TRAMPEO Y MUESTREO DE PEQUEÑOS MAMÍFEROS PARA ESTUDIOS VIROLÓGICOS

Departamento de Salud y Servicios Humanos
Servicio de Salud Publica

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD
Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
Director: Dr. David Satcher

Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas (NCID)
Director: Dr. James Hughes

Ciencias de Laboratorio (NCID)
Director Asociado: Dr. Joseph McDade

División de Enfermedades por virus y Rickettsias (DVRD), NCID
Director: Dr. Brian Mahy.

Sección de Patógenos Especiales, DVRD, NCID
Jefe: Dr. C.J. Peters

Sección de Zoonosis por virus y Rickettsias, DVRD,NCID
Jefe: Dr. James Olson.

Oficina de Programa de Práctica de Salud Pública (PHPPO)
Director: Dr. Edward Baker

División de Sistemas de Laboratorio, PHPPO
Director: Dra. Carlyn Collins

Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui"
Directora: Dra. Delia Enría

Representación de la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud en Chile
Representante: Dr. Raúl José Penna Melo

La versión original de este Manual fue publicada, en inglés, por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América. La coordinación de la producción del Manual en español estuvo a cargo de la Representación de la OPS/OMS en Chile. El texto fue traducido al español en el Instituto Nacional de Enfermedades

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a Barbara Ellis y John O'Connor por su meticulosa revisión y sugerencias, que perfeccionaron este manuscrito. Jim Gathany se encargó de las fotografías y Karoyle Colbert hizo los mapas de distribución de especies. Agradecemos también a Diane Small por el diseño de la portada y la edición y a Stacy Howard por coordinar el proceso de publicación del manual.Nuestro agradecimiento también a Marcelo Biglierei, Tito Gallardo y José Paura que se encargaron de realizar los mapas de la Argentina y de compaginar la traducción del manuscrito.

MÉTODOS PARA TRAMPEO Y MUESTREO DE PEQUEÑOS MAMÍFEROS PARA ESTUDIOS VIROLÓGICOS

Este manual fue preparado por las siguientes personas:

Dr. James N. Mills
Dr. James E. Childs
Dr. Thomas G. Ksiazek
Dr. C.J. Peters

División de Enfermedades Virales y por Rickettsias
Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas

Sr. Wallis M. Velleca.
División de Sistemas de Laboratorio

Esta versión en español es una copublicación de las siguientes instituciones:

Departamento de Salud y Servicios Humanos
de los Estados Unidos de América
Servicio de Salud Pública
Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades

Insituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas
"Dr. Julio Maiztegui" de la República Argentina

Organización Panamericana de la Salud
Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la
Organización Mundial de la Salud

Febrero de 1998

Este manual fue traducido al español por:

Gladys E. Calderón
Instituto nacional de Enfermedades Virales Humanas
“Dr. Julio I. Maiztegui”
Pergamino, Provincia de Buenos Aires
República Argentina

Prefacio de la Organización Panamericana de la Salud

A partir de 1993, año en que se desencadenó un brote de infección por virus hanta en el suroeste de los Estados Unidos de América, se han notificado infecciones humanas por ese agente en Argentina, Canadá, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay. Además, desde que se dispone de métodos específicos, se ha hecho el diagnóstico retrospectivo de la infección por este agente en varios países.

En la 40ª Reunión del Consejo Directivo se aprobó una Resolución con respecto al virus hanta mediante la cual se "exhorta a los estados miembros a que intensifiquen las medidas de vigilancia para la detección del síndrome pulmonar producido por los hantavirus; fortalezcan la capacidad para establecer acuerdos y mecanismos de colaboración entre los países para desarrollar la red de laboratorios destinados al diagnóstico de esta patología; promuevan la investigación interdisciplinaria e intersectorial sobre la ecología de la infección con el objeto de definir medidas de prevención adecuadas a las realidades epidemiológicas, y que estimulen, por medio de la información, la educación y comunicación a todos los niveles de la comunidad, la adopción de buenas prácticas de saneamiento ambiental".

Esperamos que este documento sirva a los Países Miembros para cumplir con la Resolución mencionada anteriormente y que contribuya a la investigación y a la vigilancia de las enfermedades infecciosas transmitidas por

La versión original de este Manual fue publicada en inglés por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América. La publicación fue traducida al español en el Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui", en colaboración con el Programa de Enfermedades Transmisibles de la Organización Panamericana de la Salud.

Stephen Corber
Director, División de
Prevención y Control de Enfermedades

PREFACIO

Las enfermedades infecciosas siguen siendo la causa principal de defunción entre los humanos en todo el mundo, a pesar de los grandes avances médicos logrados durante la segunda mitad de este siglo. Muchas enfermedades infecciosas han sido reconocidas como amenazas para la salud humana; otras, las “emergentes”, se han identificado solo recientemente. Un número significativo de estas enfermedades se clasifica como zoonosis, debido a que los animales constituyen su reservorio natural.

La incursión continua del ser humano en los ecosistemas naturales, y los cambios que ésta produce en dichos sistemas, probablemente llevarán a encuentros más frecuentes con
conocidos como de agentes infecciosos aún no identificados. La vigilancia continua e intensa es uno de los instrumentos más útiles para reconocer y reducir al mínimo el impacto de los brotes de enfermedades infecciosas. Con respecto a las infecciones zoonóticas, la vigilancia puede llevarse a cabo por medio del seguimiento de las poblaciones que les sirven de reservorio. Los datos que se obtengan sobre la prevalencia de infección y las características de las especies que sirven de reservorio pueden utilizarse para evaluar el riesgo de enfermedad y disminuir o prevenir los brotes de enfermedades que afectan al ser humano.

El brote de síndrome pulmonar por hantavirus (SPH) que surgió en 1993 en el sudoeste de los Estados Unidos de América es un ejemplo del tipo de encuentro entre el ser humano y un agente no identificado anteriormente. Ese episodio tuvo una tasa de letalidad de 70% entre una población de adultos predominantemente jóvenes y sanos. Se determinó que el agente etiológico había sido el virus Sin Nombre, cuyo reservorio es *Peromyscus maniculatus* o ratón campestre, que a su vez es uno de los roedores más corrientes y difundidos en América del Norte. Es necesario realizar estudios epidemiológicos y ecológicos de las poblaciones de roedores para determinar la amenaza a la salud pública y para ayudar a establecer pautas para la reducción de riesgos. También son ejemplo de virus transmitidos por roedores los miembros de la familia ***Arenaviridae***, los cuales causan fiebres hemorrágicas y otras enfermedades en humanos en todo el mundo.

El propósito de este manual es brindar una guía para aquellas personas involucradas en estudios ecológicos y epidemiológicos con poblaciones de roedores potencialmente infectados con hantavirus. Los procedimientos detallados en estas normas son también apropiados para estudiar otras poblaciones de pequeños mamíferos que puedan contener un agente infeccioso capaz de causar enfermedad o muerte. Este manual cubre los siguientes puntos en detalle: selección de sitios apropiados de recolección; métodos de trampeo para obtener una muestra representativa de la población de roedores; manejo, funcionamiento y colocación de trampas para pequeños mamíferos, técnicas seguras para trampeo y manejo de roedores; selección apropiada de fluidos y tejidos y métodos detallados para la obtención de las mismas; conservación, embalaje y envío apropiado de los especímenes al laboratorio; limpieza y descontaminación eficaz de trampas y otros materiales; descarte de desechos infecciosos; recolección y registro cuidadoso de todos los datos pertinentes. Para una mejor comprensión de estas técnicas, este manual incluye fotografías en blanco y negro. En los anexos se proveen modelos de formularios que pueden ser adaptados a programas específicos.

Es nuestro deseo que la información contenida en este manual brinde asistencia a aquellos investigadores involucrados en la captura y manejo de pequeños mamíferos y facilite los esfuerzos de vigilancia necesarios para controlar y prevenir la diseminación de enfermedades infecciosas.

CONTENIDO

CONTENIDO

INTRODUCCION 1

SEGURIDAD 7
- Desinfectantes 7
- Ropa protectora y equipo 8
- Seguridad respiratoria 9
- Captura y transporte de los roedores 9
- Selección del sitio de procesamiento 9
- Productos químicos peligrosos 10
- Anestesia 10
- Obtención de muestras de sangre 11
- Autopsia 11
- Limpieza 12
- Embalaje y envío de especímenes 12
- Otros agentes infecciosos 12

PROTOCOLO PARA TRAMPEO Y PROCESAMIENTO 15
- COLOCACIÓN Y CONTROL DE TRAMPAS 15
- EQUIPO Y MATERIALES 15
- PROCEDIMIENTO 15
- Preparación para la expedición de trampeo 15
- Colocación de trampas 16
- Recolección de los roedores capturados 17
- PROCESAMIENTO DE ROEDORES CAPTURADOS 19
- EQUIPO Y SUMINISTROS 19
- PROCEDIMIENTO 20
- Selección del sitio de procesamiento 20
- Obtención de sangre de los roedores capturados 20
- Obtención de datos reproductivos y medidas estándar de roedores 26
- La autopsia de los roedores capturados 26
- Descontaminación de las trampas 29
- Limpieza 29
- Envío de muestras para pruebas de hantavirus 30
- Preparación de especímenes y archivo 32

BIBLIOGRAFIA 33

ENFERMEDAD POR VIRUS HANTA EN LA REPUBLICA ARGENTINA 37

ENFERMEDAD POR VIRUS HANTA EN CHILE 41

ANEXOS 45
- Lista de verificación de materiales 47

Documentación para el transporte de materiales peligrosos 49
Formulario de recuento de trampas 51
Hoja de datos de evaluación del hábitat 53
Lista de verificación para preparación del procesamiento 55
Planilla de datos de autopsia 57
Planilla de datos de autopsia. Explicación de términos 59
Provedores de equipo especial para captura y procesamiento de roedores 61
Instrucción de embalaje 650 65

INTRODUCCIÓN

En la primavera y verano de 1993, un gran número de casos humanos de síndrome de insuficiencia pulmonar en el sudoeste de los Estados Unidos de América llamó la atención de las autoridades de salud pública (Childs et al. 1994, Duchin et al. 1994, Fourcar et al. 1994, Nichol et al. 1993). La evolución rápida de la enfermedad, el hecho de que afectara a adultos jóvenes previamente sanos y la alta tasa de letalidad (inicialmente cerca de 70%) fueron alarmantes. Los esfuerzos realizados por un gran número de organizaciones, incluso departamentos de salud locales y estatales, universidades, el Servicio de Salud de las Poblaciones Indígenas, la División de Salud del Pueblo Navajo y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), condujeron a una rápida identificación del agente infeccioso y de su mecanismo de transmisión. El microorganismo causante de la enfermedad fue identificado como un hantavirus que infecta a los roedores de la zona. El virus fue aislado en cultivo de tejido y se denominó virus Sin Nombre (SNV). La enfermedad humana asociada ha sido denominada síndrome pulmonar por hantavirus (SPH) (Elliot et al. 1994). El reservorio principal en el sudoeste norteamericano es el ratón de la especie *Peromyscus maniculatus*.

La enfermedad humana por hantavirus no es nueva. Un hantavirus transmitido por *Apodemus agrarius* (ratón campestre rayado) causó alrededor de 3000 casos de fiebre hemorrágica coreana entre las tropas de las Naciones Unidas durante la guerra de Corea. El agente etiológico de esa enfermedad fue aislado en 1976 y se denominó virus Hantaan, por el río del mismo nombre que atraviesa la zona endémica de la enfermedad (Lee et al. 1978). A partir del primer aislamiento, se han descrito al menos otros tres hantavirus en otras especies de roedores en Asia y Europa (cuadro 1). Las enfermedades causadas por estos virus están agrupadas bajo el nombre de fiebres hemorrágicas con síndrome renal (FHSR), y sus manifestaciones varían desde una insuficiencia renal leve hasta un paro renal completo acompañado de síndrome de filtración capilar y manifestaciones hemorrágicas. En los Estados Unidos, sólo recientemente se empezó a sospechar la presencia de enfermedad por hantavirus. El virus Seúl, que causa FHSR en Corea y China, posiblemente se introdujo en ciudades portuarias de los Estados Unidos por medio de su huésped principal, la rata Noruega (*Rattus norvegicus*). El virus se encuentra ahora en poblaciones de ratas en la mayoría de las grandes ciudades de todo el mundo (LeDuc et al. 1986), y hay pruebas de que en los Estados Unidos puede causar enfermedad aguda y predisponer a los individuos a enfermedad renal crónica (Glass et al. 1993, 1994). El virus Prospect Hill (PHV), aislado en los inicios de *Microtus pennsylvanicus*), representa el primer hantavirus autóctono de América del Norte (Lee et al. 1985). Se ha encontrado PHV en 25% de los ratones de pradera sometidos a pruebas serológicas (Childs et al. 1988, Yanagihara et al. 1987). A pesar de que se han detectado anticuerpos para PHV en el suero de mamálogos profesionales (Yanagihara et al. 1984), no se conocen casos de enfermedad humana.

Sin embargo, estos resultados deberán ser reconsiderados en vista de los recientes descubrimientos de otras cepas de hantavirus en los Estados Unidos y de la marcada reacción cruzada de estas cepas por prueba de inmunofluorescencia y enzimoinmunoensayo.

> Se cree que el virus Sin Nombre no es una cepa de evolución reciente y que la enfermedad de roedores y humanos no es nueva. Se ha encontrado considerable variación genética entre cepas de SNV que infectan poblaciones de *P. maniculatus* y que se encuentran distantes geográficamente, lo cual indica que el virus ha sido endémico por muchos años entre poblaciones de roedores y ha sufrido cambios genéticos importantes. (Nichol et al. 1993, Spiropoulou et al. 1994). Se han encontrado pruebas de infección por SNV en sueros de poblaciones de *P. maniculatus* obtenidos en los inicios de la década de 1980. Los casos humanos de SPH han sido identificados retrospectivamente por immunohistoquímica o a partir de bloques de tejidos conservados, obtenidos incluso en 1978 (Goodman et al. 1994); un caso fue inferido a partir de la historia de la enfermedad y por serología de 1959.

Cuadro 1. Roedores como huéspedes primarios, su distribución y asociación con enfermedad humana de los hantavirus más importantes identificados.

Virus	Distribución	Huésped primario	Enfermedad humana
Hantaan	Asia, Rusia	*Apodemus agrarius*	FHSR grave
Seúl	En todo el mundo	*Rattus norvergicus*	FHSR leve o moderada
Dobrava/ Belgrado	Balcanes	*Apodemus flavicollis*	FHSR grave
Puumala	Escandinavia Europa, Rusia, Balcanes	*Clethrionomys glareolus*	FHSR leve
Prospect Hill	América del Norte	*Microtus pennsylvanicus*	Se desconoce
Sin Nombre	América del Norte	*Peromyscus maniculatus*	SPH
Black Creek Canal	Sudeste de Estados Unidos	*Sigmodon hispidus*	SPH
New York-1	Este de los Estados Unidos	*Peromyscus leucopus*	SPH
El Moro Canyon	Oeste de los Estados Unidos	*Reithrodontomys magalotis*	Se desconoce
Bayou	Sudeste de los Estados Unidos	*Oryzomys palustris*	SPH
Bloodland Lake	América del Norte	*Microtus ochrogaster*	Se desconece
Isla Vista	Oeste de Estados Unidos	*Microtus californicus*	Se desconece
Rio Segundo	Costa Rica	*Reithrodontomys megalotis*	Se desconece
Caño Delgadito	Venezuela	*Sigmodon alstoni*	Se desconece
Juquitiba	Brasil	Se desconece	SPH
Rio Mamore	Bolivia/Peru	*Oligoryzomys microtis*	Se desconece
Laguna Negra	Oeste de Paraguay	*Colomys laucha*	SPH
Andes	Sudoeste de Argentina/Chile	*Oligoryzomys longicaudatus*	SPH
Lechiguana	Argentina Central	*Oligoryzomys flavescens*	SPH
Bermejo	Noroeste de Argentina	*Oligoryzomys chacoensis*	Se desconece
Oran	Noroeste de Argentina	*Oligoryzomys longicaudatus*	SPH
Maciel	Argentina Central	Bolomys obscurus	Se desconece
Pergamino	Argentina Central	*Akodon azarae*	Se desconece

El principal reservorio de SNV en los Estados Unidos es *Peromyscus maniculatus*. Otras especies de *Peromyscus* pueden servir como huéspedes competentes, y varias otras especies, incluso de ardillas listadas (*Tamias* spp.), han presentado anticuerpos para hantavirus (Childs et al. 1994). A pesar de que la infección por hantavirus no parece afectar la salud de los huéspedes roedores, estos pueden desarrollar infecciones crónicas a lo largo de la vida con eliminación de virus en la orina, materia fecal y saliva (LeDuc 1987). El principal modo de infección a las personas es a través de la inhalación de virus en aerosoles (Tsai 1987). Los aerosoles infecciosos pueden ser generados con la eliminación de orina o a partir de secreciones respiratorias. También pueden producirse aerosoles secundarios al remover materiales contaminados como tierra, basura o nidos de animales. Estos aerosoles presentan riesgo particular en espacios cerrados. Las condiciones ideales para la transmisión del virus a humanos se dan cuando los individuos cohabitan con roedores infectados o mientras realizan la limpieza de edificaciones infestadas por roedores. A no ser que se tomen precauciones de bioseguridad apropiadas, también tiene riesgo de infectarse el personal que manipula roedores que han estado confinados en trampas pequeñas, o el que toma muestras de sangre o tejido de roedores infectados. Algunos datos preliminares indican que los biólogos que trabajan en el terreno tienen mayor riesgo de contraer SPH. De los 118 casos confirmados de SPH en los Estados Unidos, 3 afectaron a biólogos de fauna silvestre o a mamálogos (Armstrong et al. 1994). En Canadá, uno de los tres primeros casos identificados de SPH fue un biólogo de fauna silvestre que estaba trabajando con mamíferos (LCDC 1994).

Los hantavirus relacionados con el SNV han sido identificados en zonas de los Estados Unidos donde no se encuentra *P. maniculatus*. En Louisiana, la secuenciación genética de virus recuperado de una persona con SPH indicó que su infección correspondía a un hantavirus que no era SNV (Khan et al. 1995). En Florida, un caso aparente de SPH llevó a que se estudiaran las especies de roedores de la zona y al aislamiento de un tercer hantavirus autóctono de *Sigmodon hispidus* (rata algodonera) (Rollin et al. 1995). Se han identificado otras cepas de hantavirus por la reacción en cadena de la polimerasa a partir de *Reithrodontomys megalotis* en Nuevo México y *Microtus californicus* en California (Hjelle et al. 1994, B. Hjelle, comunicación personal). Una cepa de hantavirus muy similar a SNV fue identificada en un caso fatal de infección adquirida en Nueva York o Rhode Island; y se aisló una cepa similar de *Peromyscus leucopus* (ratón de pata blanca) capturado en Nueva York (Song et al. 1994). En el Nordeste de los Estados Unidos se hallan poblaciones de *P. leucopus* con anticuerpos que reaccionan a SNV.

P. maniculatus es uno de los roedores más ampliamente distribuido en América del Norte (figura 1a). En su mayoría, ocupa todos los hábitats terrestres de América del Norte, excepto el sudeste y la costa atlántica. Las pruebas *P. maniculatus* está infectada con SNV en gran parte de la zona que habita en los Estados Unidos. *P. leucopus* se encuentra en la mitad oriental de los Estados Unidos, excepto en el extremo sudoriental (figura 1b). *S. hispidus* se encuentra en el sudeste y región sudcentral de los Estados Unidos y se extiende hacia el norte de *M. pennsylvanicus* se encuentra principalmente hacia el norte de los Estados Unidos y Canadá (figura 1c) y *R. megalotis*, en gran parte del oeste de los Estados Unidos (figura 1d).

