanas de influenza A/H5 como muestras de influenza de rutina a los CDC.

Las muestras de animales deben enviarse al Centro Colaborador de la OMS en St. Jude Children's Hospital. Los documentos especiales son necesarios para el transporte a los documentos estadounidenses y deben garantizar el cumplimiento de todas las normas internacionales.

Para obtener información logística y de envío de muestras de influenza humana o aviar A/H5, se debe contactar a la OPS en flu@paho.org.

Secuenciación genómica

El envío de muestra positiva para influenza A/H5, animal o humana, al Centro Colaborador de la OMS correspondiente debe ser priorizado para caracterización antigénica y genómica.

Para los laboratorios que tienen capacidad de secuenciación, adicionalmente al envío de la muestra positiva al Centro Colaborador, se alienta a secuenciar la muestra para generar datos de secuenciación genómica y a cargar las secuencias oportunamente en la plataforma global GISAID.

La publicación de secuencias en GISAID requiere el uso de la nomenclatura recomendada por la OMS⁵ :

- El formato para humanos es:
[tipo de influenza]/[región]/[número de referencia interno]/[año de recolección]
Ej.: A/Wisconsin/2145/2001
- Para todos los demás hospederos animales:
[tipo de influenza]/[huésped]/[región]/[número de referencia interno]/[año de recolección].
Ej.: A/chicken/Rostov/864/2007

⁵ OPS. Nota técnica: Nomenclatura del virus de influenza. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/nota-tecnica-nomenclatura-virus-influenza>

ORIENTACIONES PARA LAS AUTORIDADES NACIONALES

La OPS/OMS reitera a los Estados Miembros la necesidad de mantener la vigilancia del virus de la influenza y el envío inmediato de muestras de influenza humana A/H5 al Centro Colaborador de la OMS en los CDC-Estados Unidos.

Dado que la información sobre la circulación de la influenza aviar A/H5 es importante para la composición de la vacuna contra la influenza zoonótica humana y para generar datos para la preparación y la respuesta, se alienta a los países a compartir muestras de influenza animal con el Centro Colaborador de la OMS en el St. Jude Children's Hospital. El Centro Colaborador de la OMS de St. Jude se centra exclusivamente en la amenaza para los seres humanos de los virus de influenza de origen animal.

Notificación de casos en seres humanos

1. Un **caso positivo confirmado** de infección por influenza A/H5 humano debe notificarse **inmediatamente** a través de dos canales: el Punto de Contacto Regional del Reglamento Sanitario Internacional (RSI) de la OMS (a través del Centro Nacional de Enlace para el RSI: ihr@paho.org) y el GISRS administrado por la OPS y la OMS (a través de flu@paho.org). El informe debe incluir todos los resultados disponibles de investigación epidemiológica del caso y características virológicas del virus.
2. Un caso sospechoso de infección por influenza A/H5 humano debe **notificarse inmediatamente** al GISRS y la información sobre el caso sospechoso debe compartirse con el Centro Nacional de Enlace para el RSI, dado que se trata de un evento inusual. El informe debe incluir todos los resultados disponibles de la investigación epidemiológica del caso y las características virológicas del virus.