



ENF. POR VIRUS ZIKA. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO. Doc actualizado 09/12/2019

Fuente: "PROTOCOLO DE VIGILANCIA DE ENF. POR VIRUS ZIKA".

(Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, protocolos aprobados en el año 2014; Revisión de 26/07/2019). Servicio de Epidemiología.

El diagnóstico de laboratorio se hará, bien en las Comunidades Autónomas en caso de que dispongan de las técnicas diagnósticas apropiadas o bien mediante el envío de las muestras del paciente al laboratorio de referencia del Centro Nacional de Microbiología (CNM). Es importante que el resultado del laboratorio esté correctamente confirmado para evitar falsos positivos.

El diagnóstico de confirmación de un caso autóctono debe hacerse en el CNM. También se enviarán aquellos casos que requieran la confirmación del diagnóstico y la caracterización del virus detectado.

Las Comunidades Autónomas que obtengan un diagnóstico serológico de caso probable y no dispongan de técnica de neutralización, enviarán las muestras de mujeres embarazadas o personas con clínica neurológica asociada al Centro Nacional de Microbiología para su estudio. En caso de presencia de anticuerpos IgG positivos con anticuerpos IgM negativos únicamente en embarazadas se recomienda la realización de detección de anticuerpos neutralizantes. Además, para facilitar el diagnóstico de Zika en embarazadas, se enviará al CNM el resultado serológico obtenido para dengue y el antecedente de vacunación frente a flavivirus (Fiebre amarilla, Encefalitis transmitida por garrapatas y/o Encefalitis Japonesa). **No será necesaria la confirmación por neutralización en el resto de los casos a no ser que se considere de interés por razones de salud pública.**

La elección de una técnica diagnóstica u otra está en función del momento en que se toma la primera muestra y el tiempo que ha pasado desde el inicio de síntomas. El aislamiento del virus se pueden realizar desde el inicio de síntomas y hasta el quinto día posterior, mientras que la PCR puede ser positiva hasta 7 días después, posiblemente algo más en mujeres embarazadas. La PCR en orina puede ser positiva desde el día de inicio de los síntomas hasta 20 días después.

Al final de la fase aguda de la infección la serología constituye el método de elección. Para este método se necesitarían dos muestras de suero pareadas tomadas con una separación de 15 días. La IgM específica aumenta y es detectable a partir del cuarto o quinto día del comienzo de síntomas. En los casos de embarazadas positivas por PCR, se recomienda que se realicen pruebas seriadas de PCR cada 15 días hasta su negativización.

El diagnóstico de infección por virus Zika, al igual que por cualquier otro virus emergente requiere que la **metodología** que se utilice esté **validada** y se haya probado su sensibilidad para minimizar la posibilidad de emisión de resultados falsos positivos o falsos negativos. Es de crucial importancia para interpretar los resultados conocer datos fiables sobre tiempo de aparición de síntomas de la enfermedad, toma de muestra y antecedentes de vacunación frente a otros flavivirus.

Aislamiento

Las técnicas de aislamiento para VZIK son las mismas que para cualquier otro virus. Sin embargo, la cepa circulante en América es de difícil aislamiento por lo que el rendimiento diagnóstico del aislamiento es escaso.

Diagnóstico molecular

La detección directa por PCR (con resultados confirmados) es el método más fácil y rápido para el diagnóstico etiológico de VZIK. Pero para ello es necesario que la muestra se tome en el momento apropiado y se conserve y manipule de forma correcta. Se requiere la utilización de una técnica de cribado con una alta sensibilidad y con presencia de control interno de amplificación para evitar la emisión de resultados falsos negativos.

Un resultado positivo requiere **confirmación** en el laboratorio antes de emitirse como un resultado final de positivo confirmado.

- La mejor elección para la confirmación es la utilización de una técnica de PCR diseñada en una región genómica diferente a la de cribado. La sensibilidad de las diferentes técnicas utilizadas debe ser similar para lo que cada laboratorio debería hacer las determinaciones y ensayos pertinentes.
- Si no se dispone de una técnica complementaria puede decirse que un paciente es positivo si se obtienen resultados positivos en dos muestras del mismo paciente (ej. sangre tomada en dos momentos diferentes o sangre



Govern de les Illes Balears

Conselleria de Salut

Direcció General de Salut Pública i Participació

y orina recogidas el mismo día) o bien mediante la repetición de la técnica tras una nueva extracción del RNA de una nueva alícuota de la misma muestra.

- En el caso de que se vaya a enviar la muestra para confirmar al CNM, debe mandarse una alícuota que se haya mantenido congelada sin sufrir procesos de congelación/descongelación o una alícuota de la muestra original (sin haber sido congelada/descongelada) en un buffer adecuado que permita la conservación de la muestra a temperatura ambiente (tal como el buffer AVL de Qiagen).