En los Estados Unidos, los hantavirus son de importancia para la salud pública dada su alta tasa de letalidad entre los pacientes que desarrollan SPH (cerca de 40%). Es necesario llevar a cabo estudios epidemiológicos y ecológicos de poblaciones de reservorios para determinar la amenaza a la salud pública y para ayudar a elaborar normas para disminuir el riesgo. Estos estudios deberán dirigirse a los siguientes aspectos:

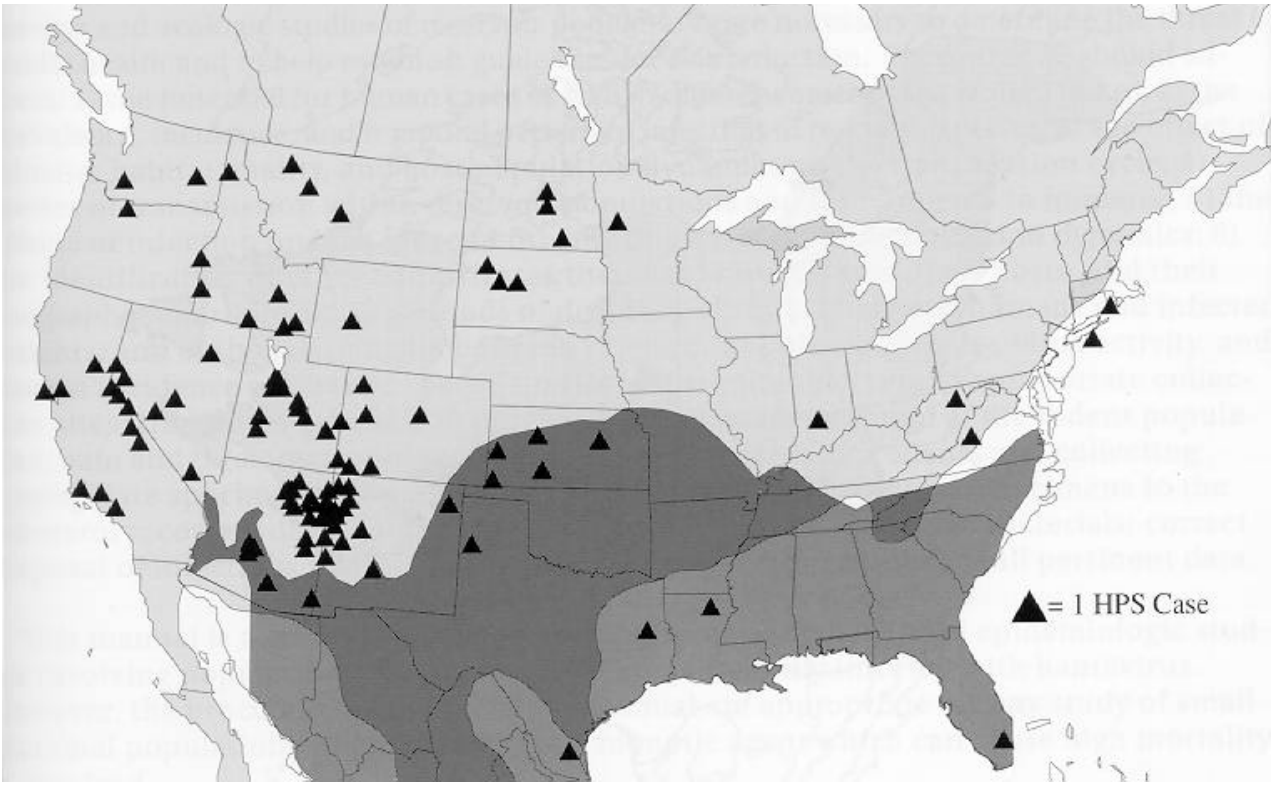
1. El potencial de que se presenten casos humanos de SPH en diferentes zonas de los Estados Unidos;
2. La prevalencia, incidencia y patrones temporales de infección en las especies reservorio;
3. El efecto del clima, calidad del hábitat y dinámica de la población huésped en el ciclo de transmisión;
4. Los modos de transmisión entre poblaciones de reservorios y de roedores a humanos;
5. Los efectos de la infección sobre los movimientos, longevidad y dinámicas de población del huésped;
6. La identificación de otros hantavirus que puedan causar enfermedad, sus huéspedes y su distribución
7. Métodos para disminuir el contacto entre roedores infectados y humanos, y

8. La relación entre densidad de población del reservorio, actividad viral e incidencia de enfermedad en humanos.

Para estos estudios será necesario seleccionar sitios de colección apropiados, métodos de trampeo que provean una muestra representativa de la población de roedores; técnicas seguras de trampeo y manejo de roedores y colección adecuada de especímenes; adecuada conservación, empaquetamiento y envío de especímenes al laboratorio; descontaminación y limpieza correcta de trampas y otros materiales; descarte apropiado de desechos infecciosos y colección y registro cuidadosos de todos los datos.

Este manual es una guía para aquellas personas que llevan a cabo estudios ecológicos y epidemiológicos con poblaciones de roedores que tienen el potencial de estar infectados con hantavirus. Sin embargo, los procedimientos detallados en este manual son apropiados para cualquier estudio de poblaciones de pequeños mamíferos que involucre un agente zoonótico infeccioso que puede causar alta mortalidad.

Los protocolos descritos aquí han sido aprobados por el comité de cuidado y uso de animales de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (EUA). Los investigadores que realicen estudios con animales vivos deberán hacer aprobar sus protocolos de investigación por el comité de cuidado y uso de animales de su institución. Además deberán realizar tales investigaciones de acuerdo con los lineamientos federales (NIH 1985), el Acta Federal de Bienestar Animal (P.L. 89-544), así como las enmiendas P.L. 91-579 y P.L. 94-279) y el Acta de Especies Comprometidas (P.L. 93-205), y otras leyes, reglamentos o políticas locales y estatales aplicables.



Peromyscus maniculatus | *Sigmodon hispidus* | *Ambas especies*

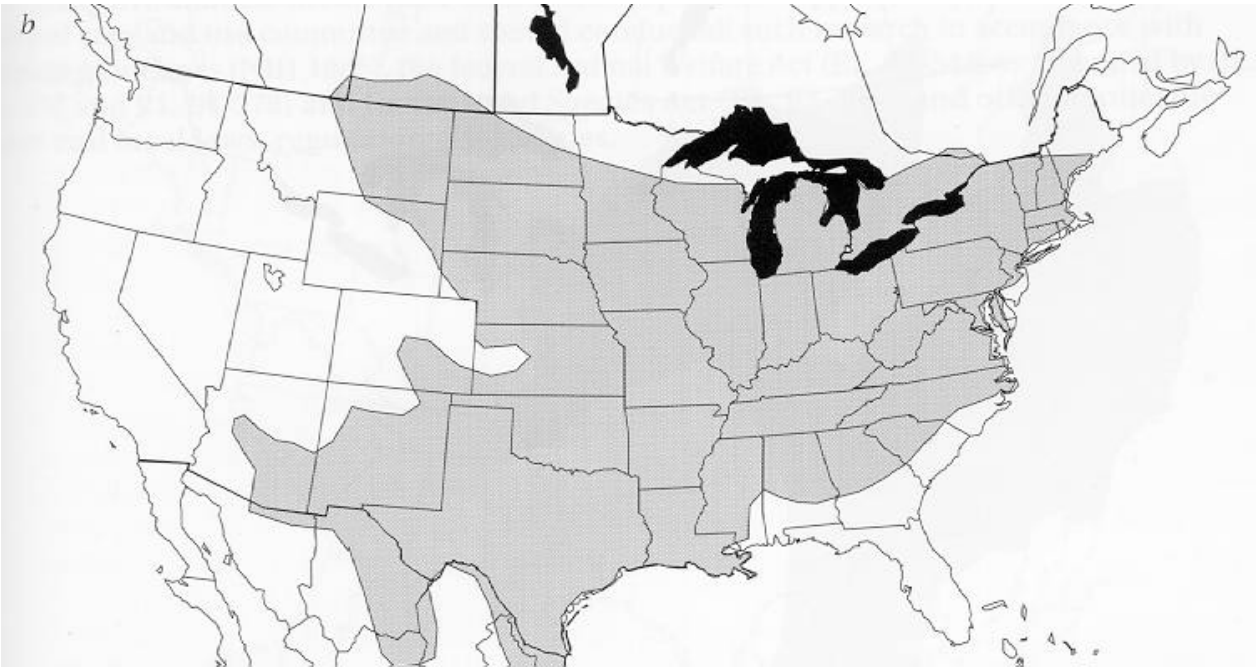
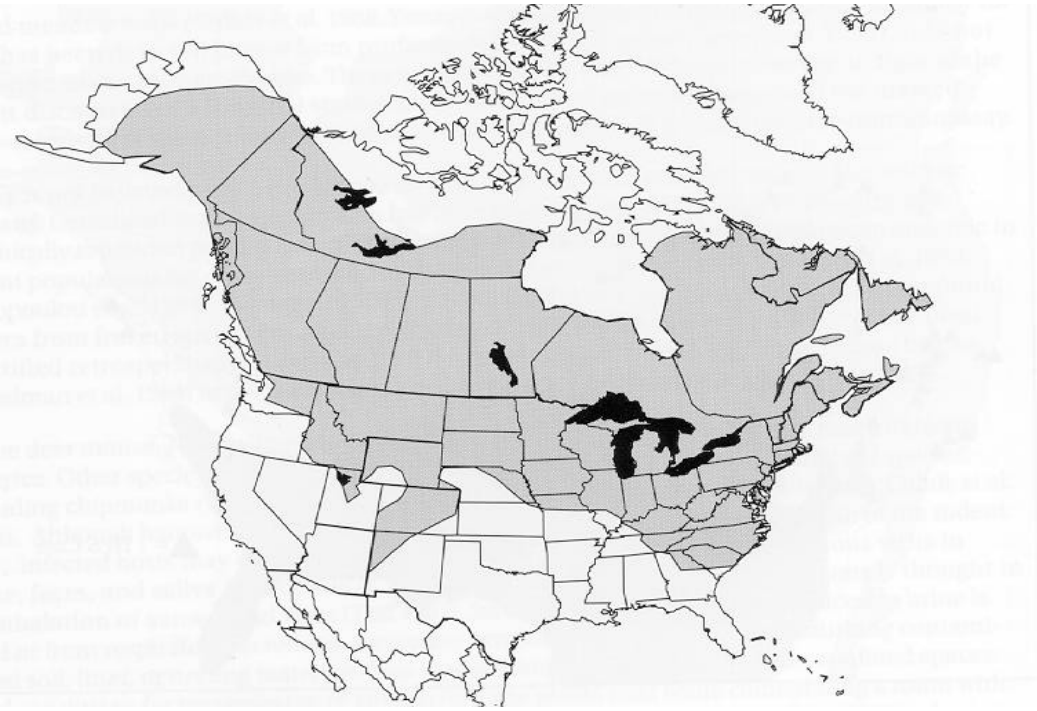


Figura 1. (a) Distribución de Peromyscus maniculatus*, reservorio del virus* Sin Nombre *y* Sigmodon hispidus*, reservorio del virus Black Creek Canal. Los triángulos indican la ubicación de los 118 casos de SPH identificados hasta el 6 de septiembre de 1995. (b)* Peromyscus leucopus*, probable reservorio del virus New York-1.*



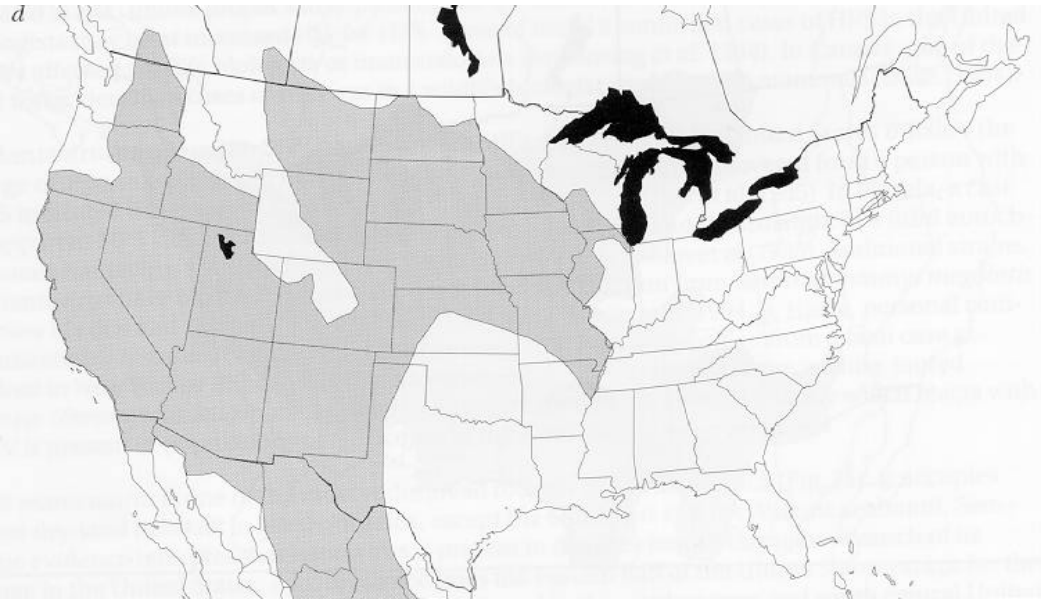


Figura 1. (c) Distribución de Microtus pennsylvanicus, *reservorio del virus Prospect Hill. (d) Distribución de* Reithrodontomys megalotis *reservorio del virus Moro Canyon. Distribución de roedores basada en W.H.Burt y R.P. Grossenheider, Guía de mamíferos silvestres. 3° edición. Houghton Mifflin, Boston 1976.*

SEGURIDAD

Se supone que la vía principal de infección humana con hantavirus es por inhalación de virus en aerosol, eliminado por orina, materia fecal y saliva de los roedores infectados. La exposición a roedores infectados en ambientes cerrados es particularmente peligrosa. Se detectaron casos de FHSR (fiebre hemorrágica con síndrome renal) en personas que estuvieron expuestas durante pocos minutos en cuartos que contenían animales infectados o en laboratorios de investigación (Tsai 1987). Se han detectado varios casos de SPH (síndrome pulmonar por hantavirus) en personas que han estado trabajando o viviendo al interior de ambientes con roedores. El contacto de membranas mucosas, conjuntiva o lesiones cutáneas con virus o material potencialmente infectado puede conducir a la infección humana, al igual que las mordeduras de roedores. La manipulación u obtención de muestras de sangre o tejido de animales vivos o recién muertos son fuente de exposición al virus presente en esos medios. Las medidas profilácticas más importantes que puede tomar el personal que realiza capturas, procesamiento, sangrado y disección de roedores es conocer las rutas potenciales de infección y evitar las situaciones que conduzcan a transmisión (CDC 1993). Las principales precauciones incluyen: reducir al mínimo la exposición a las heces de los roedores; evitar la creación de aerosoles; usar ropa protectora; anestesiar profundamente a los animales antes de manipularlos, y desinfectar adecuadamente las superficies de trabajo, equipo y ropa. También es necesario usar precaución para manipular muestras congeladas provenientes de animales potencialmente infectados (CDC 1994).

Es importante que el personal que realice la captura y procesamiento de los roedores potencialmente infectados conozca el peligro asociado con dichas actividades para reducir al mínimo los riesgos de infección. Antes de iniciar la actividad de captura y procesamiento de roedores, se deberá tomar una muestra de suero de cada uno de los integrantes del equipo (muestra de base), que se conservará a -20 ºC. El personal deberá saber reconocer los síntomas de SPH (Duchin et al. 1994), de modo que todo trabajador que padezca de síntomas dentro de un plazo de 45 días después de la exposición, consulte al médico y le informe sobre las actividades de riesgo realizadas y la posibilidad de infección por hantavirus. La presencia de fiebre y mialgias puede ser suficiente para una primera evaluación. El reconocimiento temprano de la enfermedad y la atención apropiada pueden salvar la vida del paciente. Si el médico sospecha la presencia de infección por hantavirus deberá contactarse con las autoridades de salud pública local. Asimismo, el médico deberá tomar una muestra de sangre del paciente y enviarla junto con el suero de base al departamento de salud para examen de hantavirus. El grupo de trabajo de hantavirus del CDC cuenta con bibliografía adicional sobre reducción de riesgos que se puede obtener llamando al teléfono (404) 639-1510.

Desinfectantes

Una de las medidas más simples para prevenir la infección por hantavirus es el uso de desinfectantes apropiados. Los hantavirus tienen una envoltura lipídica y son sensibles a soluciones diluidas de hipoclorito (lavandina al 10% o lejía), Lysol® de grado hospitalario al 5%, compuestos fenólicos, detergentes y otros desinfectantes de uso doméstico. La estabilidad de los hantavirus en el medio ambiente no está bien determinada, pero los viriones contenidos sobre superficies secas pueden permanecer viables por un período de dos días (J. Huggins et al. datos no publicados). Los desinfectantes deben usarse para:

1. limpiar los guantes de goma después de manipular trampas que contuvieron roedores o que contienen desechos de roedores;
2. descontaminar las trampas que contuvieron roedores o que contienen desechos de dichos animales;
3. limpiar las manos enguantadas después de manipular cada roedor o de realizar una disección y antes de quitarse
4. sumergir y desinfectar los instrumentos utilizados en la disección, y
5. limpiar las superficies de trabajo y otros materiales que puedan haberse contaminado al trabajar con los roedores.

Para el uso de cualquiera de los desinfectantes aprobados por el Organismo de Protección del Ambiente (EUA) deben seguirse las instrucciones del fabricante. El Lysol® es un desinfectante eficaz, que se mantiene estable por períodos prolongados. En el campo se puede preparar fácilmente una solución al 5% (dilución 1/20 con agua común) y colocarla en recipientes grandes con capacidad para sumergir las trampas tipo Sherman® o Tomahawk®. Este tipo de descontaminación no alterará el éxito del trampeo posterior si después del contacto con Lysol las trampas se enjuagan adecuadamente. La lejía es un desinfectante económico y fácil de obtener. Una solución al 1% (dilución 1/100) es adecuada para limpiar superficies potencialmente contaminadas. Una solución al 10% es más eficaz para áreas muy sucias o materiales contaminados con materia fecal de roedores o materiales de los nidos de los roedores. Se deberán usar soluciones frescas (preparadas en el día) de hipoclorito; no se recomienda este producto para desinfectar trampas, porque corroe el material. Es práctico usar botellas plásticas con sistema de aerosol para contener el desinfectante en la dilución adecuada; de esta manera se logra una buena dispersión sobre los instrumentos, guantes o superficies de trabajo.

Ropa protectora y equipo

Para la colocación de trampas limpias se recomienda usar pantalones largos, medias, zapatos amarrados o botas de goma. Una medida de seguridad adicional puede ser el uso de overoles que se quiten después de finalizar el trampeo y procesamiento de los animales. Esta ropa debe lavarse al terminar el día; se deberá también usar guantes de goma gruesa para manipular las trampas que contienen roedores o están potencialmente contaminadas por dichos animales (figura 2). No se aconseja usar guantes de látex puesto que pueden romperse fácilmente al contacto con superficies cortantes de las trampas. Para la manipulación y procesamiento de roedores, el personal debe usar: 1) ropa de cirugía atada en la espalda (camisolín), descartable, u overoles descartables; 2) cubrecalzados (cubrebotas) descartables; 3) dos pares de guantes de látex y 4) respirador con fuente de purificación de aire o respiradores de media cara y anteojos protectores. Los respiradores deberán ser con filtros HEPA (filtros de alta eficiencia). Al finalizar el trabajo (procesamiento de los roedores y limpieza del material y del área de trabajo), el material descartable (camisolines u overoles, guantes y cubrebotas) deberá ponerse en bolsas plásticas bien cerradas y descartarse siguiendo las normas y reglamentos locales. Si la ropa utilizada no es descartable, se deberá sumergir en un desinfectante líquido (procedimiento realizado con guantes) y posteriormente deberá ser lavada con agua caliente y detergente. Con los guantes puestos, se lavarán las manos con un desinfectante o con agua y jabón; luego, se procederá a retirar los guantes y se lavarán las manos con agua y jabón. Se recomienda secar la ropa en máquina secadora en ciclo de alta temperatura o al sol.

