

## RED DE LABORATORIOS DE RESPUESTA (RLR)

### Lineamientos para la Identificación de la toxina de *Clostridium botulinum* en laboratorios de nivel A.

- I. **Generalidades:** Los procedimientos que se describen enseguida, están diseñados para asegurar la toma y distribución apropiada de muestras apropiadas a los laboratorios de pruebas designados.

**Precauciones:** Refiérase al Procedimiento para la Seguridad y Descontaminación de Laboratorio.

#### II. Muestra

A. Tipos de muestras aceptables

1. Muestras clínicas
2. Muestras post mortem
3. Cultivos o aislamientos
4. Muestras de alimentos sólidos o líquidos
5. Muestras ambientales

B. Criterio de rechazo

1. Documentación incompleta: Todas las muestras deben de incluir el nombre y teléfono del remitente para contactarlo con relación al reporte preliminar e información adicional.
2. Embalaje y envío inapropiado.
3. No envíe muestras a un laboratorio RLR de mayor nivel sin previa autorización

#### IV. Materiales

- A. **Medios de cultivo:** Medios de cultivo (carne picada o equivalente); siga los procedimientos estándares del laboratorio

B. **Materiales misceláneos**

1. Frascos Port-A-Cul (Becton Dickinson catálogo #4321609) o equivalente
2. Contenedores a pruebas de fugas (por ejemplo: Bolsas de plástico selladas y otros contenedores de plástico)
3. Vaselina de petróleo o petrolatum (Fisher Scientific catálogo #P661LB), o equivalente (por ejemplo: Vaselina)
4. Agua estéril no bacteriostática
5. Materiales de embalaje: Refiérase al Procedimiento de Envío

**Aviso de No Endoso:** Los nombres comerciales o de fabricantes de productos que se mencionan en este protocolo, se proporcionan como ejemplos de fuentes de productos adecuados; su alusión no implica la recomendación de uso, sugerencia o endoso alguno por parte de ninguna de las siguientes instituciones: CDC (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los EE.UU.), el DHHS (Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.), o el FBI (Buró Federal de Investigaciones).

- V. **Control de calidad:** Utilice los criterios y procedimientos estándares del laboratorio.

#### VI. Procedimiento:

- A. **Toma de la muestra:** Tome las muestras de acuerdo a los procedimientos establecidos del laboratorio.

1. Heces: Coloque una cantidad de heces del tamaño de una nuez inglesa en un contenedor irrompible y etiquételo cuidadosamente. La evidencia confirmatoria de

botulismo se puede obtener de muestras de heces de 10 a 50 g. Se ha confirmado botulismo en muestras de heces de infantes del tamaño de un chícharo.