El CNM ha realizado diferentes pruebas comparando la sensibilidad de algunas técnicas para la detección molecular de Zika y posee protocolos y materiales que están a disposición de centros del SNS previa petición y firma de los acuerdos pertinentes. Las muestras deben ser tomadas en el momento **agudo** de la enfermedad.

- Saliva y suero hasta 7 días tras la aparición de los síntomas. En el caso de las embarazadas se estudiarán sueros de mayor evolución.
- Procede estudiar orina si se ha tomado en los primeros 20 días.

Diagnóstico serológico

Si se realizan técnicas serológicas, hay que tener en cuenta la sensibilidad y la especificidad de la técnica. En la actualidad hay muy pocos métodos comerciales y la sensibilidad/especificidad no está bien valorada. El CNM tiene algunos datos a disposición de centros del SNS si se solicitan.

A la hora de descartar infección por Zika en un paciente hay que atender al tiempo de evolución de la muestra.

La **no detección de IgM** en una muestra obtenida al inicio del proceso clínico no es criterio para descartar la infección por el virus. Como ejemplo, una muestra de un paciente con menos de 4 días de evolución no debe ser estudiada por serología. En casi en todos los casos la IgM es detectable a partir del 5º.

En **presencia de IgM** los anticuerpos neutralizantes muestran alto grado de especificidad por lo que se asume que el resultado de la neutralización frente a Zika es suficiente y no se requiere la neutralización cruzada frente a los virus dengue 1-4. Sin embargo, las medidas de Salud Pública y para el paciente son las mismas tanto si se considera caso probable como confirmado.

Los **anticuerpos de isotipo IgG** presentan un alto grado de reactividad cruzada para flavivirus como Zika y Dengue siendo en ocasiones imposible distinguir, ni siquiera mediante técnicas de neutralización del crecimiento viral, frente a cuál de los virus están dirigidos dichos anticuerpos, por lo que realizar ensayos de neutralización cuando el único marcador positivo frente a Zika es IgG, teniendo también resultados positivos frente a dengue y/o se ha vacunado frente a algún flavivirus, no tiene rentabilidad diagnóstica.

Si el único marcador positivo frente a Zika es IgG y el paciente no se ha vacunado frente a flavivirus y tiene marcadores frente a dengue negativos utilizando técnicas sensibles bien validadas, podría ser pertinente la neutralización. Un caso especial lo constituyen las embarazadas donde un resultado negativo por neutralización en una paciente donde la IgG es el único marcador positivo, permitiría descartar la infección por Zika. En el caso de embarazadas, por tanto, se confirmarán por neutralización tanto los resultados IgM como IgG positivos.

La respuesta en cuanto a la atención del paciente y a las medidas de Salud Pública serán las mismas tanto si se considera caso probable como caso confirmado.

Un resultado positivo por **neutralización** debe inhibir más del 90% del crecimiento del virus infectando con 100 TCID50 en una dilución mayor de 1/512.

Tipo de Muestras

Las muestras de elección son suero para la realización de serología y suero y orina para PCR. En casos con presencia de síntomas neurológicos, enviar LCR y suero u orina. En casos de infección en neonatos o cuando la obtención del suero sea muy complicada, se puede valorar la utilización de saliva (ver el protocolo específico de infección congénita por virus Zika). En caso de gestantes, se deberá valorar el estudio de otras muestras, como líquido amniótico.



Transporte, envío y recepción de muestras

Envío de la muestra refrigerada (2-8°C) lo más rápidamente posible (<24 horas), o congelada (evitar congelación/descongelación), si se prevé una demora mayor a 24 horas. Se utilizarán los cauces habituales para el envío. La orina debe de enviarse en tubos que cumplan los requisitos de bioseguridad con tapón que cierre bien como los que se utilizan para otras muestras.

Los servicios de vigilancia de la Comunidad Autónoma establecerán y acordarán con los servicios asistenciales en sus territorios los criterios para el envío de muestras para diagnóstico o confirmación al CNM. Por su parte el CNM facilitará a las CCAA los procedimientos que deben de seguir para acceder a los servicios de diagnóstico a través de su aplicación informática GIPI. La petición de pruebas diagnósticas se realizará a través del **Programa de Vigilancia de Enfermedades Víricas Transmitidas por Vectores**, sin costo para el hospital/centro que envía la muestra.

La dirección y teléfonos de contacto son:

Área de Orientación Diagnóstica
Centro Nacional de Microbiología
Instituto de Salud Carlos III
Carretera Majadahonda-Pozuelo, km 2
28220 Majadahonda-Madrid-ESPAÑA
Tfo: 91 822 37 01 - 91 822 37 23 - 91 822 36 94
CNM-Área de Orientación Diagnóstica cnm-od@isciii.es