Figura 2. El personal que recoge las trampas con animales capturados deberá usar camisa de manga larga, botas o zapatos con cordones y guantes de goma gruesa. Las trampas que contienen animales deberán colocarse en doble bolsa plástica para ser transportadas al lugar de procesamiento.

Seguridad respiratoria

Antes de utilizar un respirador, es indispensable realizar un adiestramiento completo sobre protección respiratoria, que incluya pruebas sobre la eficacia del sello, pruebas de capacidad pulmonar e instrucciones sobre el uso y cuidado del respirador (Ref. 29 CFR 1910.134, Normas de Protección Respiratoria de la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional de los Estados Unidos, OSHA). El departamento local de salud o la oficina de área de la OSHA

podrán proporcionar orientación en estos aspectos. Las oficinas de seguridad de la mayoría de las universidades de los Estados Unidos proporcionarán pautas y procedimientos para obtener y usar los respiradores.

El principio de los respiradores es que todo el aire inspirado pasa a través del filtro HEPA eliminándose partículas de tamaño muy pequeño. Es indispensable que el respirador esté correctamente ajustado y evitar así el ingreso de aire no filtrado. Existe otro tipo más nuevo de respiradores que eliminan este riesgo, pero es más caro. Consiste en una capucha que cubre toda la cabeza y la cara y, por medio de una batería, genera un flujo contínuo de aire filtrado a través de filtros HEPA. Estos equipos (PAPR, figura 3) son más cómodos que los respiradores de presión negativa, pero también requieren capacitación y mantenimiento apropiados.

Figura 3. Usar equipo de protección para manipular y obtener nuestras de animales capturados. El uso de un respirador, como el PAPR mostrado aquí,

Captura y transporte de los roedores

Las trampas que contienen roedores capturados deberán manipularse con guantes de goma gruesa. No se recomienda el uso de guantes de cuero, debido a que estos no pueden ser descontaminados con desinfectante. Las trampas que contienen roedores deberán ser colocadas inmediatamente dentro de una bolsa plástica doble que deberá cerrarse perfectamente (figura 2). Las bolsas se abrirán solamente cuando se llegue al lugar de procesamiento y con ropa protectora, incluso respiradores. Se deberá tener en cuenta que si se han generado aerosoles, estos se encuentran concentrados en una pequeña área dentro de la bolsa. Las bolsas con los roedores deberán ser transportadas en la parte trasera de una camioneta para proteger a los pasajeros. Si no se dispone de camioneta, los roedores deberán ser transportados en el baúl de un auto. Si las bolsas son transportadas en camioneta, se deberán cubrir con una lona de color claro para proteger a los animales del sol en los días de calor.

Selección del sitio de procesamiento

Es imprescindible localizar un área adecuada de procesamiento antes de iniciar las actividades de trampeo. El sitio de procesamiento deberá estar ubicado en un sector separado, lejos de la circulación humana, ganado u otros animales domésticos. En condiciones favorables de tiempo, es preferible realizar el procesamiento al aire libre, por la ventilación y para aprovechar el efecto antiviral de la luz ultravioleta natural. Una lona sostenida por tensores protegerá a los técnicos de la lluvia y el sol. Si se debe trabajar adentro, el lugar deberá tener un ventilador o ventanas que permitan ventilar el lugar. La tabla de procesar, las superficies de trabajo, las sillas y el piso deberán ser de un material no poroso que pueda desinfectarse y limpiarse fácilmente. Si el procesamiento se realiza sobre una superficie de madera, ésta deberá cubrirse con un material plástico que facilite la descontaminación.

Cuando el trabajo se realiza al aire libre, los trabajadores deberán sentarse con el viento de atrás formando un ángulo de 45º; los animales capturados y contenidos en las bolsas plásticas deberán ser colocados a favor del viento, y los vehículos y equipo contra el viento. Una vez que se han abierto las bolsas que contienen los animales capturados, todo el personal sin protección respiratoria deberá permanecer contra el viento, a una distancia de 10 m, por lo menos, del área de procesamiento. Dicho personal podrá regresar al área de procesamiento solamente después de que haya finalizado el mismo, los materiales contaminados se hayan colocado en bolsas plásticas de bioseguridad cerradas y el área haya sido

, halotano, cloroformo, éter) deberán usarse en áreas ventiladas y mantenerse en recipientes debidamente cerrados. Los recipientes, a su vez, serán guardados lejos del fuego, así como las bolsas utilizadas para la anestesia, cámaras de anestesia y algodón o gasas embebidas con anestésico. Los derrames deberán ser contenidos inmediatamente. Habrá que tener extremo cuidado cuando se usa cloroformo, puesto que es tóxico y un carcinógeno potencial. El halotano tiene además el potencial de causar daño hepático. El éter es inflamable y explosivo y su uso no se recomienda. No se deben transferir los anestésicos de su recipiente original. Algunos anestésicos por inhalación pueden degradar el plástico y corroer el metal. Deberán tomarse precauciones especiales cuando se trasladan materiales peligrosos tales como cloroformo y formalina. Para mayor información, véanse los reglamentos federales de los Estados Unidos (49 CFR secciones 171 y 172) y las normas sobre cantidades máximas de productos que se pueden

Anestesia

Los animales no deberán manipularse fuera de las trampas, a menos que se encuentren profundamente anestesiados, según los procedimientos detallados en este manual. Se recomiendan los anestésicos por inhalación más que los inyectables, para evitar el uso de agujas. Se recomienda el uso de metoxiflurano (Metofane®) sobre otros inhalantes tales como halotano, cloroformo, éter o dióxido de carbono, debido a su seguridad y mayor margen terapéutico de error. Asimismo, es menos probable que se administre una sobredosis a los animales y los hará permanecer inconscientes por más tiempo. Si mientras se intenta anestesiar a un animal éste se escapa, los trabajadores no deberán intentar recapturarlo con las manos, puesto que el peligro de mordedura es muy grande. Si el procesamiento se realiza en un recinto cerrado, el animal puede ser recapturado por medio de varias trampas de captura viva o trampas guillotina colocadas durante la noche.

Obtención de muestras de sangre

El sangrado del plexo retroorbitario es preferible a la punción cardíaca, debido al peligro asociado con el uso de agujas. Se recomienda que todo principiante adquiera la técnica practicando con ratones de laboratorio antes de trabajar con los roedores del campo. Con práctica, la técnica es segura, rápida y provee un volumen de sangre adecuado. Se deberá tomar el tubo capilar heparinizado o pipeta Pasteur, de aproximadamente 1,5 cm, de la parte terminal que entra en la órbita y aplicar una presión suave para evitar romper el tubo. Cuando ha terminado el sangrado, no es necesario expulsar la pequeña cantidad de sangre que puede sobrar en el tubo capilar. Si se usa una pipeta Pasteur, la sangre puede ser expulsada suavemente dentro de un criovial con un bulbo de goma. Se deberá evitar la formación de espuma o burbujas y dejar el último milímetro de sangre en la pipeta para evitar la creación innecesaria de aerosoles. Un animal que empieza a despertarse mientras está sangrando, deberá colocarse inmediatamente en la cámara de anestesia y el trabajo de los técnicos continuará solamente después de que el animal esté profundamente anestesiado. En roedores grandes (por ejemplo ratas), el sangrado retroorbitario puede ser difícil; entre los roedores pequeños, el sangrado *Peromyscus*) que en otros (*Microtus*). En ciertas circunstancias, puede ser

necesario hacer punción cardíaca para obtener suficiente cantidad de sangre. En tales casos, deberán tomarse precauciones extremas para evitar lesiones por punción con aguja. Los trabajadores deberán usar una jeringa y aguja limpias para cada animal, y nunca se deberá restituir la tapa plástica o sacar la aguja de la jeringa después de su uso. Las jeringas y agujas, después de su uso, deberán descartarse en un recipiente sin rajaduras, de paredes resistentes al paso de agujas u otros elementos punzantes. Más adelante, se detallan las técnicas de sangrado.

Si se produce alguna lesión, mordedura o punción que lesione la piel, se debe parar el trabajo que se está realizando y limpiar las manos enguantadas o el área de la lesión con desinfectante. A continuación la persona afectada dejará el área de procesamiento, se quitará los guantes u otra cobertura de la piel, se lavará las manos y se tratará de sacar sangre o fluido de la herida, que se limpiará cuidadosamente con desinfectante. Se deberá informar inmediatamente el accidente al personal médico. Si aparece fiebre y dolores musculares u otros síntomas similares a la influenza en un plazo de 45 días después del accidente, se buscará atención médica y se notificará al médico de la posibilidad de infección por hantavirus.

Autopsia

Para reducir el peligro de accidentes durante el procesamiento, los técnicos deberán usar tijeras romas para la autopsia de animales muertos. Los guantes deberán ajustarse bien sobre los dedos antes de iniciar la incisión para evitar cortarlos. Una vez que se abre la cavidad abdominal, la tijera no se utilizará más. A menos que por el protocolo de investigación se requiera evitar la contaminación cruzada entre órganos, se puede utilizar un simple par de pinzas de punta roma, sin dientes, para obtener todos los órganos requeridos. También se pueden utilizar las pinzas para tomar y romper el diafragma y tener acceso a la cavidad torácica. Los instrumentos usados deberán colocarse en un recipiente con desinfectante mientras dura el procesamiento o por un mínimo de 15 minutos; seguidamente se deberán limpiar en desinfectante fresco mediante frotado con un cepillo , como se describirá mas adelante. Después de procesar cada animal, todas las gasas o algodones sucios, toallas de papel y otras basuras deberán colocarse en bolsas claramente identificadas como peligro biológico; los guantes, superficies de trabajo y el exterior de los viales que contienen los especímenes deberán limpiarse con desinfectante y toallas de papel antes de procesar el próximo animal.

Los cadáveres que no se guarden deberán ser rociados con desinfectante y colocados en doble bolsa plástica para luego incinerarlos. Sin embargo, es preferible sean enviados para certificación de especímenes a un museo. En ese caso deberán ser colocados en formalina al 10% (9 partes de agua y 1 parte de formalina comercial, la cual es una solución de 40% de gas formaldehido en agua) para fijar los tejidos e inactivar cualquier virus.

Si los cadáveres no se han abierto para tomar muestras de órganos, deberán abrirse desde la parte inferior del abdomen hasta la parte superior del tórax para que la formalina penetre en todos los tejidos. Es importante no colocar demasiada cantidad de animales en el recipiente en relación con la cantidad de formalina preparada. La relación de volumen de cadáveres a volumen de fijador no deberá exceder 1:2 y los primeros deberán quedar totalmente sumergidos; se permitirá su fijación por 7 días antes manipularlos.

Las trampas que contuvieron animales capturados o que fueron visitadas por animales (demostrado por la presencia de orina, materia fecal o materiales de nido) deberán ser descontaminadas antes de volverlas a usar o guardarlas. La descontaminación deberá realizarse sumergiendo las jaulas y cepillándolas en un baño desinfectante, como se describe más adelante en este manual. Los guantes de látex finos pueden cortarse fácilmente con los alambres u otras partes cortantes de la superficie exterior de la trampa, sin que el técnico se de cuenta. Siempre deberán usarse guantes de goma gruesa para manipular las trampas (por ejemplo, al sacudir los animales de la trampa dentro de la bolsa de anestesia y al descontaminar las trampas en baño de desinfectante). Los guantes de goma gruesa pueden ponerse encima de los guantes

Limpieza

Una vez finalizado el procesamiento de roedores, el área de procesamiento deberá ser cuidadosamente descontaminada, siguiendo paso a paso las instrucciones de la sección de métodos de este manual. Los contactos con un

laboratorio local u hospital para que se reciban las bolsas de peligro biológico que contienen basura para descarte deberán hacerse por adelantado, de acuerdo con regulaciones locales y estatales.

Solamente se usarán crioviales con tapa de rosca, preferentemente externa (en el anexo 7 figura una lista de proveedores) y con cierre hermético. Cualquier fragmento de sangre o tejido deberá limpiarse de la superficie de los viales con desinfectante y toalla de papel. Los viales deberán ser claramente rotulados con el número de animal y tipo de tejido; luego se colocarán en cajas de congelador u otro recipiente duro y se embalarán con hielo seco, con material de embalaje absorbente, de acuerdo con los procedimientos descritos en este manual.

Otros agentes infecciosos

Las personas que manipulan pequeños mamíferos y realizan trabajo de campo en zonas de bosques y arbustos corren el riesgo de adquirir muchas infecciones zoonóticas. Las precauciones para prevenir la infección por hantavirus también son eficaces para prevenir la infección por leptospiras o virus de la coriomeningitis linfocitaria, los cuales pueden ser distribuidos por aerosoles o contacto directo con orina infecciosa. La fiebre por mordedura de rata es otra infección sistémica que puede contraerse por la mordedura de un roedor infectado. Esta es otra razón por la cual no se debe intentar capturar con la mano a los roedores que se hayan escapado. Los animales solamente se deben manipular cuando están profundamente anestesiados.

Por otra parte, distintas infecciones pueden ser transmitidas por ectoparásitos de los animales (por ejemplo, fiebre de Colorado transmitida por garrapatas, erlichiosis, enfermedad de Lyme, fiebre maculosa de las Montañas Rocosas, tularemia). Es importante hacer lo posible para prevenir picaduras de ácaros o garrapatas y remover rápidamente cualquier ácaro que comience a fijarse. La fijación de ácaros puede reducirse al mínimo usando pantalones largos de colores claros con el puño plegado dentro de las medias, camisa de manga larga, sombrero y zapatos cerrados (Buchstein y Gardner 1991). La ropa, especialmente las medias y los puños de los pantalones y la camisa, puede ser tratada con un repelente para artrópodos, como permetrina. Sin embargo, se deberá evitar la inhalación, ingestión o el contacto de la piel con la permetrina. Al final del día, se deberá realizar una búsqueda cuidadosa de ácaros en todo el cuerpo, especialmente en la ingle, la axila y el cuero cabelludo. Cualquier garrapata que se encuentre se sacará cuidadosamente tomándola con una gasa o pinzas y sin apretarla. El área afectada deberá limpiarse bien con un antiséptico antes y después de quitar la garrapata. Se lavarán las manos.

Las personas que trabajan con roedores salvajes en zonas que se encuentran al oeste del meridiano 101º en los Estados Unidos pueden estar expuestas al bacilo de la peste por la picadura de garrapatas infectadas. Las mismas medidas seguidas para prevenir la fijación de ácaros pueden ser útiles para proteger de la garrapata. Cuando se procesan animales, los guantes de látex deberán ponerse sobre el puño de la vestimenta u overol para impedir que las garrapatas lleguen a los brazos.

Los trabajadores que están frecuentemente expuestos a animales salvajes deberán estar vacunados contra la rabia.

Este manual no trata el tema de procedimientos de laboratorio para la manipulación de sangre y muestras de tejidos potencialmente infectados. Estas muestras deberán tratarse de acuerdo con las prácticas de bioseguridad de nivel 3. Refiérase a CDC (1994a) para protocolos de diagnóstico con muestras de roedores. Todo trabajo de laboratorio que incluya inocular muestras con virus a *P. maniculatus* u otras especies permisivas deberá ser realizado en un nivel 4 de bioseguridad (CDC 1994b, Mills et al. 1995). Véase CDC y NIH (1993) donde figura una explicación de los criterios de niveles de bioseguridad.

Cuando haya especies que son reservorios conocidos o sospechosos de SNV o cepas relacionadas, deberán aplicarse consideraciones especiales para 1) preparar pieles para museos y esqueletos de animales muertos recientemente o congelados; 2) manipular especímenes o tejidos de museo congelados; 3) conducir clases en el terreno para estudiantes de biología de vida silvestre; 4) realizar estudios con marcación y recaptura, y 5) establecer o expandir colonias de laboratorio de roedores salvajes. Estas precauciones y consideraciones se tratan en otra parte (Mills et al. 1995).

PROTOCOLO PARA TRAMPEO Y PROCESAMIENTO

COLOCACIÓN Y CONTROL DE TRAMPAS

I. EQUIPO Y MATERIALES

Cebo	Jabón de manos	Repelente de insectos
Guantes de goma gruesa	Agua para lavar	Cinta adhesiva blanca para rotular
Trampas Sherman ®	Tablilla para sostener papeles	Marcadores indelebles
Trampas Tomahawk ®	Lápices	Bolitas de algodón (en tiempo frío)
Cinta o bandera deslindadora	Papel	Formularios para control de trampas
Bolso o mochila	Manzanas	Formularios de evaluación del hábitat
Bolsas plásticas para recolección		

NOTA: El siguiente protocolo describe procedimientos para trampeo de remoción de pequeños mamíferos. Trampeo de remoción significa que los roedores capturados no son regresados al sitio de captura. En estos casos, los animales serán sacrificados y se les hará autopsia para obtener muestras de tejidos de órganos para tratar de realizar el aislamiento viral y otros análisis. Suponiendo que el éxito del trampeo sea de alrededor de 15%, un equipo de dos a tres personas pueden colocar, recolectar y procesar las capturas usando 100 a 200 trampas por noche, durante una expedición al campo de cuatro días (tres noches).

II. PROCEDIMIENTO

A. Preparación para la expedición de trampeo

1. Con bastante anterioridad al inicio de la expedición de trampeo, se deberán obtener los permisos necesarios y los protocolos aprobados de uso y cuidado de animales. Habrá que obtener anticipadamente información sobre especies en extinción o protegidas en el área de trampeo y aprender a evitarlas o reconocerlas y liberar a estos animales de la captura. También se contactará a los propietarios de las tierras para obtener autorización para realizar el trampeo.

2. Verificar la integridad y funcionamiento del equipo, incluso los respiradores y filtros, trampas y generador de electricidad (si se usa). Cargar las baterías para los PAPR o balanza electrónica, si se ha de usar este equipo.

3. Preparar cebo. Se obtiene un buen cebo con avena arrollada mezclada con una pequeña cantidad de pasta de maní. Se puede usar la avena sin pasta de maní donde las hormigas constituyan un problema. El grano molido también puede ser un buen cebo de uso general (con o sin pasta de maní).

4. Preparar rótulos preimpresos para crioviales. Aunque los viales pueden rotularse con un marcador indeleble y con mínima información (número de animal, fecha, tipo de tejido), es preferible usar rótulos adhesivos que hayan sido impresos previamente con la información deseada por medio de un programa computarizado para preparar etiquetas. Este método disminuye errores de rotulación, aumenta la información disponible, asegura la legibilidad y ahorra tiempo en el campo. Antes de la expedición de trampeo, pueden imprimirse una o varias hojas de etiquetas para cada tipo de tejido, y el número exacto de viales pueden ser rotulados inmediatamente

antes del procesamiento. Los rótulos deberán ser de calidad criógena, la adhesividad deberá resistir la temperatura del nitrógeno líquido, -196 °C (véase el anexo 7). Se recomienda que en el rótulo se incluya la siguiente información: 1) número único de identificación, 2) tipo de muestra (sangre, hígado, etc.), 3) investigador/proyecto/ fecha (Mills/Zoológico de Atlanta/abril de 1995).

5. Pegar una tira de cinta blanca adhesiva (de aproximadamente 10 cm de longitud) sobre la parte superior del lado más cercano a la puerta de la trampa. Esta cinta puede usarse para numerar las trampas o para registrar el número de línea de trampas o hábitats, cuando se realiza la recolección de los animales capturados.

6. El primer día, cargar el o los vehículos de campo de acuerdo a la lista de control de carga (anexo 1). Todos los equipos deberán estar bien sujetos para evitar que se dañen por derrame o deslizamiento de líquidos. Los agentes , cloroformo, Metofane®, alcohol, formalina y nitrógeno líquido deberán ser empaquetados adecuadamente; en el vehículo deberá llevarse la documentación correspondiente para el traslado de materiales peligrosos (anexo 2).