2. Enema: Coloque aproximadamente 20 ml de líquido extraído por enema en un contenedor estéril, irrompible y etiquételo cuidadosamente. Si se aplica el enema debido a una constipación; una mínima cantidad de fluido (preferiblemente estéril y en agua no bacteriostática) se debe de usar para obtener una muestra que contenga material con la toxina sin que ésta se diluya innecesariamente.
3. Vómitos y aspirados gástricos. Coloque 20 ml en un contenedor estéril e irrompible y etiquételo cuidadosamente.
4. Suero: Use tubos de tapón rojo o separador sin anticoagulante para obtener suero. Las muestras se deben de obtener tan pronto como se presenten los síntomas pero antes de administrada la antitoxina. Se debe extraer suficiente sangre para proveer al menos de 10 ml de suero para pruebas de toxicidad en ratones (usualmente 20 ml de sangre completa); volúmenes menores a 3 ml de suero darán resultados inconclusos. No se harán envíos de muestras de sangre completa dado que típicamente durante la transportación ocurre una excesiva hemólisis.
5. Tejidos o exudados: Colóquese dentro de un contenedor irrompible y estéril y etiquételo cuidadosamente. La muestra se deberá colocar en un frasco Port-A-Cult (Mena 1978) y envíese al laboratorio apropiado, preferentemente sin refrigeración para intentar el aislamiento de *C. botulinum*.
6. Post mortem: Obtenga muestras intestinales de diferentes niveles de ambos intestinos. Coloque 10 g. Por muestra en un frasco estéril e irrompible etiquetado cuidadosamente. Obtenga ya sea contenido gástrico, suero, tejido o muestras de tejidos siempre y cuando sea apropiado (refiérase a los puntos A.3, 4 y 5 arriba)
7. Cultivo: Envíe cultivos aislados sospechosos anaeróbicamente (cubra el medio líquido con una capa de 2 pulgadas de gel de petróleo estéril; fundase previamente para cubrir el cultivo. Los cultivos se pueden enviar a temperatura ambiente o refrigerados.
8. Muestras de alimentos: Los alimentos se deben de dejar en su contenedor original de ser posible o colocarse en contenedores estériles e irrompibles etiquetados cuidadosamente. Coloque los contenedores individualmente a prueba de fugas (por ejemplo: bolsas plásticas selladas) para prevenir la contaminación cruzada durante su transportación. Los contenedores vacíos con restos de alimentos sospechosos se pueden examinar.
9. Muestras con hisopos (ambientales o clínicos): Envíe los hisopos clínicos en un medio de transporte anaeróbico (por ejemplo: Tubos Port-A-Cult) (Mena 1978). Los hisopos ambientales (de los cuales se pueden aislar esporas) se pueden enviar en contenedores plásticos sin medio alguno. Los hisopos se pueden enviar a temperatura ambiente o refrigerados. Tome muestras con 3 a 4 hisopos de cada lugar potencial.
10. Muestras ambientales: Tome el tamaño de muestra que se indica enseguida para cada posible ubicación
  - (1) Suelo (50-100 g)
  - (2) Agua ( $\geq$  100 ml)

**B. Envíos:** Refiérase al Procedimiento de Envíos. Complete y anexe la documentación apropiada

1. Las muestras que se envíen a laboratorios distantes se deberán colocar en recipientes estériles y libres de fugas y luego en contenedores aislados de envío con refrigerante (hieleras selladas o bolsas térmicas para frío) etiquetados con la frase: "PELIGRO BIOLÓGICO, EMERGENCIA MEDICA, REFRIGÉRESE AL ARRIBAR" ("MEDICAL EMERGENCY BIOLOGICAL HAZARD, REFRIGERATE ON ARRIVAL") y deberá ser enviado por los medios más rápidos disponibles. La mayor parte de las aerolíneas cuentan con un servicio especial de manejo de

paquetes para envíos expeditos. No se use el servicio postal federal. Envíese como materiales peligrosos.

2. Si un retraso ineludible de varios días se anticipa; las muestras (suero o heces) se deberán mantener congeladas mediante hielo seco, empacadas en un contenedor aislado térmicamente y con el material de amortiguamiento apropiado para envíos (espuma de poliestireno). El congelamiento no afecta significativamente la estabilidad de la toxina botulínica en las muestras; la congelación no reduce la probabilidad de recuperación de *C. botulinum*. Dado que la detección directa de la toxina botulínica proporciona la mejor confirmación de botulismo por parte del laboratorio, se le debe dar prioridad a la conservación de la toxina formada antes de la transportación.
3. El laboratorio receptor deberá notificar vía telefónica con anticipación, en relación a cómo y cuándo se deben enviar las muestras y cuándo llegarán.
4. Envíe la historia clínica y sintomatología del paciente para referenciar al laboratorio con las muestras.

## **VII. Reportes y acciones**

- A.** Consulte al director (o su representante en funciones) del laboratorio estatal de salud pública, si se sospecha el *C. botulinum*.