B. Colocación de trampas

1. Habrá que planificar la salida para llegar al sitio de captura, colocar y cebar todas las trampas antes de que oscurezca. Si las trampas se colocan varias horas antes de la puesta del sol, o se dejan abiertas durante el día, habrá que revisarlas frecuentemente, especialmente en época de calor, para la captura de animales diurnos.

2. Colocar las líneas de trampas en áreas que estén fuera de la vista de caminos, veredas, rutas u otras áreas de actividad humana. Evitar áreas frecuentadas por ganado para evitar que los animales destruyan las trampas o tropiecen accidentalmente con ellas.

3. Indicar el comienzo de cada línea de trampas con un pequeño pedazo de cinta atada y marcada con el número de línea de trampas. En zonas de matorrales, puede ser necesario marcar la ubicación de cada trampa.

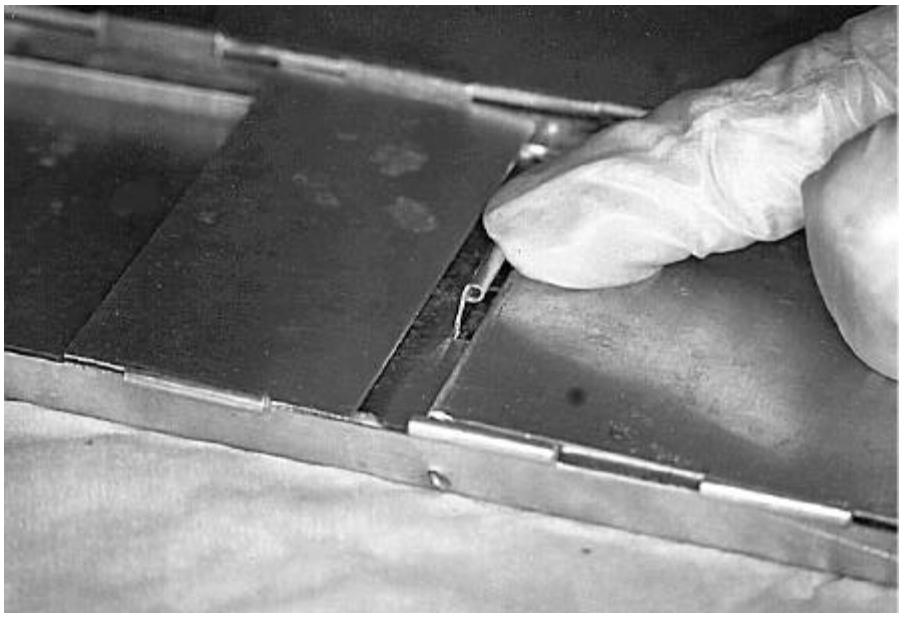


Figura 4. Mecanismo de disparo de trampas de captura viva tipo Sherman®. Tienen una "lengüeta" que sostiene la puerta delantera de la trampa abierta. Si se empuja la lengueta hacia atrás, como se muestra en la foto, aumenta la sensibilidad de la trampa. Para disminuir la sensibilidad, se coloca el dedo detrás de la lengüeta y se tira hacia adelante.

a intervalos de aproximadamente 5 m. Mantener intervalos constantes entre las trampas para que sea más fácil ubicarlas a la mañana siguiente.

Llevar en un bolso o mochila las trampas necesarias para la línea, caminar la línea de trampas colocando cada una lo más niveladamente posible, con la boca a nivel del suelo. La tierra puede removerse y nivelarse raspándola con el pie. Al colocar cada trampa, se controlará el mecanismo disparador (figura 4) para comprobar su ajuste y sensibilidad.

6. Cuando sea posible, colocar las trampas cerca de pilas de leña, troncos caídos, madrigueras, autos abandonados u otros lugares que provean refugio. Cuando se colocan trampas dentro o cerca de las viviendas, se pondrán paralelamente a las paredes u otras superficies verticales, en armarios, detrás

de aparatos y muebles, y sobre estantes más altos que el piso, prestando especial atención a las áreas donde haya evidencias de actividad de roedores.

7. Colocar cada línea de trampas en un solo tipo de hábitat (casa, alambrado, pastura, forestación de pinos).
8. En climas o estaciones calurosas, evitar colocar las trampas de manera que queden expuestas al sol directo. Si esto es imposible, las trampas pueden cubrirse con una tabla o con una lona. Si las temperaturas son muy bajas, colocar dos bolitas de algodón en cada trampa para que sirvan de nido durante la noche.
9. Después de colocar la última trampa, marcar el fin de la línea con otro pedazo de cinta y regresar a lo largo de la línea de trampas, arrojando una pequeña cantidad (aproximadamente una cucharada de té) de cebo dentro de cada una.
10. Después de finalizar cada línea de trampas, completar las primeras tres columnas del formulario de control de trampas (anexo 3) e incluir el número de cada tipo de trampas colocadas en cada línea.
11. Completar el formulario de evaluación del hábitat (anexo 4) para cada línea de trampas o grupo de líneas de trampas en un hábitat distinto. Cuando esté disponible, usar un sistema de posición global (GPS, del inglés *Global Positioning System*) para registrar la latitud y longitud exactas.
12. Si es necesario conocer el sitio exacto de captura de un roedor específico, es bueno tener un esquema del sitio de trampeo y de la ubicación de las líneas de trampas. La ubicación del sitio de trampeo puede registrarse sobre un mapa topográfico local usando, si es posible, un GPS.

C. Recolección de roedores capturados

1. Las trampas deberán revisarse lo más temprano posible en la mañana, especialmente en tiempo cálido y cuando
2. Los miembros del equipo deberán usar ropa protectora, incluso pantalones largos y camisa de manga larga, medias, zapatos pesados y guantes de goma gruesa (figura 2). Cada persona deberá llevar un marcador indeleble y papel para tomar notas.
3. Cada miembro del equipo de campo deberá controlar las trampas que él o ella haya colocado para obtener una mayor eficiencia y reducir la pérdida de trampas.
4. Revisar cada trampa para ver si hubo captura o si fue visitada. Si una trampa parece haber sido visitada, pero no ha saltado (contiene orina, materia fecal o material de nido), colocar la trampa en doble bolsa plástica para ser descontaminada y verificar su funcionamiento adecuado. Reemplazar la trampa por una limpia.
5. Cuando la trampa se encuentre con la puerta cerrada, se alzará sin sacudirla. De pie, con el viento del lado izquierdo o derecho y la trampa tomada a una distancia igual al largo de un brazo, empujar suave y cuidadosamente la puerta para confirmar la presencia de un roedor capturado. Si no hay captura y no hay evidencia de visita, controlar el ajuste de la trampa y volverla a poner en la línea correspondiente. Si se captura una especie distinta de la que se buscaba (sapo, pájaro, especie protegida) cuidadosamente liberar al animal en el sitio de captura y luego volver a colocar la trampa o colocarla en una bolsa para descontaminación.
6. Si la trampa contiene una especie de interés, en la cinta que se puso sobre la trampa indicar el número de línea de trampa (o hábitat de captura, si no se está usando el anexo 4). Cuidadosamente colocar la trampa en una bolsa plástica para cerrarla. Luego, colocar la trampa embolsada dentro de una segunda bolsa plástica y cerrar esta última (figura 2). Colocar la trampa doblemente embolsada en el suelo (a la sombra en tiempo cálido) para recogerla al regreso, y continuar revisando el resto de la línea de trampas.

7. Después de completar la línea de trampas, llevar los animales capturados al vehículo y completar el formulario de recuento de trampas, incluso el número de capturas en cada tipo de trampa, número de trampas que saltaron

8. Colocar los roedores capturados en bolsas plásticas en un área fría, a la sombra, hasta que todas las líneas de trampas hayan sido revisadas. No se deben reabrir las bolsas plásticas una vez que se han cerrado con un nudo. Las bolsas pueden abrirse para permitir que le circule aire a los animales, solamente después de que los técnicos se hayan puesto el equipo completo de protección en el sitio de procesamiento.

9. Si el éxito de trampeo fue razonable (10% o mejor), las trampas pueden dejarse en el mismo lugar por una segunda noche; en caso contrario, pueden colocarse en otro lugar.

NOTA: Si las trampas se dejarán en el lugar por una segunda noche, deberán mantenerse cerradas durante el día o revisarse periódicamente (al mediodía y antes de que oscurezca o más frecuentemente si las trampas están expuestas al sol o si hace calor) por si han capturado animales diurnos, como ardillas. Si es posible, estos animales deberán ser procesados inmediatamente. De lo contrario, se les puede proveer comida húmeda (un pedazo de manzana), guardarlos durante la noche (al aire libre, lejos de la gente) y procesarlos al día siguiente. Si es necesario, las trampas deberán ser cebadas nuevamente cuando se realiza la revisión en la

10. Colocar las bolsas plásticas que contienen los roedores capturados en la parte posterior del vehículo de campo y transportarlos directamente al sitio de procesamiento, teniendo cuidado de no exponer a los animales al sol.

11. Después de colocar a los animales en el vehículo, lavar los guantes de goma minuciosamente con jabón y agua, luego sacar los guantes y lavar las manos desnudas con agua y jabón.

PROCESAMIENTO DE ROEDORES CAPTURADOS

I. EQUIPO Y SUMINISTROS

Metofane®	Rótulos: Sangre Bazo	
Ketamina:xilazina	Riñón	Pinzas de 30 cm de largo
	Pulmón	
, calidad industrial		
	Cuadrados de gasa estériles	Lapicera de tinta permanente
Alcohol isopropílico o etanol 70%		Cajas de congelador para muestras
Botella de plástico blando	Regla milimétrica	Cepillo de mango largo (para trampas)
		Cepillo para limpiar (instrumental
Nitrógeno líquido o heladera y	Tubos capilares heparinizados	Guantes de goma gruesa
	Recipiente para material punzante	Recipiente grande (para agua)
Recipiente de boca ancha	Tijeras de disección de punta roma	Bolsas de basura grandes (4 L)
Respiradores/anteojos	Pinzas de punta roma	Bolsas de peligro biológico
	Bandeja de instrumental	Cinta de autoclave
Vestimenta descartable	Crioviales (2 ml)	Estuche o equipo de primeros auxilios
	Gradilla para crioviales	Guía de mamíferos
	Botella pulverizadora	
	Mechero de alcohol	Baúl para equipos
Sillas o banquetas	Tabla con sujetapapeles	
Bolsas con cierre hermético		
Bolsas con cierre hermético	eringas de 1cc y 3cc	
	Agujas 22g, 3,75 cm	

II. PROCEDIMIENTO

A. Selección del sitio de procesamiento

1. Seleccionar un sitio de procesamiento que esté relativamente apartado, fuera de la vista de cualquier actividad humana y que no esté cerca de ganado u otros animales. Es preferible que sea al aire libre. Se puede montar una simple lona para proteger a los técnicos del sol o la lluvia. Si está extremadamente frío o muy ventoso, puede usarse un sitio bajo techo. Tal sitio deberá ser apartado, tener pisos que se puedan fregar fácilmente con desinfectante para descontaminarlos, y tener un ventilador de extracción o ventanas para ventilación cruzada.

2. Establecer el área de procesamiento con los artículos detallados en la lista de verificación (figura 5; anexo 5).

3. Todo el personal que participa en la manipulación de roedores o trampas deberá usar ropa protectora completa, incluso vestimenta descartable u overol (preferentemente descartable), cubrebotas descartables, dos pares de guantes de látex, anteojos de seguridad y respirador de media cara o respirador con fuente purificadora de aire equipada con filtros HEPA (figura 3). El personal que no esté participando en el procesamiento y no esté usando respiradores, deberá permanecer contra el viento y al menos a 10 metros del área de procesamiento. Si el procesamiento se hace bajo techo, el personal que no esté usando respiradores no deberá entrar a la habitación hasta que el trabajo haya finalizado, las superficies de trabajo hayan sido descontaminadas, los descartables contaminados se hayan guardado adecuadamente, y la habitación se haya ventilado por 30 minutos.

B. Obtención de sangre de los roedores capturados

1. Para aumentar la eficiencia, al menos dos técnicos deberán participar en el procesamiento. Se podrán dividir entre el personal tareas tales como la anestesia, el sangrado, el pesaje y medición, la autopsia, el almacenamiento de especímenes, el registro de datos y la descontaminación de trampas.

Figura 5. La mesa de procesamiento deberá estar preparada completamente, segun se indica en el anexo 5, antes de sacar de la trampa al primer animal capturado.

Figura 6. Transferir el animal capturado desde la trampa a la bolsa de anestesia mediante una sacudida.

Figura 7. Pesar al animal lo mas próximo posible al gramo usando una balanza Pesola â.

2. Después de que todo el personal se haya puesto todo el equipo de protección, se podrán abrir las bolsas plásticas que contienen las trampas con los animales capturados.

3. Colocar un trozo de algodón o gasa empapado en Metofane®, dentro de la bolsa plástica de anestesia (funciona muy bien una bolsa de cierre hermético de 30 cm x 30 cm) y sellar la bolsa.

4. Sacar la trampa que contiene el animal de su bolsa plástica. Registrar en la planilla de registro de autopsia el número de línea de trampa o hábitat de captura que figura en la trampa (anexo 6).

5. Envolver la abertura de la bolsa de anestesia alrededor de la boca de la trampa con la mano por fuera de la bolsa, empujar la puerta de la trampa de modo que quede totalmente abierta hacia adentro de la bolsa plástica; con un fuerte sacudón hacia abajo, arrojar el animal capturado dentro de la bolsa y sellarla (figura 6).

6. Observar al animal hasta que esté inmóvil y no responda al estímulo. Luego, sacarlo de la bolsa, sellar la bolsa y colocar el animal sobre una superficie limpia (dos capas de toalla de papel blanco pueden funcionar bien) para el procesamiento.

NOTA: Es difícil expulsar a los animales de las trampas de malla de alambre, tales como las Tomahawk®. Los animales capturados en estas trampas pueden ser anestesiados colocando la trampa entera en una bolsa plástica grande y limpia que contenga una gasa o algodón empapado en anestésico. Otra posibilidad es insertar una pinza larga a través de la malla de la trampa para pescar la piel del animal e inyectar ketamina:xilazina (10:1) con jeringa y aguja. Una dosis adecuada para ratón es de 0,02 a 0,05 cc (20 a 40 g) y 0,1 a 0,3 cc para ratas (200g a 400g).

7. Antes de tomar una muestra de sangre, se pesará rápidamente al animal con una balanza Pesola (figura 7) de medida apropiada para el tamaño, o una balanza electrónica de funcionamiento a pila. Es suficiente el dato de

8. Realizar el sangrado retroorbitario.

NOTA: Este procedimiento funciona muy bien con los ratones; para las ratas grandes o ratones campestres, esto requiere alguna práctica adicional:

a. Mirando la superficie dorsal del roedor, colocar el dedo pulgar de la mano izquierda (derecha para los zurdos) sobre la parte superior de la cabeza y el dedo índice bajo la garganta. Apretar juntos el índice y el pulgar para deslizar la piel hacia la izquierda de modo que quede tirante del lado derecho de la cabeza del animal y deje al descubierto el globo ocular (figura 8a). Se deberá tener cuidado de no causar colapso de la

b. Introducir la porción terminal del tubo capilar heparinizado en la esquina posterior del ojo (canto lateral), detrás del globo ocular (figura 8b). Puede servir de blanco una almohadilla blanca de grasa ubicada detrás del ojo. El tubo deberá estar perpendicular a la cara del roedor y deberá inclinarse hacia abajo en dirección a

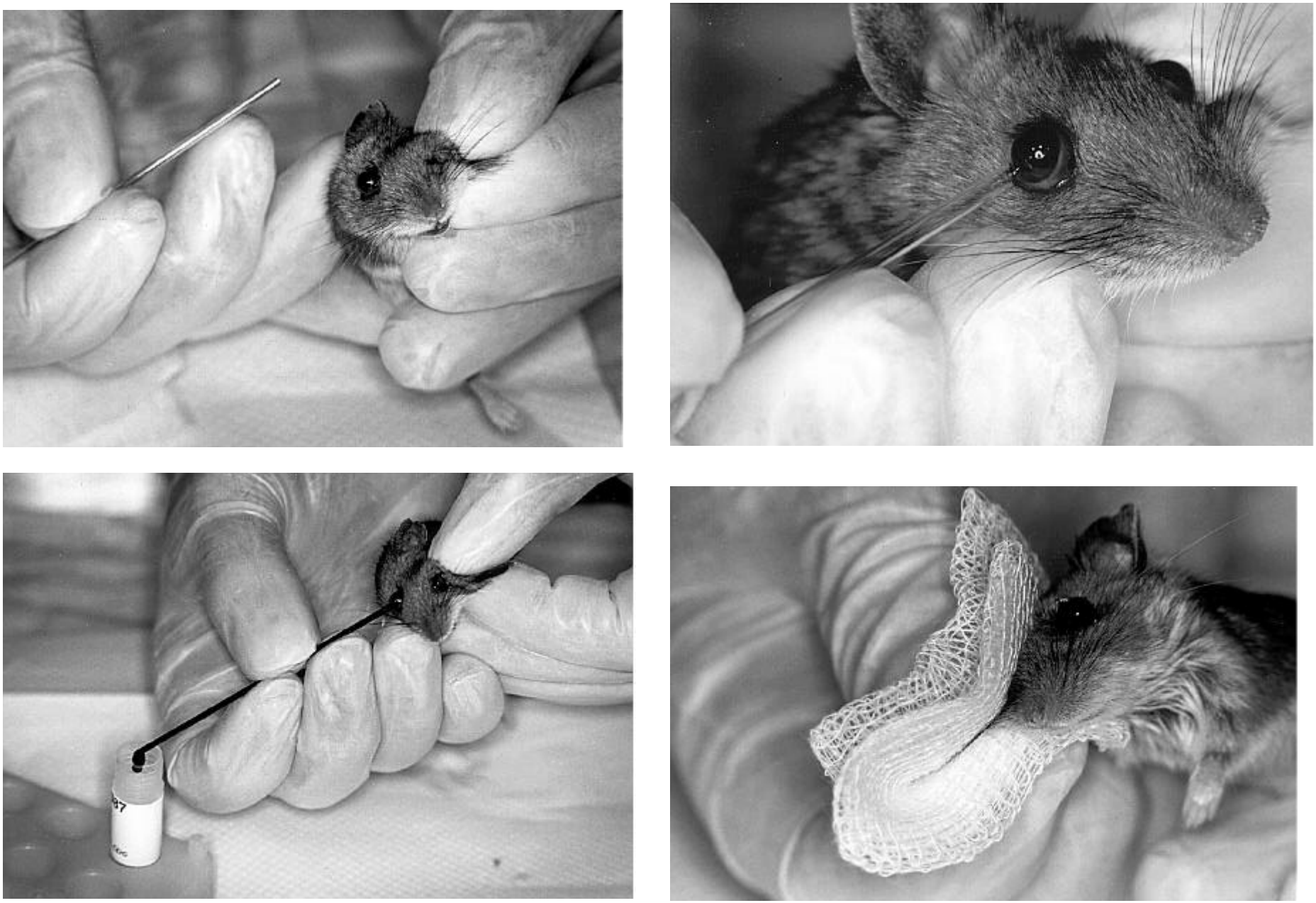


Figura 8. Sangrado retroorbital: (a)deslizar la piel hacia un lado de la cara del animal. (b)insertar el tubo capilar en la esquina posterior del ojo. (c)permitir que la sangre fluya a través del tubo capilar y gotee dentro del criovial; (d) apretar el ojo con una gasa para frenar el sangrado.

un criovial abierto y rotulado. Cuando el tubo capilar alcanza la parte posterior de la órbita y se palpa el hueso, rotar un poco el capilar contra el hueso para romper las vénulas y para que empiece a fluir la sangre.

c. Retirar el tubo suavemente alejándolo del hueso, para permitir que la sangre entre al tubo sin obstrucción. Si la sangre no fluye, repetir el paso b.

d. Cuando la sangre comienza a fluir dentro del tubo capilar, colocar la parte libre del tubo sobre la boca de un criovial para permitir que la sangre gotee dentro del vial (figura 8c). Si el flujo de sangre ensucia el tubo o la cara del animal, retirar el tubo delicadamente para limpiar la obstrucción de la entrada. Puede ser necesario rotar el tubo ocasionalmente o moverlo hacia adentro y afuera del seno para mantener el flujo de sangre. Si el flujo se bloquea a la entrada por un coágulo, retirar el tubo, colocarlo dentro del criovial y sangrar con un tubo limpio. Continuar colectando la sangre hasta que el flujo cese o hasta que se haya obtenido la cantidad de sangre deseada. Se puede obtener un volumen de 0,5 ml de sangre de los roedores sanos.

e. Sacar el tubo capilar del ojo y colocarlo temporalmente dentro del criovial.

f. Soltar la presión sobre la piel y, con un pequeño pedazo de gasa estéril, apretar por unos segundos cerrando el ojo afectado para detener el sangrado y sacar el exceso de sangre del área (figura 8d). Descartar la gasa en una bolsa de bioseguridad.

g. Suavemente tocar el tubo capilar contra la pared del criovial para extraer la mayor cantidad de sangre posible. No se debe tratar de expulsar el resto de la sangre con una bomba de goma o jeringa, ya que esto puede generar aerosoles infecciosos. Descartar el tubo capilar en el recipiente para material punzante.

h. Colocar la tapa sobre el criovial y cerrar bien. Si se derramó algo de sangre sobre el vial, limpiarlo con una toalla de papel y desinfectante.

NOTA: En lugar de tubo capilar puede usarse una pipeta de vidrio tipo Pasteur. Antes de su uso, la pipeta deberá recubrirse (en su interior) con heparina. Después de sangrar, dejar que la sangre de la pipeta drene dentro del criovial o, si es necesario, la pipeta puede vaciarse al aplicar presión suave con una bomba de goma o jeringa, evitando la formación de burbujas o espuma y dejando los últimos milímetros de sangre dentro de la pipeta para evitar la creación de aerosoles.

9. Si no se puede realizar el sangrado ocular, hacer la punción cardíaca:

a. Colocar una aguja de 3,75 cm y 22 g a una jeringa de 1 ó 3 cc; soltar el cubreaguja y probar el émbolo para ver que si se desplaza suavemente.

Cubrir, por aspiración, el interior de la jeringa con heparina y luego volver la heparina al recipiente.

Colocar el animal sobre una superficie plana, con la parte ventral hacia arriba. Mojar el abdomen y el tórax con alcohol y limpiar con una gasa limpia. La posición del latido del corazón puede ubicarse frecuentemente al tocar con el dedo índice.

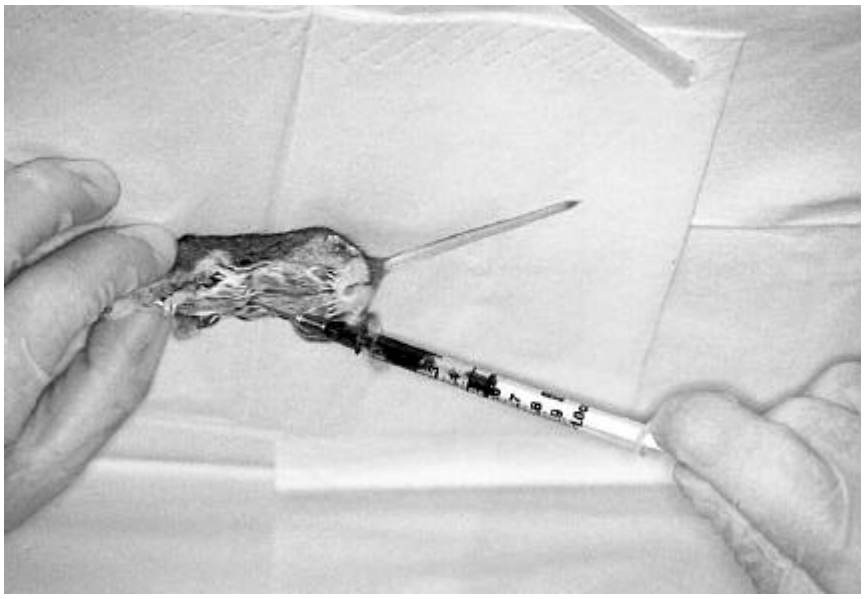


Figura 9. Punción cardíaca: posición adecuada del animal y la jeringa.

Figura 10. Descarte de jeringa y aguja en recipiente de paredes rígidas; no recubrir la aguja.

Con el dedo índice de la mano izquierda, ubicar la protuberancia xifoidea. Con la jeringa en la mano derecha, insertar la aguja justo debajo de este punto y retirar el émbolo suavemente para crear un ligero vacío. Continuar presionando la aguja dentro de la cavidad torácica en un ángulo de 20° sobre la horizontal, hasta que se penetre al corazón y la sangre comience a fluir. Retirar el émbolo lentamente hasta que la jeringa se llene, manteniendo un ligero vacío (figura 9). Si antes de que se haya obtenido suficiente sangre el flujo cesa, retirar la aguja suavemente (la aguja puede haberse atravesado por la parte de atrás del corazón) o ajustar la posición de la aguja hasta que se restablezca el flujo de sangre.

e. Cuando se haya obtenido un volumen de sangre suficiente, soltar la presión negativa sobre el émbolo y retirar la aguja de la cavidad torácica. Sin sacar la aguja, suavemente expeler la sangre dentro de un criovial rotulado y descartar la jeringa y aguja dentro del recipiente para material punzante **sin** colocar el cubreaguja plástico (figura 10). Enroscar debidamente la tapa del criovial y limpiar con una toalla de papel o gasa y desinfectante cualquier derrame de sangre sobre el mismo.

10. Obtención de muestra de sangre de roedores muertos

NOTA: Se puede obtener una pequeña cantidad de sangre del corazón de un animal que haya muerto durante la manipulación, si es que ha sido recientemente capturado con trampa guillotina. Se toman los siguientes pasos:

a. Abrir la cavidad torácica con una tijera de punta roma.

b. Abrir el corazón con una segunda tijera estéril.

c. Aspirar la sangre que fluya del corazón o de pozas de sangre de la cavidad torácica con una pipeta Pasteur® (recubierta de heparina) con una bomba de goma o con una micropipeta con punta descartable; cuidadosamente expulsar la sangre dentro de un criovial rotulado.

O:

a. Escribir el número del animal sobre una tira de papel de filtro (tipo tira Nobuto) (Anexo 7).

b. Abrir la cavidad torácica y cortar el corazón como se describió.

c. Sumergir la tira de papel de filtro en la poza de sangre o dentro del tejido del corazón. Tratar de absorber suficiente cantidad de sangre para cubrir la porción inferior, angosta, de la tira.

d. Dejar que las tiras de papel se sequen al aire completamente.

e. Las tiras pueden ser embaladas en doble bolsa de cierre hermético y enviadas en una caja firme.

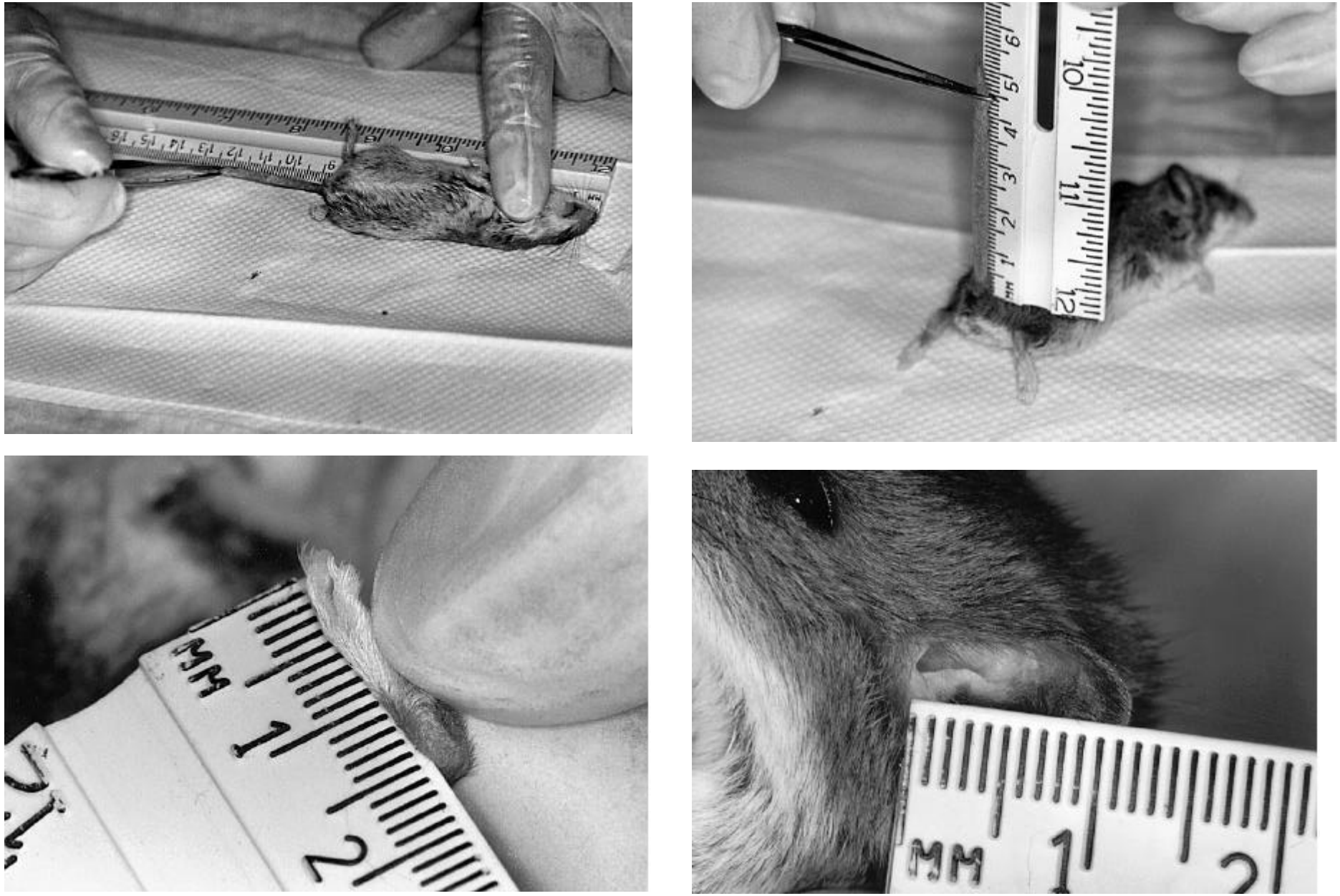


Figura 11. Medidas estándar: (a) largo total; (b) cola; (c) pata derecha trasera; (d) oreja.

NOTA: Dejar que las tiras de Nobuto ®se sequen solamente a temperatura ambiente y evitar que se toquen unas con otras hasta que estén completamente secas. Guardar las tiras en una heladera antes de enviarlas. Si se está usando un gran número de tiras, se pueden colgar de un hilo para facilitar su conservación y mantenerlas en orden para registrarlas en el laboratorio.

C. Obtención de datos reproductivos y medidas estándar de roedores

NOTA: Los datos deberán compilarse en formularios y registrarse en un documento estandarizado, como el del Anexo 6.

1. Anotar el sexo y la condición reproductiva del animal. Para los machos, los testículos pueden haber descendido dentro del escroto o ser abdominales. Para las hembras, la vagina puede estar perforada o cerrada. Los pezones pueden ser pequeños o estar agrandados, y distinguirse entre lactantes o no lactantes (esto se determina apretando suavemente un pezón entre el pulgar y el dedo índice).

2. La edad del animal puede registrarse (subjetivamente) según las medidas y características de pelaje como juvenil, adulto joven o adulto. En el anexo 6, la edad podría registrarse en la sección de comentarios.

3. Largo total: Colocar el animal sobre una superficie con la parte ventral hacia arriba y sostenerlo de modo que el cuerpo y la cola estén derechos y tirantes pero no estirados. Medir la distancia desde la punta de la nariz a la punta de la parte carnosa de la cola; excluir cualquier pelo que se proyecte más allá de la punta (figura 11a).

4. Largo de la cola: Colocar el animal con la parte ventral hacia abajo y doblar la cola hacia arriba en un ángulo recto. Medir desde la curvatura de la base posterior de la cola hasta la punta de la parte carnosa, excluir los pelos que se proyectan más allá (figura 11b).

5. Pata posterior derecha: Con el animal tendido con la parte ventral hacia arriba, colocar el dedo índice sobre la superficie dorsal de la pata y el pulgar sobre la superficie plantar y sostener la pata de modo que el tobillo forme un ángulo recto perfecto. Medir la distancia desde la parte de atrás del “talón” la punta más larga de la parte

6. Oreja: Insertar la punta de una regla en la muesca de la base de la oreja y medir el largo máximo a la porción distal del pabellón de la oreja (apariencia media); excluir los pelos que se proyectan más allá de la porción carnosa (figura 11d).

7. Registrar la presencia de cualquier cicatriz que haya en el cuerpo, especialmente en las orejas y la cola. Esto puede ser indicativo de encuentros agresivos entre roedores.

8. Mirar y anotar la presencia de ectoparásitos, tales como ácaros, garrapatas, pulgas o moscardones.

D. La autopsia de los roedores capturados

1. Si el animal no murió durante el sangrado, se deberá realizar la eutanasia antes de la autopsia. Este procedimiento puede hacerse por medio de una sobredosis de anestesia, colocando el animal en una cámara con una fuente de dióxido de carbono (hielo seco), o por

Figura 12. En un animal pequeño, profundamente anestesiado, puede realizarse eutanasia en forma rápida y sin dolor por dislocación cervical.

dislocación cervical. Para realizar la dislocación cervical, colocar al animal profundamente anestesiado con su parte ventral hacia la mesa. Tomar con una mano un objeto como un lápiz y colocarlo firmemente a través de la parte posterior de la nuca; con la otra mano tomar la cola y tirar bruscamente hacia arriba y hacia atrás (figura 12). Esta técnica realizada con animales profundamente anestesiados resulta en una muerte rápida y sin dolor. Para matar roedores grandes, tales como ratas, se administrará una sobredosis de anestesia o dióxido de carbono.

Figura 13. Flamear tijeras y pinzas en un mechero de alcohol antes de usarlas.

2. Flamear sobre un mechero de alcohol la tijera y la pinza (figura 13) y colocarlas sobre una gradilla de modo que la porción esterilizada no toque ninguna superficie.
3. Colocar el animal sobre una toalla de papel con su parte ventral hacia arriba. Limpiar la superficie ventral con una almohadilla de algodón o con un chorro de alcohol de una botella de presión y limpiar con un cuadrado de gasa.
4. Pellizcar y levantar la piel de la parte baja del abdomen con los dedos o la pinza. Colocar la tijera por debajo del pellizco y, con un simple tijeretazo, cortar la piel y la musculatura abdominal (figura 14). Insertar una hoja de la tijera en la incisión y hacer uno o dos cortes en forma de "V" sobre cada lado de la pared abdominal; retraer la piel cortada y la musculatura mas allá del diafragma para exponer completamente la cavidad abdominal.
5. Colocar la tijera usada en la bandeja con Lysol®.
6. Sostener el animal con la mano izquierda (para una persona diestra) con el dedo pulgar o índice sobre la parte superior del tórax y llevar el colgajo de piel de adentro hacia afuera, de modo que al arquearse la espalda los órganos queden expuestos y un poco sobresalidos (figura 15).
7. Con una pinza estéril de punta roma y sin dientes, levantar el estómago para poder ver el bazo. Tomar el bazo con la pinza y suavemente tirar para desprenderlo del tejido conjuntivo. No será necesario cortarlo. (No usar la tijera nuevamente una vez que se haya usado para entrar en la cavidad del cuerpo.) Colocar el bazo dentro de un criovial estéril rotulado.
8. Con la misma pinza, tomar los riñones uno por vez, y tirar para desprenderlos (figura 15); colocarlos dentro de un segundo criovial.
9. Tomar con la pinza el diafragma y separarlo para brindar un acceso más claro a la cavidad torácica.
10. Tomar y sacar el corazón. Este puede guardarse en otro criovial o puede simplemente extirparse para proveer acceso más fácil a los pulmones.

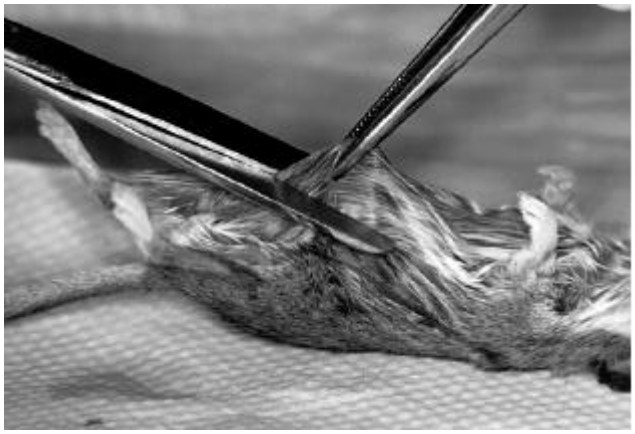


Figura 14. Para realizar la incisión, pellizcar y levantar la piel y la musculatura de la parte inferior del abdomen.

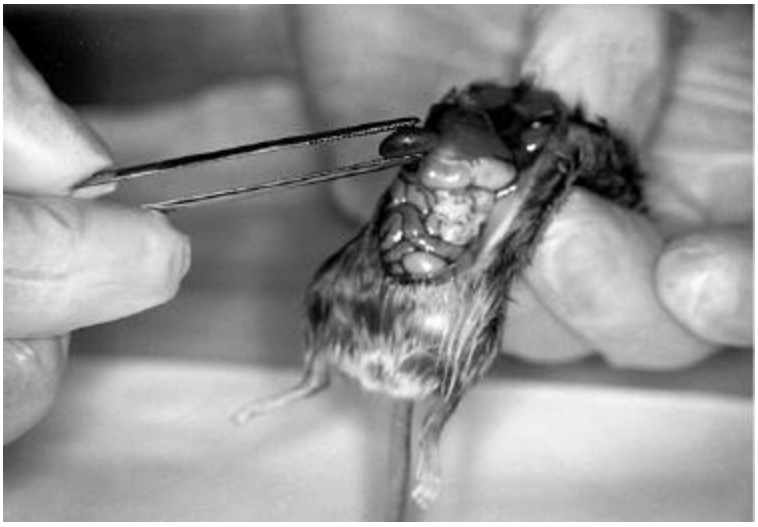


Figura 15. Empujar la piel hacia atrás y arquear el animal de modo que los órganos queden expuestos para extraerlos; tomar el órgano con la pinza y tirar suavemente del mesenterio sin cortar.

11. Colocar la pinza bajo los pulmones en el ápice de la cavidad torácica y tomar los pulmones y la tráquea. Sacar todo este tejido con un movimiento hacia arriba y hacia atrás y colocarlo dentro de un criovial rotulado. En el caso de especies grandes, puede bastar con tomar solamente una parte del pulmón.

12. Con la pinza, tomar una porción de hígado de medida adecuada que quepa dentro del criovial. (No se debe recoger la vesícula biliar con el hígado y habrá que evitar romperla, para no liberar enzimas en la muestra.)