**B. Instrucciones generales e información**

1. Preserve la muestra original en apoyo a una potencial investigación criminal y una posible transferencia al laboratorio apropiado del tipo RLR como se indica.
2. Las muestras ambientales o no clínicas y las muestras y eventos anunciados no se deberán recibir por un laboratorio de nivel A; el remitente debe contactar directamente al laboratorio estatal de salud pública.
3. El laboratorio o el departamento estatal de salud pública coordinará la notificación a los agentes federales de investigación local, tal como es apropiado.
4. Coadyuve con los esfuerzos de la procuración de justicia y conjuntamente reciba orientación del laboratorio estatal de salud pública.
5. El buró federal de investigaciones, el laboratorio y el departamento de salud pública del estado, coordinarán la transferencia de muestras y cultivos aislados a un laboratorio apropiado y de más alto nivel del tipo RLR.

- C.** En coordinación con el laboratorio estatal de salud pública; el laboratorio puede contactar al Centro de Control de Enfermedades y Prevención (CDC en los EE.UU.) apropiadamente.

1. En los Estados Unidos el teléfono de emergencia, siete días de la semana y 24 horas al día es el (770) 488-7100
2. En los Estados Unidos el teléfono del Laboratorio Nacional de Referencia y Vigilancia del botulismo es el (404) 639-3867

## **VIII. Limitaciones**

- A.** Si el paciente se le ha estado administrando medicamentos que puedan interferir con los ensayos de toxinas y cultivo de heces, el laboratorio deberá ser notificado. Por ejemplo: se ha demostrado que drogas tomadas oralmente por pacientes para miastenia gravis puede interferir con los ensayos de extractos de toxinas botulínicas practicados en ratones (Horwitz 1976)
- B.** La obtención de células viables a partir de muestras prueba ser frecuentemente difícil. El manejo, empaqueo, y envío apropiado mejora la probabilidad de recuperar células viables.

## IX. Notas de procedimiento

### A. Muestras sugeridas basadas en la forma de botulismo

1. Provenientes de alimentos
  - a. Material clínico: Suero, contenido gástrico, vómito y heces obtenidas mediante enema con agua estéril.
  - b. Muestras de autopsia: Contenido intestinal y contenido gástrico (suero si esta disponible)
  - c. Muestras de alimento
2. Infantes
  - a. Heces
  - b. Obtenidas mediante enema con agua estéril
  - c. Suero: A pesar de que es raro; la toxina circulante se puede detectar en infantes con botulismo. El envío de otras muestras no se debe retardar mientras se espera para obtener muestras de suero.
  - d. Muestras post mortem: Contenido intestinal de diferentes niveles de los intestinos grueso y delgado.
  - e. Muestras ambientales y de alimentos, según sea apropiado para la investigación.
3. Heridas
  - a. Suero
  - b. Exudado, tejido o muestras de heridas con hisopos transportadas en un medio de transporte anaeróbico
  - c. Heces obtenidas mediante enema con agua estéril ( la herida puede ser no la fuente)
  - d. Un cultivo aislado sospechoso de ser *C. botulinum* ( manténgase bajo condiciones aeróbicas)
4. Liberación intencional de toxina (por inhalación o ingerida)
  - a. Suero
  - b. Heces obtenidas mediante enema con agua estéril
  - c. Alimento sólido o líquido
  - d. Hisopo nasal o muestra ambiental
  - e. Aspirado de contenido gástrico

### B. Información relacionada con la muestra

1. Alimentos
  - a. Los alimentos en los que se espera que se desarrolle con mayor probabilidad *C. botulinum*, son aquellos que tienen un rango general de pH de 3.5 a 7.0, siendo un rango de pH más común el de 5.5 a 6.5. Sin embargo los alimentos en los que se sospecha la presencia de *C. botulinum*, independientemente de su pH; podrían ser examinados, dado que condiciones ambientales localizadas que pudieron estar presentes en el alimento, podrían sostener el desarrollo de *C. botulinum*.
  - b. La toxina botulínica en productos comerciales es rara. El laboratorio estatal de salud pública deberá notificar a la administración federal de alimentos (en los Estados Unidos la FDA al teléfono (301) 443-1240), si se sospecha que un producto comercial se encuentra contaminado con la toxina botulínica.
2. Heces: *C. botulinum* ha sido aislado de muestras de heces fecales obtenidas seguidamente del tratamiento con antitoxinas.