13. Colocar las pinzas usadas en la bandeja con Lysol®.

NOTA:

14. Colocar bien ajustada la tapa de todos los crioviales, rociar los crioviales con desinfectante y limpiar cualquier resto de sangre o tejido del exterior del criovial. Colocar en hielo seco o nitrógeno líquido los crioviales que contienen sangre y tejidos (figura 16), y guardarlos ordenadamente por tipo

15. Si se desea, en este momento se pueden registrar otros datos adicionales reproductivos, por ejemplo, el número de embriones y largo desde la cabeza a la cadera; presencia o ausencia de heridas uterinas; largo y ancho de los testículos; condiciones del epidídimo (cuando se observa bajo una lupa, un epidídimo enrollado indica maduración espermática, liso indica que el roedor es sexualmente inmaduro).

Figura 16. Colocar las muestras de los animales en hielo seco o en nitrógeno líquido hasta que puedan ser transferidas a

16. Si se conserva el cadáver del animal, se deberá colocar un rótulo en la pata con el número del animal, sexo, especie y fecha de captura.

NOTA: Los rótulos deberán ser de tela adhesiva o de papel de buena calidad, resistente a la formalina y al alcohol. Deberán atarse con un hilo fuerte, blanco, de algodón mercerizado, de medida 10 a 12. Los datos deberán anotarse con tinta india negra permanente o, si no se dispone de ella, con un lápiz duro de grafito (por ej. No. 4). Los rótulos pueden ser escritos y atados con hilo antes de iniciar el procesamiento.

17.Atar firmemente el rótulo a la pata derecha trasera arriba del tobillo. Debido a que el hilo puede enredarse durante la conservación, atar el rótulo lo más cerca posible de la pierna. Colocar el animal dentro de un recipiente con formalina al 10% y ajustar bien la tapa del recipiente.

NOTA: Si los animales no han sido abiertos para sacar muestras de tejidos, deberá realizarse un corte desde la parte infe rio

18. Colocar las toallas de papel que fueron usadas como

superficie de disección dentro de una bolsa de seguridad biológica. Desinfectar las superficies de trabajo y los guantes con Lysol ® y colocar las toallas de papel en una bolsa de seguridad biológica.

19. Repetir los pasos 1 a 18 con cada animal.

NOTA: Si bien es mejor tomar muestras de animales capturados vivos, también es posible tomar muestras de animales que hayan muerto recientemente en trampas guillotina. En ese caso, los tejidos deberán sacarse en un plazo de dos horas a partir de la captura o antes si la temperatura es de más de 21º C (70º F). Los órganos se pueden sacar de la misma manera que de animales vivos. Es posible obtener una pequeña cantidad de sangre de los roedores que hayan muerto recientemente, como se describió en párrafos anteriores (B.10).

Figura 17. Un cepillo de inodoro es una herramienta excelente y económica para limpiar la suciedad de los animales y otros desechos de las trampas. Después de

E. Descontaminación de las trampas

1. Preparar un balde plástico de 20 litros que contenga aproximadamente 15 litros de Lysol ® de calidad industrial en una dilución 1:20 y 2 baldes de 20 litros con agua limpia para enjuagar.

2. Luego de sacar al animal de la trampa para anestesiarlo, colocar la trampa, con la puerta abierta, en el balde con Lysol ®. Sacar con un cepillo la materia fecal, material de anidado o cebo de la trampa (figura 17); remojar la trampa en el desinfectante mientras se procesa el animal.

3. Después de anestesiar al segundo animal, sacar la primera trampa del baño de Lysol y colocarla en el primer balde de enjuague. Colocar la segunda trampa en Lysolâ y limpiarla con el cepillo. A medida que se van procesando los animales se transfieren las trampas desde el Lysolâ al primer y segundo enjuagues. Finalmente se coloca la trampa limpia a secar al aire y al sol.

NOTA: Al manipular las trampas, se usarán guantes de goma gruesa sobre los guantes de látex para evitar que los últimos se rompan con las superficies cortantes de la trampa (figura 17).

4. Cuando los baños de Lysol® o los enjuagues comienzan a ensuciarse con desechos de las trampas, se debe eliminar el líquido usado y preparar un nuevo baño. Esto puede hacerse cada 15 a 30 trampas, dependiendo de la limpieza de las mismas.

F. Limpieza

1. Al finalizar el procesamiento del último animal, colocar todos los materiales contaminados, toallas de papel, bolsas plásticas, algodón, coberturas de las mesas y bolsas de anestesia en la bolsa de bioseguridad, la cual se cierra y sella con cinta de autoclave.

2. Si se trabajó en un ambiente cerrado, habrá que abrir las ventanas o prender un extractor para ventilar el área.

3. Limpiar con desinfectante todas las superficies de trabajo, mesa y sillas y todo el equipo de procesamiento que se encuentra sobre la mesa (balanza, mechero de alcohol, marcadores, e incluso la botella pulverizadora de Lysol®).

4. Preparar en una bandeja Lysol® fresco al 5% y, con un cepillo de cerda dura, limpiar minuciosamente todos los instrumentos usados en la disección (figura18). Dejar secar al sol y al aire o secarlos a mano antes de guardarlos.

NOTA: Las técnicas moleculares modernas, como la reacción en cadena de la polimerasa, son tan sensibles que pueden dar resultados positivos falsos cuando una mínima cantidad de ácido nucleico viral o del huésped se traspasa a las muestras subsiguientes.

5. Eliminar el Lysol® usado enterrándolo o vertiéndolo en un desagüe con abundante agua.

6. Sacarse los guantes externos, luego los cubrebotas, la vestimenta y los guantes internos; colocarlos en otra bolsa de bioseguridad y sellarla.

7. Sacarse los respiradores.

8. Lavarse las manos con jabón y agua.

9. La basura contaminada, incluso el recipiente con material punzante, deberá entregarse a un laboratorio u hospital local para descartarlo de acuerdo con las normas locales y estatales.

G. Envío de muestras para pruebas de hantavirus

NOTA: Las muestras deberán ser embaladas de acuerdo con las regulaciones de la Asociación de Transporte Aéreo Internacional para materiales peligrosos, Instrucción de embalaje 650. Al momento de la impresión de este manual, la edición en uso era la número 36, que entró en vigencia en Junio de 1995 (Anexo 8).

1. Las muestras de tejido deberán guardarse a hasta su envío, y las muestras de sangre, a -20 ºC si solamente se van a usar para búsqueda de anticuerpos. Las muestras de sangre también deberán ser guardadas a -70 ºC si se van a usar para aislamiento viral.

2. Antes de enviar cualquier muestra para análisis, habrá que contactar al laboratorio correspondiente para obtener autorización.

3. Las muestras contenidas en los crioviales deberán estar claramente rotuladas con el número único de roedor y el tipo de muestra (sangre, pulmón, riñón, etc).

4. Las muestras deberán ser ordenadas por tipo de tejido y dispuestas en cajas para congelador en orden numérico (figura 19).

5. Embalar las cajas de congelador en bolsa gruesa, doble, con cierre hermético. El interior de la bolsa deberá contener suficiente material absorbente (por ejemplo, toallas de papel) para recoger cualquier fluido proveniente de rotura o pérdida del recipiente primario.

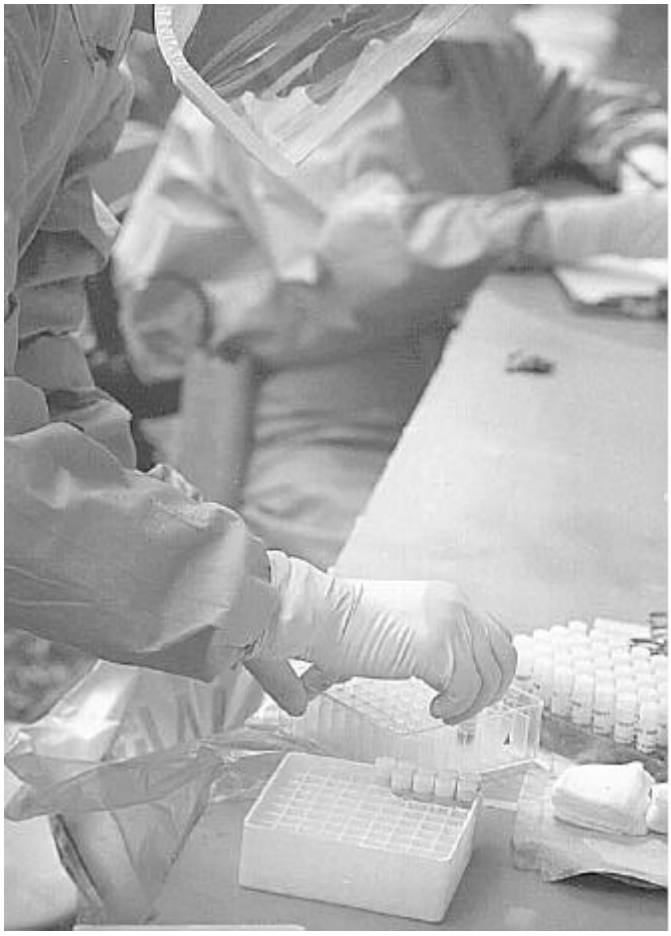


Figura 19. Los crioviales rotulados deberán ser ordenados por tipo de tejido y orden numérico en cajas de congelador para su conservación o envío.

durante el fin de semana.

12. Con cada despacho, se incluirá una lista o un disquete de computadora con la información del embalaje. El mínimo de información que se necesita para cada muestra es: número único de animal, fecha de captura, sitio de captura, especie y tejidos enviados (sangre, pulmón, riñón, etc.).

13. Si las muestras van a ser enviadas a los CDC, dirigirlas a:
    CDC, Attn: SPB, DVRD
    c/o DASH, Bldg. B35
    1600 Clifton Road
    Atlanta, GA 30333
    Teléfono: (404) 639-1115

14. Notificar al laboratorio que las muestras están siendo despachadas e informar sobre la fecha de llegada, el itinerario u otra información para el seguimiento del envío.

H. Preparación de especímenes y archivo

NOTA: Es muy importante que un museo confirme la identificación específica de pequeños mamíferos y contar con especímenes certificados para futura referencia. Los arreglos deberán realizarse por adelantado con el departamento de mamalogía del museo o universidad para que este acepte, identifique y archive los especímenes. El museo puede tener otros requisitos en cuanto a la rotulación, preservación o despacho de

muestras, que no sean las presentados aquí. Pueden realizarse variaciones, pero, por razones de seguridad, no se debe acortar el tiempo de fijación de siete días.

1. Dejar los cadáveres en formalina al 10% durante siete días antes de manipularlos.
2. Si los cadáveres se van a guardar por más de siete días antes de enviarlos al museo o si van a ser conservados por largo tiempo, se seguirá el siguiente proceso: después de siete días en formalina, se enjuagarán los cadáveres por unas cuantas horas o durante toda la noche bajo agua corriente, y luego se colocarán en un recipiente con etanol al 70%.
3. Retirar los cadáveres de la formalina o alcohol y envolver cada animal individualmente en tela húmeda o toalla de papel.
4. Colocar los cadáveres envueltos (individualmente o unos pocos a la vez) en una bolsa doble con cierre
5. Colocar las bolsas dentro de dos bolsas plásticas grandes y empaquetarlas dentro de una caja fuerte para enviarlas con suficiente material de embalaje absorbente.
6. Sellar la caja con cinta de filamentos y despacharla por correo expreso o por correo regular.
7. Informar al museo sobre el envío y hacer el seguimiento para confirmar de que el mismo se recibió.

BIBLIOGRAFÍA

Armstrong, L. R., R. F. Khabbaz, J. E. Childs, P. E. Rollin, M. L. Martin, M. Clarke, R. C. Holman, C. J. Peters, and T. G. Ksiazek.1994. Occupational exposure and infection with a hantavirus among mammalogists and rodent workers. Presented at the 32nd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America, Orlando, Florida, October 7-9, 1994.

Buchstein, S. R., and P. Gardner. 1991. Lyme disease, pp 103-116. in Infectious Disease Clinics of North America. Volume 5, Number 1. Animal Associated Human Infections. (A. N. Weinberg, and M. D. Weber, eds.) W. B. Saunders, Philadelphia.

CDC. 1993. Hantavirus infection—southwestern United States: Interim recommendations for risk reduction. Morbidity and Mortality Weekly Report 42 (RR- 11): 1 - 1.3.

CDC. 1994a. Enzyme immunoassay testing for hantavirus pulmonary syndrome—CDC Course #8300-c, 6-9 December, 1994. Course Notebook.

CDC. 1994b. Laboratory management of agents associated with hantavirus pulmonary syndrome: Interim biosafety guidelines. Morbidity and Mortality Weekly Report 43(RR-7): 1-7.

CDC and NIH. 1993. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication No. (CDC) 93-8395. 3rd Edition. U.S. Government Printing Office, Washington 177 pp.

Childs, J. E., T. G. Ksiazek, C. F. Spiropoulou, G. O. Maupin, K. L. Gage, P. E. Rollin, J. Sarisky, R. E. Enscore, et al. 1994. Serologic and genetic identification of *Peromyscus maniculatus* as the primary rodent reservoir for a new hantavirus in the southwestern United States. Journal of Infectious Diseases 169:l27l-l280.

Childs, J. E., G. E. Glass, G. W. Korch, and J. W. LeDuc.1988. The ecology and epizootiology of hantaviral infections in small mammal communities of Baltimore: A review and synthesis. Bulletin of the Society of Vector Ecology 13:113-122.

Duchin, J. S., F. T. Koster, C. J. Peters, G. L. Simpson, B. Tempest, S. Zaki, T. G. Ksiazek, P E. Rollin, et al.1994. Hantavirus pulmonary syndrome: A clinical description of 17 patients with a newly recognized disease. New England Journal of Medicine 330:949-955.

Elliott, L. H., T. G. Ksiazek, P. E. Rollin, C. F. Spiropoulou, S. Morzunov, M. Monroe, C. S. Goldsmith, C. D. Humphrey, et al. 1994. Isolation of the causative agent of hantavirus pulmonary syndrome. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 51:102-108.

Foucar, K., K. B. Nolte, R. M. Feddersen, B. Hjelle, S. Jenison, J. McLaughlin, D. A. Madar, S. A. Young, et al. 1994. Outbreak of hantavirus pulmonary syndrome in the southwestern United States: Response of pathologists and other laboratorians. American Journal of Clinical Pathology 101 (4 Suppl.1):S1-S5.

Glass, G. E., A. J. Watson, J. W. LeDuc, G. D. Kelen, T. C. Quinn, and J. E. Childs. 1993. Infection with a ratborne hantavirus in US residents is consistently associated with hypertensive renal disease. Journal of Infectious Diseases 167:614-620.

Glass, G. E., A. J. Watson, J. W. LeDuc, and J. E. Childs. 1994. Domestic cases of hemorrhagic fever with renal syndrome in the United States. Nephron 68:48-51.

Goodman, R. A., S. Zaki, A. Khan, M. Kehrberg, and R. F. Khabbaz. 1994 Hantavirus pulmonary syndrome in 1978. Abstract H112a. Presented at the 34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Orlando, Florida, October 4 - 7, 1994.

Hjelle, B., F. Chavez-Giles, N. Torrez-Martinez, T. Yates, J. Sarisky, J. Webb, and M. Ascher. 1994. Genetic identification of a novel hantavirus of the harvest mouse Reithrodontomys megalotis. Journal of Virology 68:6751-6754.

Khan, A. S., C. F. Spiropoulou, S. Morzunov, S. R. Zaki, M. A Kohn, S. R. Nawas, L. McFarland, and S. Nichol.1995. Fatal illness associated with a new hantavirus in Louisiana. Journal of Medical Virologv 46: 281 -286.

LCDC. 1994. First reported cases of hantavirus pulmonary syndrome in Canada. Canada Communicable Disease Report 20:121-125.

LeDuc, J. W. 1987. Epidemiology of Hantaan and related viruses. Laboratory Animal Science 37-413-418.

LeDuc, J. W., G. A. Smith, J. E. Childs, F. P. Pinheiro, J. I. Maiztegui, B. Niklasson, A. Antoniades, D. M. Robinson, et al. 1986. Global survey of antibody to Hantaan-related viruses among peridomestic rodents. Bulletin of theWorld Health Organization 64:139-144.

Lee, H. W., P. W. Lee, and K. M. Johnson. 1978. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. Journal of Infectious Diseases 137:298-308.

Lee, P. W., H. L. Amyx, R. Yanagihara, D. C. Gajdusek, D. Goldgaber, and C. J. Gibbs. 1985. Partial characterization of Prospect Hill virus isolated from meadow voles in the United States. Journal of Infectious Diseases 152:826-829.

Mills, J. N., T. L. Yates, J. E. Childs, R. R. Parmenter, T. G. Ksiazek, P. E. Rollin, and C. J. Peters. 1995. Guidelines for working with rodents potentially infected with hantavirus. Journal of Mammalogy 76:716-722.

Nichol, S. T., C. F. Spiropoulou, S. Morzunov, P. E. Rollin, T. G. Ksiazek, H. Feldmann, A. Sanchez, J. Childs, et al. 1993. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. Science 262:914-917.

NIH. 1985. Guide for the care and use of laboratory animals. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health Publication No. 85-23.

Rollin, P. E., T. G. Ksiazek, L. H. Elliott, E. V. Ravkov, M. L. Martin, S. Morzunov, W. Livingstone, M. Monroe, et al.1995. Isolation of Black Creek Canal virus, a new hantavirus from Sigmodon hispidus in Florida. Journal of Medical Virology 46:35-39.

Song, J. W., L. J. Baek, D. C. Gajdusek, R. Yanagihara, I. Gavrilovskaya, B. J. Luft, E. R. Mackow, and B. Hjelle. 1994. Isolation of pathogenic hantavirus from white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*). Lancet 344:1637.

Spiropoulou, C. F., S. Morzunov, H. Feldmann, A. Sanchez, C. J. Peters, and S. T. Nichol. 1994. Genome structure and variability of a virus causing hantavirus pulmonary syndrome. Virology 200:715-723.

Tsai, T. F. 1987. Hemorrhagic fever with renal syndrome: Mode of transmission to humans. LaboratoryAnimal Science 37:428-430.

Yanagihara, R. 1990. Hantavirus infection in the United States: Epizootiology and epidemiology. Reviews of Infectious Diseases 12:449-457.

Yanagihara, R., and D. C. Gajdusek. 1987. Hemorrhagic fever with renal syndrome: Global epidemiology and ecology of hantavirus infections, pp 171-214. in Medical VirologyVI (L. M. de la Maza and E. M. Peterson, eds). Elsevier, NewYork.

ENFERMEDAD POR VIRUS HANTA EN LA REPÚLICA ARGENTINA

La actividad de los hantavirus en la Argentina se conocía desde la década de 1980. Distintos grupos de trabajo habían informado sobre la presencia de antígenos o anticuerpos en roedores silvestres y de experimentación (Maiztegui JI et al. 1983, LeDuc JW et al. 1985, Weissenbacher MC et al. 1990). También se habían detectado anticuerpos entre personas residentes en diferentes regiones geográficas del país y entre personal de laboratorio (Weissenbacher, MC et al. 1990 y 1996). Estas endemias determinaron el diseño de una estrategia de identificación de casos humanos de infecciones por hantavirus entre los grandes síndromes clínicos o entre los diagnósticos diferenciales donde podrían permanecer no diagnosticados. De esta forma fue posible identificar las tres zonas que, a la fecha, se consideran endémicas para el SPH: Central, Norte y Sur (figura 20). En la zona central (provincias de Santa Fe y Buenos Aires), la búsqueda retrospectiva se relacionó con el Programa Nacional de Lucha contra la Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA), una fiebre hemorrágica causada por el arenavirus Junín. El estudio incluyó a pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas “Dr. Julio I. Maiztegui” (INEVH) durante el período de 1987 a 1994 y permitió que se identificaran casos en la zona desde, al menos, 1987 (Parisi MN et al. 1996).

En la zona norte, en Orán (provincia de Salta), desde principios de la década de 1980, los médicos habían diagnosticado casos de una insuficiencia respiratoria de etiología desconocida, que agruparon bajo el nombre de distrés de Orán. Estudios prospectivos y retrospectivos de los sueros de estos enfermos establecieron que 61% de estos casos eran causados por hantavirosis. El resto de estos casos de distrés fue causado por *Leptospira interrogans* (Cortés J et al. 1994). La última zona endémica identificada fue en el sur. En 1995, a partir de un brote familiar de SPH ocurrido en El Bolsón (provincia de Río Negro), se estableció, por estudios retrospectivos, que se habían registrado casos compatibles con SPH en la zona desde fines de la década de 1980. A partir de un caso fatal de este brote, se identificó genéticamente en la Argentina el primer hantavirus activo en la región: el virus Andes (López N et al. 1996).

Hasta el 17 de octubre de 1997, se habían confirmado 112 casos de SPH en la Argentina provenientes de siete provincias del país (Santa Fe, Buenos Aires, Salta, Jujuy, Río Negro, Chubut y Neuquén) y de la Capital Federal (MSAS). En concordancia con la detección de casos humanos de SPH, se iniciaron estudios transversales de prevalencia de infección por hantavirus en poblaciones de roedores en las tres zonas endémicas, con el fin de identificar las especies que sirven de reservorio al virus. La captura de roedores se realizó en los sitios probables de contagio de los casos humanos y en los hábitats naturales representativos de cada lugar seleccionado. En la región central, se capturaron 5.830 roedores para esta investigación durante el período de 1991 a 1994; esta actividad pasó a formar parte de las investigaciones ecológicas del Programa Nacional de Fiebre Hemorrágica Argentina. En estos estudios se identificó serológicamente infección por hantavirus en diferentes especies de roedores pertenecientes a la subfamilia Sigmodontinae, de la familia Muridae (Levis SC et al. 1996).

Los estudios genéticos de las muestras provenientes de estos roedores, estudiadas en paralelo con las provenientes de los casos humanos, descubrieron otros seis genotipos de hantavirus presentes en la Argentina. De estos, tres son causantes de SPH y se agregan al previamente reconocido Andes, cuyo reservorio es *Oligoryzomys longicaudatus*. Los nuevos genotipos han sido provisoriamente denominados Lechiguanas, cuyo reservorio es el roedor *Oligoryzomys flavescens;* Orán, cuyo reservorio es *Oligoryzomis longicaudatus* y Hu 39694, un hantavirus proveniente de un caso humano, aún sin roedor reservorio identificado. Los tres genotipos reconocidos fueron caracterizados a partir de muestras de roedores y aún no se han encontrado asociados a enfermedad humana; estos incluyen: Bermejo, con reservorio en *Oligoryzomys chacoensis*; Maciel con reservorio en *Bolomys obscurus* y Pergamino, con reservorio en *Akodon azarae* (Levis SC et al. 1997).

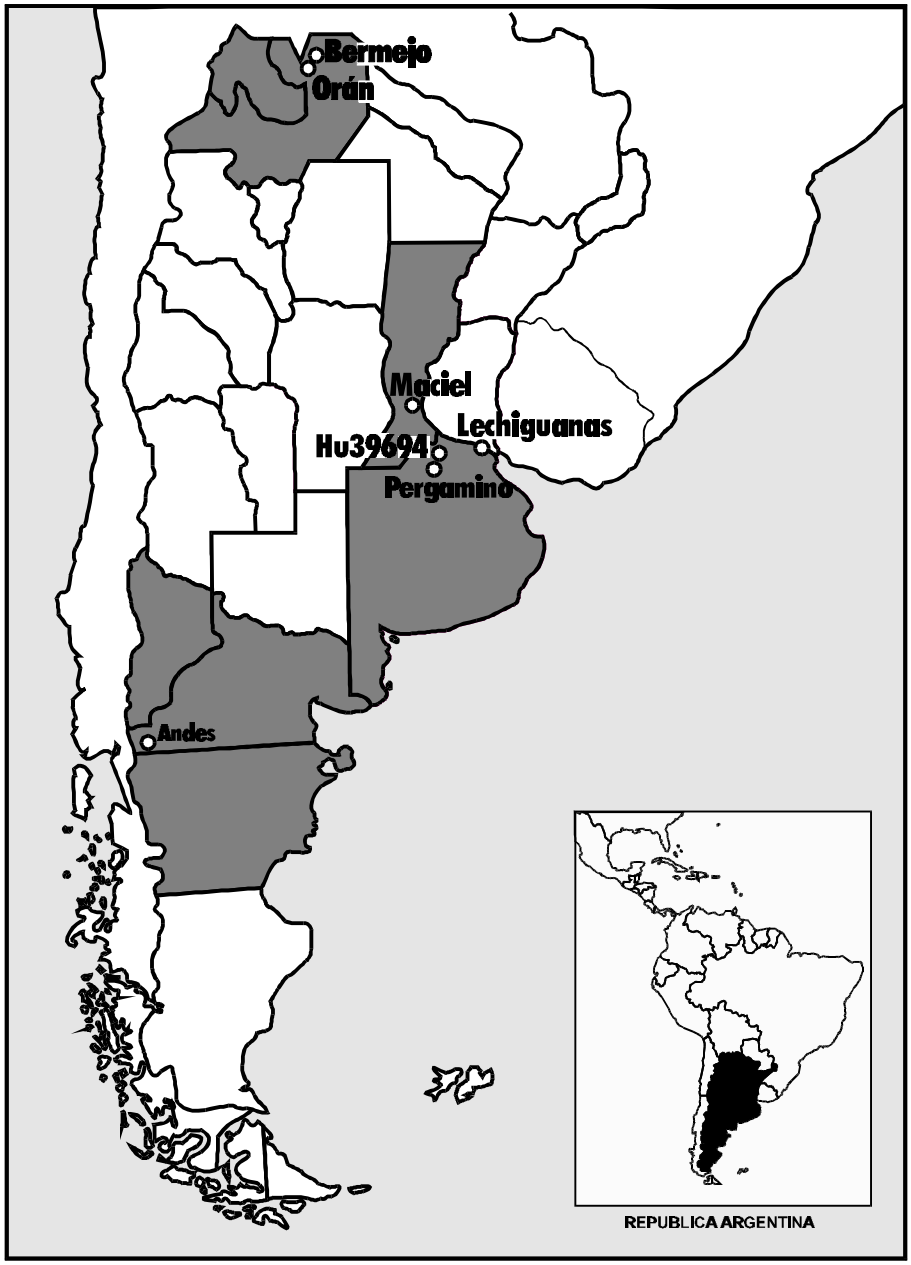


Figura 20. Distribución geográfica de los diferentes genotipos de hantavirus identificados a la fecha en la República Argentina, 1997.

BIBLIOGRAFÍA

Maiztegui, JI, Becker JL, LeDuc JW. Actividad del virus de la fiebre hemorrágica de Corea o virus muroide en ratas del puerto de la ciudad de Buenos Aires. Medicina (Buenos Aires).1983;43:871.

LeDuc JW, Smith GA, Pinheiro FP, et al. Isolation of a Hantaan related virus from Brazilian rats and serologic evidence of its widespread distribution in South America. Am J Trop Med Hyg 1985;34:810-5.

Weissenbacher M, Merani MS, Hodara VL et al. Hantavirus infection in laboratory and wild rodents in Argentina. Medicina (Buenos Aires) 1990;50:43-6.

Weissenbacher M, Cura E, Segura E, et al. Serological evidence of human hantavirus infection in Argentina, Bolivia and Uruguay. Medicina (Buenos Aires) 1996;56:17-22.

Parisi MN, Enría DA, Pini NC, Sabattini MS. Detección retrospectiva de infecciones clínicas por hantavirus en la Argentina. Medicina (Buenos Aires) 1996;56:1-13.

Cortés J, Cacace ML, Seijo A, Parisi MN, Ayala LT. Distrés respiratorio del adulto en Orán, Salta. I Congreso Interamericano de Infectología, Córdoba 9 al 11 de mayo de 1994.

Levis SC, Briggiler AM, Cacace ML, et al. Emergence of hantavirus pulmonary syndrome in Argentina. Am J Trop Med Hyg 1995; (Sup)53(2):233.

Levis SC, Calderón GE, Pini NC, et al. Síndrome pulmonar por hantavirus (SPH): resultados preliminares de estudios orientados a establecer los potenciales reservorios de hantavirus en la Argentina. Abstr. N°144.V Congreso Argentino de Virología. Tandil 21 al 24 de Abril de 1996.

López N, Padula P, Rossi C, Lázaro ME, Franze-Fernández, MT. Genetic identification of a new hantavirus causing severe pulmonary syndrome in Argentina. Virology. 1996 Jun 1; 220(1):223-226.

Levis SC, Rowe JE, Morzunov S, Enría DA, St Jeor S. New hantaviruses causing hantavirus pulmonary syndrome in central Argentina. The Lancet Vol 349.1997

Levis SC, Morzunov SP, Rowe JE, et al. Genetic diversity and epidemiology of hantaviruses in Argentina. Journal of Infectious Diseases. En prensa. 1997.

ENFERMEDAD POR VIRUS HANTA EN CHILE

El síndrome pulmonar por virus hanta en América se describió por primera vez en los Estados Unidos en 1993. La enfermedad se caracterizó por un período prodrómico de corta duración, con fiebre, mialgias y compromiso variable del estado general, seguido de compromiso pulmonar bilateral y síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto. Entre 50 y 75% de los casos evolucionó rápidamente a la muerte (*1*). En caso contrario, se producía un período de recuperación rápida de la insuficiencia respiratoria, reabsorción del tercer espacio producido, hiperdiuresis y normalización de los

Pocas semanas después de la descripción de los primeros casos en el sudoeste de los Estados Unidos, se descubrió el agente etiológico. Un virus, de tipo ARN de la familia *Bunyaviridae*, género *Hantavirus*, una de las cuatro familias capaces de producir fiebre hemorrágica en humanos. A diferencia de los virus descritos en el viejo mundo, los cuales producían fundamentalmente síndrome renal y fiebre hemorrágica, el virus identificado en los Estados Unidos producía síndrome pulmonar. Se descubrió simultáneamente el reservorio primario del virus, el roedor *Peromyscus maniculatus* de la familia *Muridae*, subfamilia *Sigmodontinae*. El virus se denominó virus Sin Nombre (*2*).

Desde entonces, se ha encontrado que numerosos roedores son portadores de distintas variedades de virus Hanta en América; la prevalencia de infección es variable. Por ejemplo, en los Estados Unidos, alrededor del 10% de *Peromyscus maniculatus* está infectado por virus Sin Nombre (*3*), en Argentina, alrededor del 8% de *Oligoryzomis longicaudatus* está infectado por virus Andes. Además, se ha encontrado evidencia serológica de infección en *Olygoryzomis flavescens*, *Akodon azarae* y *Bolomys obscurus* (*4*) (*5*). De los virus descritos, sólo algunos producen enfermedad. Hasta 1997, se había encontrado alrededor de 20 a 21 virus asociados a igual número de roedores; de los virus, aproximadamente 10 tipos causan enfermedad (*3*). A noviembre de 1997, se habían notificado casos de síndrome pulmonar por virus Hanta en los Estados Unidos (174), Canadá (20), Brasil (6), Argentina (111), Paraguay (34), Uruguay (2) y Chile (24) (*5*). En Sudamérica, los primeros casos esporádicos se notificaron en Argentina y Brasil en 1993 y 1994, con epidemias en 1993 en Brasil, en 1996 en Paraguay y Argentina y en 1997 en Chile. Además se ha encontrado que la prevalencia de anticuerpos entre la población general varía desde alrededor de 0,2% en los Estados Unidos, hasta 13% en Paraguay.

En Chile, el primer caso de síndrome pulmonar por virus Hanta fue diagnosticado en octubre de 1995. Desde entonces, hasta noviembre de 1997, se habían descrito 24 casos confirmados. Además se habían notificado 3 casos de enfermedad leve (con manifestaciones sistémicas, pero sin compromiso pulmonar) y números variables de contactos con serología positiva a IgG, sin pruebas de enfermedad. Se describieron 8 casos con síndrome pulmonar entre octubre de 1995 y julio de 1997. A partir de agosto de 1997, se descubrieron otros 15 casos, incluso siete en dos conglomerados familiares.

De los 8 casos que se presentaron antes de agosto de 1997, 5 fueron por contagio producido en la X^{a} Región, 3 en la XI^{a}, y 1 en la VIII^{a} De los 5 casos de la X^{a} Región, 2 tenían residencia habitual en Santiago (Región Metropolitana) y se encontraban en la X^{a} Región de vacaciones. De los 15 casos surgidos a partir de agosto de 1997, 10 corresponden a la XI^{a} Región (Aysén), 2 a la X^{a} Región, 1 a la IX^{a} Región, 1 a la VIII^{a} Región y 1 a la VII^{a} Región. De estos, los casos de la VIII^{a} y IX^{a} Región tenían residencia habitual en Santiago.

Las características de los casos se muestran en el cuadro siguiente:**Cuadro 2: Características de los casos de infección por virus hanta en Chile en dos períodos: antes y a partir de agosto de 1997**

Características	Octubre 1995 a julio 1997	Agosto a septiembre 1997	Total
Número	9	15	24
Porcentaje de hombres	67% (6)	73% (11)	71% (17)
Tasa de letalidad	56% (5)	53% (8)	54% (13)
Edad media	31 años	27 años	29 años
Porcentaje de <17 años de edad	0% (0)	33% (5)	21% (5)

El material de autopsia secuenciado de al menos uno de estos pacientes mostró virus Andes como agente etiológico (*6*).

Un hecho interesante de los casos posteriores a julio de 1997 es la existencia de dos conglomerados familiares. El primero afectó a 3 de 4 miembros de una familia de la localidad de Lago Atravesado, en Aysén; los afectados se enfermaron entre el 23 y el 28 de agosto de 1997. De los enfermos (ambos padres y uno de sus hijos), falleció un hijo de 9 años de edad. El segundo conglomerado correspondió a una familia de la localidad de Cisne Medio, también en Aysén. La secuencia de la enfermedad fue como sigue:

- En julio de 1997, se enfermó el padre de 39 años de edad. Evolucionó con un síndrome febril con insuficiencia respiratoria y murió el 21 de julio. Dados los antecedentes de infestación por roedores, la familia se mudó de la casa al hospitalizarse el padre.
- El 2 de agosto, la madre presentó una enfermedad similar a la de su esposo; se hospitalizó y falleció el día 8 del mismo mes.
- El 9 de agosto, fue hospitalizado un hijo de la pareja de 1 año y 11 meses de edad, por síndrome pulmonar.
- El 18 de agosto, se hospitalizó otro hijo de la pareja, de 12 años de edad. Al igual que su hermano, sobrevivió.
- El 5 de septiembre, se hospitalizó un hermano de la madre, de 37 años de edad, que habitaba en otra vivienda, pero que solía visitar a la familia. Este murió el 11 de septiembre.

El cuadro clínico de los casos de Chile ha sido descrito (*7*). Los signos y síntomas clínicos más relevantes son fiebre > de 38,5 °C (100% de los casos), mialgias, cefaleas, vómitos y diarrea (60%), dolor abdominal (40%) y tos (30%). Al examen físico se observa taquicardia (80%), polipnea (70%), congestión faríngea (70%) y petequias (40%). El hemograma muestra típicamente hematocrito elevado, leucocitosis con desviación a la izquierda y linfocitos atípicos y trombocitopenia. Todos presentan elevación de la deshidrogenasa láctica (> a 405 UI/L). La radiografía de tórax muestra infiltrado pulmonar instersticial bilateral (100%) que evoluciona al relleno alveolar masivo (30%) y derrame pleural (30%). La ecografía abdominal muestra hepatomegalia en 67% de los casos y esplenomegalia, en 33%. Un hecho llamativo es que en tres de los casos el examen de orina mostró hematuria microscópica y cilindruria y, en un caso, proteinuria de 100 mg/dL. Otro hecho que llama la atención es que tres de los niños presentaron petequias y al menos uno de ellos falleció con signos claros de enfermedad hemorrágica. Además, en un niño se detectaron concurrentemente

Como se mencionó anteriormente, en Chile existen al menos tres formas de presentación de la infección por virus Hanta: un grupo de personas presenta anticuerpos de tipo IgG, su hallazgo es accidental, como resultado de la investigación epidemiológica de contactos, pero no presentan evidencia ni historia de enfermedad. Un segundo grupo de individuos (al menos tres), ha desarrollado la enfermedad, sin compromiso pulmonar. Ninguno de ellos ha fallecido. El resto, 24 casos, corresponde a pacientes que desarrollaron síndrome pulmonar; entre estos se dio una alta letalidad.

Esta diversidad de presentación de la enfermedad afecta la definición de caso para efectos de vigilancia epidemiológica. La definición de caso que actualmente se usa en el país corresponde a la de los Centros para el Control y la Prevención de las Enfermedades (CDC). Sin embargo, para efectos de vigilancia, en las regiones con epidemia actual se han ampliado los criterios, con el fin de incluir una nueva categoría de caso en observación. En esta se clasifican aquellos pacientes que presentan historia compatible de enfermedad por virus Hanta (fiebre > 38,5 °C, compromiso del estado general, mialgias, trombocitopenia, antecedentes de contacto con roedores o de vivir en zona endémica) aun cuando al momento del diagnóstico no presenten compromiso pulmonar. Estos pacientes se hospitalizan y se mantienen en observación. Esta acción responde fundamentalmente al hecho de que hay alguna evidencia de que los pacientes que han sobrevivido en el país han recibido tratamiento precoz de su compromiso respiratorio.

Debido a la magnitud del problema, el Gobierno de Chile solicitó, a través de la Organización Panamericana de la Salud, asesoría de los CDC para capacitar a tres profesionales chilenos para establecer el diagnóstico de laboratorio en el país, el cual se hacía generosamente hasta la fecha en la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) de Argentina. Por otra parte, la asesoría apoyaría el estudio de la epidemia en el país.

Desde septiembre de 1997 se empezó a trabajar en conjunto con los CDC. Para el estudio de la epidemia vino al país un equipo de 4 investigadores, 2 especialistas en estudios de roedores y 2 epidemiólogos, los cuales trabajaron conjuntamente con personal de la Organización Panamericana de la Salud, del Ministerio de Salud de Chile, del Servicio de Salud de Aysén y la colaboración de ANLIS de Argentina, que aportó profesionales al equipo. Se efectuó un diagnóstico de situación y se planificaron y ejecutaron los estudios de reservorios y epidemiológicos para describir el problema.

Para la investigación del brote se plantearon los siguientes objetivos:

1. Definir la población en riesgo de infección:

- ¿Cuál es el roedor reservorio del virus en Chile y cómo se distribuye geográficamente?
- ¿Cuál es el tipo de virus presente y la prevalencia de infección en los roedores reservorio?

2. Definir la magnitud de enfermedad

- ¿Cuál es la proporción de población expuesta?
- ¿Cuál es la proporción de población con evidencia de infección?
- ¿Cuántos enfermos hay y qué características tiene su enfermedad?
- ¿Cuántos pacientes mueren y cuáles son los factores pronósticos asociados?

3. Definir los factores de riesgo de la infección y la enfermedad

- Exposición a los roedores
- Exposición a otras personas
- Otras exposiciones

4. Establecer los mecanismos de transmisión de la enfermedad

Debido a que la epidemia estaba afectando fundamentalmente a la XIa Región (Aysén), se visitó dicha zona. Para alcanzar los objetivos se plantearon los siguientes estudios: ecológicos, de seroprevalencia en trabajadores de hospital, de seroprevalencia en la población, de casos y controles y de cohorte retrospectivo, descripción de casos clínicos e investigaciones retrospectivas de casos probables. Estos estudios se encuentran actualmente en distintas etapas de ejecución. Algunos resultados preliminares son:

Estudio de reservorios: se realizó en las localidades de Cisne Medio y Lago Atravesado en Aysén (XIa Región), Paillaco y Valdivia (Xa Región) y Río Clarillo en las afueras de Santiago. Se pusieron un total de 1.748 trampas, de las cuales 316 arrojaron captura. Los porcentajes de captura variaron entre 1,7% (8 de 466) en Río Clarillo, a 37% (89 de 248) en Cisne Medio, donde se ha presentado la mayoría de los casos. Se encontraron anticuerpos en tres especies de roedores*: Oligoryzomis longicaudatus* 13%, *Akodon olivaceous,* 8% y *Abrothrix longipilis* 3%.

Estudio de seroprevalencia hospitalaria: se estudiaron 319 trabajadores del hospital de Coihaique, u 87,3% del total. De estos, 3,8% (12 personas) resultaron positivos para IgG: no hubo diferencia entre el personal que trabajaba con pacientes o que había tenido contacto con pacientes con síndrome pulmonar por Hanta y el personal sin antecedentes de contacto. La tasa de seroprevalencia por actividad es 6,7% para personal de enfermería (1/15); 5,5% para auxiliares paramédicos (127); 4,5% para personal administrativo (2/44), y 3,4% para personal de aseo (2/59).

La mayoría tenía antecedentes de contacto con roedores silvestres en algún momento de su vida.
se hicieron cuatro encuestas de prevalencia: una en Coihaique, zona urbana, capital de Aysén, y tres en zonas rurales. De las últimas, en dos hubo casos (Lago Atravesado y Cisne Medio) y en una no los hubo (El Gato). Las prevalencias fueron 2,0% (3/144) en Coihaique; 5,5% (5/91) y 12,9% (14/108) en Lago Atravesado y Cisne Medio, respectivamente, y 5,6% (5/89) para la localidad rural de control, El Gato.

BIBLIOGRAFÍA

Khan AS., Ksiazek TG., Peters CJ. Hantavirus pulmonary syndrome. The Lancet 1996 (347); 9002:739-741.

Ksiazek TG., Peters CJ, Rollin PE et al. Identification of a new North American hantavirus that causes acute pulmonary insufficiency. Am J Trop Med Hyg 1995;52:117-123.

James Mills, comunicación personal.

Enría D., Padula P., Segura E. et al. Hantavirus pulmonary syndrome in Argentina. Possibility of person to person transmission. Medicina 1996;58:709-711.

Síndrome pulmonar por Hanta en las Américas 1991-1997. Documento de trabajo, Programa de Prevención y Control de Enfermedades Transmisibles. Organización Panamericana de la Salud.

López N., Padula P., Rossi C. et al. Genetic characterization and phylogeny of Andes virus and variants from Argentina and Chile. Virus Res. 1997 Jul;50(1):77-84

Tapia M., Mansilla C., Villalón B., et al Hantavirus Pulmonary Syndrome: Clinical description of an outbreak of ten cases in the XI Region of Aysén, Chile (abstract).

ANEXOS

LISTA DE VERIFICACIÓN DE MATERIALES

(Cantidad mínima para que tres técnicos procesen 100 animales)

ARTÍCULO	CANTIDAD		ARTÍCULO	CANTIDAD	
PREPARACION INICIAL			Mechero de alcohol	1	
Trampas Sherman	300		Etanol al 100%	0,5 L	
Trampas Tamahawk	60		Botella a presión (pizeta)	1	
Cintas deslindadoras	3 rollos		Etanol o alcohol isopropílico al 70%		
			Formulario para registro de tramas		
Bolitas de algodón (en tiempo frío)			Formulario para evaluar el hábitat		
Bolso o mochila para trampas			Tablilla para sostener papeles		
			Nitrógeno líquido o hielo seco y heladera	1	
RECOLECCION/PROCESAMIENTO			Jeringas de 1 cc con aguja		
Bolsas plásticas para recolección			Agujas de 22g; 3.75 cm		
Guantes de goma gruesa					
Cinta blanca para rotular			Pinza larga (30 cm)		
Lápices y sacapuntas					
Respiradores/anteojos o PAPR			Lapicera de tinta indeleble		
Guantes de látex descartables			Recipiente de 4L de boca ancha		
			Cajas de congelador para muestras		
Sillas o banquetas					
Bolsas de cierre hermético (30 cm x 30 cm)	25		Cepillo mango largo (para trampas)		
			Cepillo de cerda (para instrumental)		
			Recipients grandes (para agua)		
			Jabón para las manos		
			Bolsas grandes para basura		
			Bolsas de bioseguridad		
			Cinta de autoclave		
Cuadrados de gasa			Equipo de primeros auxilios		
Balanza Pesola 100g y 1000 g					
			Repelente de insectos		
Recipiente de pared gruesa para instrumentos cortantes o punzantes			Bolsas de cierre hermético (20 x 20 cm)		
Tijera de disección			Guía de mamíferos		
Bandeja para Lysol/instrumental					
Crioviales de 2 ml					
Gradillas para crioviales					
			Fósforos o encendedor		
Botella pulverizadora					

Anexo 2

El siguiente es un ejemplo de un documento completo para transporte de materiales peligrosos, de acuerdo con las regulaciones de envío, Sección 172, del Departamento de Transporte de Materiales Peligrosos de los Estados Unidos

MATERIALES PELIGROSOS

Nombre correcto de envío	Clase de peligro	Número de identificación	Cantidad
Solución de Formaldehído	9	NI 2209	15 L
Cloroformo	6.1	NI 1888	3,5 L

De:
Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades
NCID/DVRD/SPB
MS/G14
1600 Clifton Road
Atlanta, GA 30333

A:
Museo de Biología del Sudoeste
Universidad de Nuevo México
Albuquerque, NM 87131

Anexo 3

FORMULARIO DE RECUENTO DE TRAMPAS

PROVINCIA:			LOCALIDAD:				FECHA:		
Número de línea de trampa	Número de trampas		Número de capturas		Saltada / Vacía		Trampas perdidas		Hábitat/Comentarios
	Sheman	Tomahawk	Sherman	Tomahawk	Sherman	Tomahawk	Sherman	Tomahawk	

Provincia: Loc:_____ Tipo de Comunidad:_____ Fecha:__/__/__
Latitud:_____ Longitud:_____ Elevación:_____metros_____
Tiempo (marcar uno): soleado parcialmente soleado nublado lluvioso Temperatura máxima:_____ºC

Línea de trampa Nº(s):_____ Hábitat:_____

Categoría	Tipo de cobertura	Altura promedio	Especie dominante
Estrato mayor	1 2 3 4 5	_____m	_____
Estrato menor	1 2 3 4 5	_____m	_____
Herbáceas	1 2 3 4 5	_____cm	_____
Paja (mullido)	1 2 3 4 5	_____cm	_____
Tierra pelada/roca	1 2 3 4 5		
Inclinación promedio	_____grados		

OBSERVACIONES: _____
_____

Línea de trampa Nº(s):_____ Hábitat:_____

Categoría	Tipo de cobertura	Altura promedio	Especie dominante
Estrato mayor	1 2 3 4 5	_____m	_____
Estrato menor	1 2 3 4 5	_____m	_____
Herbáceas	1 2 3 4 5	_____cm	_____
Paja (mullido)	1 2 3 4 5	_____cm	_____
Tierra pelada/roca	1 2 3 4 5		
Inclinación promedio	_____grados		

OBSERVACIONES: _____
_____

Línea de trampa Nº(s):_____ Hábitat:_____

Categoría	Tipo de cobertura	Altura promedio	Especie dominante
Estrato mayor	1 2 3 4 5	_____m	_____
Estrato menor	1 2 3 4 5	_____m	_____
Herbáceas	1 2 3 4 5	_____cm	_____
Paja (mullido)	1 2 3 4 5	_____cm	_____
Tierra pelada/roca	1 2 3 4 5		
Inclinación promedio	_____grados		

OBSERVACIONES: _____
_____

Clase de cobertura: 1= <15%; 2= 15 a 40%; 3= 41 a 65%; 4= 66 a 90%; 5= >90%

– objeto para dislocación cervical (por ej. lapicera plástica)

– lapicera con tinta permanente para rótulo
– recipiente de boca ancha con formalina al 10%, de cierre hermético
– guantes de goma gruesa (para manipular y limpiar las trampas)
– cepillo de mango largo para lavar las trampas
– cepillo de cerda para instrumental
– equipo de protección personal (respiradores, anteojos, cubrecalzados, guantes de goma)

Anexo 6

PLANILLA DE DATOS DE AUTOPSIA

PROVINCIA:	LOCALIDAD:	FECHA:	FORMACIÓN NATURAL:

| | | |

Sexo = macho o hembra

Masa = peso más próximo al gramo

Largo T= largo total (cuerpo más cola)

Cola = largo de la cola

Oreja = largo de la oreja

PDT= largo de la pata derecha trasera

Testículos:

E/A = escrotal o abdominal
largo = más próximo al milímetro
ancho = más próximo al milímetro

Epidíd= Epididímo

E/D = enrollado o desenrollado

Vagina: A/C = abierta o cerrada

Pezones:

P/A = pequeños o agrandados
L/N = lactantes o no lactantes

Embriones:

N° = número de embriones
Largo = desde la cabeza a la cola

Cicatrices uterinas = pueden registrarse como presentes, ausentes o número de heridas encontradas

Heridas = presencia o ausencia de cicatrices o heridas (la descripción y ubicación de las cicatrices pueden indicarse en

Obtención de muestras = marcar en la columna correspondiente (sangre, bazo, riñón, hígado, pulmón, otro-01, otro-02)

Comentarios = cualquier cosa inusual o que parezca importante

Anexo 6

Planilla de datos de autopsia. Explicación de términos

Roe.N° = identificación del roedor

Línea = número de línea de trampas (para relacionar con el anexo 4)

Especie = género y especie (abreviado)

Sexo = macho o hembra

Masa = peso más próximo al gramo

Largo T= largo total (cuerpo más cola)

Cola = largo de la cola

Oreja = largo de la oreja

PDT= largo de la pata derecha trasera

Testículos:
- E/A = escrotal o abdominal
- largo = más próximo al milímetro
- ancho = más próximo al milímetro

Epidíd= Epididímo
- E/D = enrollado o desenrollado

Vagina: A/C = abierta o cerrada

Pezones:
- P/A = pequeños o agrandados
- L/N = lactantes o no lactantes

Embriones:
- N° = número de embriones
- Largo = desde la cabeza a la cola

Cicatrices uterinas = pueden registrarse como presentes, ausentes o número de heridas encontradas

Heridas = presencia o ausencia de cicatrices o heridas (la descripción y ubicación de las cicatrices pueden indicarse en

Obtención de muestras = marcar en la columna correspondiente (sangre, bazo, riñón, hígado, pulmón, otro-01, otro-02)

Comentarios = cualquier cosa inusual o que parezca importante

Anexo 7

PROVEDORES DE EQUIPO ESPECIAL PARA CAPTURA Y PROCESAMIENTO DE ROEDORES

Item y proveedor	N° de catálogo
• Trampas de captura viva, plegables, construidas con aluminio grueso. Medidas: 8x9x22 cm (3x3,5x9 pulgadas) H.B. Sherman Trap Company P.O. Box 20267 Tallahassee, FL 32316 850 575-8727	LFA-AD
• Trampas de captura viva, plegables, de malla de alambre. Medidas: 41x13x13 cm (16x5x5 pulgadas) Tomahawk Live Trap Company P.O. Box 323 Tomahawk, WI 54487 715 453-3550 (pedidos solamente) 800 272-8720	201
• Viales criógenos	222-3902-085
• Gradillas para viales criógenos Evergreen Scientific 2300 East 49th St PO Box 58248 Los Angeles, CA 90058-0248 800 421-6261	240-3919-Y80
• Caja para conservación de muestras en congelador (de zylar resin®). Capacidad 81 viales USA/Scientific Plastics P.O. Box 3536 Ocala FL 34478 800 522-8477	2381-5300
• Metofane Pittman-Moore 421 Holly St Mundelein, IL 60060 800 525-9480	55685
• Ketamina	AVC50425
• Rompun (Xilazina-20; 20 mg/ml) The Butler Company 6145-J Northbelt Parkway Norcross, GA 30071 404 441-2323	WAB10945
• Desinfectante Lysol ®a granel, de uso profesional PRO Brands Rickitt and Colman	2500-000

1655 Valley Road
Wayne, NJ 07474
800 677-9218

- Balanza Pesola con clip para sostener el animal, 100g x lg 93537
- Balanza Pesola con clip para sostener el animal l kg x 10g 93540

Forestry Suppliers, Inc.
PO Box 8397
Jackson, MS 39284-8397
800 647-5368

- Máscara respiradora de media cara WS-11291
- Cartuchos con filtros HEPA, paquete de 4 unidades WS-11299
- Anteojos protectores de salpicaduras, sin aberturas WS-11568

Lab Safety Supply Inc.
PO Box 1268
Janesville, WI 53547-1368
800 356-0783

- Equipamientos y accesorios marca Racal:
- Air-mate HEPA 10 (sistema completo, nuevo modelo) 231-01-19

O:

- Unidad turbo y paquetes de filtros 520-02-02
- Cubre cabeza de Tyvex Breathe-Easy 12,con manguera extra larga (3 por paquete, especificar medida) 520-03-07
- Batería 520-01-17
- Filtro medio, tipo P3 HEPA (paquete de 6 unidades) 450-00-01R12

RACAL Health and Safety Inc.
Attn: Jim Elliott
7305 Executive Way
Frederick, MD 21701-8368
800 682-9500

- Tiras de papel de filtro, Nobuto caja de 100 unidades 800700

Microfiltration Systems
6800 Sierra Court
Dublin, CA 94568
510 828-6010

- Heladeras de espuma plástica con caja de cartón para su envío (en varios tamaños)

Polyfoam Packers Corporation
2320 Foster Ave.
Wheeling, IL 60090-6572
800 323-7442

- Cinta adhesiva para los crioviales (una hoja para impresora laser printer o de propulsión de tinta). Especificar «Cryoresistant labels, laserjet/die cut design, 70 labels/sheet. Design supplied by Special Pathogens Branch, Centers for Disease Control and Prevention (Reference purchase order 9375163).»

Avery Dennison Corporation

ATTN: Nicole Martin (extension 354)
685 Howard St.
P.O. Box 550
Buffalo, NY 14240
800 283-7904

• Etiquetas adhesivas para crioviales (pinfeed, para impresora de matriz), 3 cm x 4,25 cm (1 1/16x 11/16 pulgadas). Especificar «labels with superstick removable adhesive,» Stock number BDP-CHC-30.

Shamrock Scientific Specialty Systems, Inc.
34 Davis Dr.
Bellwood, IL 60104
800 323-0249

• Existen varios programas de computación para imprimir etiquetas como las descritas en los puntos anteriores por medio de impresoras laser, de propulsión de tinta o "dot matrix". El programa usado en los CDC es «Bear Rock

Bear Rock Technologies Corp.
4140 Mother Load Dr., Suite 100
Shingle Springs, CA 95682-8038
800 232-7625

• Heparina, 1000 unidades, botellas de 10 mL 005371

AJ Buck
11407 Cronhill Dr.
Owings Mills, MD 21117
800 638-8672

El resto de los materiales que recomienda este manual se pueden obtener localmente o se pueden ordenar de cualquier proveedor de productos de laboratorio. Los tubos capilares para el sangrado ocular tienen amplia disponibilidad. El único requisito para estos es que se encuentren heparinizados. Nosotros utilizamos dos proveedores:

Baxter Healthcare
Scientific Products Division
525 W. 21st Street
Tempe, AZ 85282
800 545-6777

Fisher Scientific
800 622-6048 (call for local address)

Anexo 8

El siguiente texto se extrajo de las Regulaciones de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo para materiales peligrosos. Instrucción de embalaje 650, 36° edición, Montreal,1995.

Requerimientos generales

El transporte de productos biológicos y muestras para diagnóstico con relativamente baja probabilidad de que contengan sustancias infecciosas (puede considerarse como parte de esta categoría a las muestras para diagnóstico por exámenes de rutina o para diagnóstico inicial) deberá cumplir con estas reglamentaciones. Habrá que asegurarse también de que los envíos sean preparados de manera tal que puedan llegar a destino en buenas condiciones y que no representen ningún peligro a personas o animales durante el transporte. El embalaje deberá incluir:

650(a) los embalajes interiores comprenden:

• *recipiente(s) primario(s) a prueba de escape*: por cada embalaje, la cantidad máxima de productos biológicos no deberá exceder de 50 ml; para muestras diagnósticas, no deberá exceder los 100 ml; *un embalaje secundario a prueba de agua*: cuando se usan receptáculos primarios frágiles, la cantidad máxima de productos biológicos no deberá exceder los 50 ml. Cuando se usan receptáculos más fuertes, la cantidad máxima no deberá exceder los 100 ml. Para especímenes diagnósticos, la máxima cantidad por embalaje no material absorbente: deberá colocarse entre el primer receptáculo y el segundo embalaje. Si se deben colocar varios receptáculos primarios en un solo embalaje secundario, deberán envolverse individualmente El material absorbente (por ejemplo, algodón) deberá ser suficiente para absorber todo el contenido de todos los

650(b) un embalaje exterior de grosor adecuado para la capacidad, peso y uso pensado.

Una vez completamente embalado, el paquete deberá poder resistir, como mínimo, una prueba de caída de 1,2 m sobre una superficie dura y rígida, sin dejar salir el contenido.

El receptáculo primario o el embalaje secundario usado para productos biológicos o muestras para diagnóstico deberán ser poder resistir, sin escapes, una presión interna que produzca una presión diferencial de no menos de 95 kPa (0,95 bar, 6,3 kg/2,5 cm_2) entre -40 °C y +55 °C.

Los paquetes consignados como carga deberán tener, por lo menos, 100 mm de tamaño en su dimensión externa más
Deberá incluirse una lista detallada del contenido del paquete entre el embalaje secundario y el embalaje exterior.

Cada paquete y la hoja de ruta aérea de la caja deberán decir ”PRODUCTOS BIOLÓGICOS” o “MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO” y la naturaleza y cantidad de materiales. NO RESTRINGIDO, EMBALAJE DE ACUERDO CON

No se requiere una Declaración para Mercaderías Peligrosas.

Salvo en casos excepcionales (por ej. el envío de órganos enteros puede requerir embalaje especial), la gran mayoría de productos biológicos y muestras para diagnóstico pueden y deben ser embaladas según las siguientes pautas:

Sustancias enviadas a temperatura ambiente o más altas: los receptáculos primarios incluyen aquellos de vidrio, metal o plástico. Se deberán tomar medidas adicionales, tales como sellado a prueba de pérdidas (por calor, ganchos de metal).

Si se usan tapas de rosca, éstas deberán ser reaseguradas con cinta adhesiva.

Envío de sustancias refrigeradas o congeladas (hielo, hielo seco o refrigerantes):

fuera del embalaje secundario. Se deberá agregar algún soporte interior para asegurar que el embalaje secundario permanezca en su posición original después de que el hielo o hielo seco se ha disipado. Si se usa hielo, el embalaje deberá ser hermético. Si se usa hielo seco, el embalaje exterior deberá permitir la salida del gas dióxido de carbono. El recipiente primario deberá mantener su integridad a la temperatura de refrigeración, así como a las temperaturas y presiones del transporte aéreo, en caso de que se perdiera la refrigeración deberán usarse recipientes plásticos, en vez de recipientes de vidrio, capaces de resistir temperaturas muy bajas. El embalaje secundario también deberá resistir temperaturas muy bajas y en la mayoría de los casos necesitará ser acomodado sobre los recipientes primarios individuales. También deberán observarse los requerimientos para envío de nitrógeno líquido. El recipiente primario deberá mantener su integridad a la temperatura de refrigeración así como a las temperaturas y presiones del transporte aéreo, a las que el recipiente podrá

Sustancias liofilizadas: los recipientes primarios deberán consistir de ampollas de vidrio selladas por calor o viales de