

# CURSO DE SEGURIDAD Y PREVENCIÓN DE RIESGO 2024



ADRIANA DELFRARO  
Prof. Agregada de VIROLOGÍA  
Facultad de Ciencias



- Toma y procesamiento de muestras para estudios virológicos. Captura de fauna. Métodos, precauciones.
- Protección personal en el campo
- Bioseguridad: traslado y acondicionamiento de muestras.
- Bioseguridad: procesamiento en el laboratorio
- Bioseguridad: de-contaminación y/o descarte de productos y materiales.

# Ciclos biológicos de los virus

## Disease mechanisms

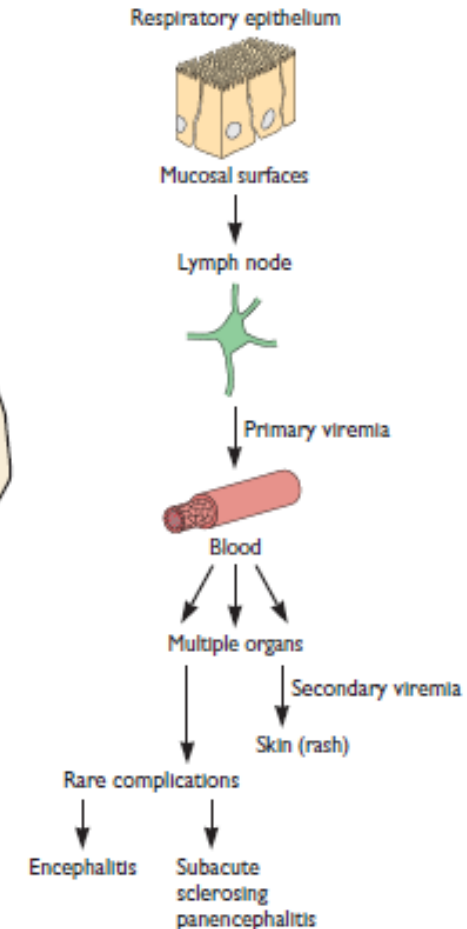
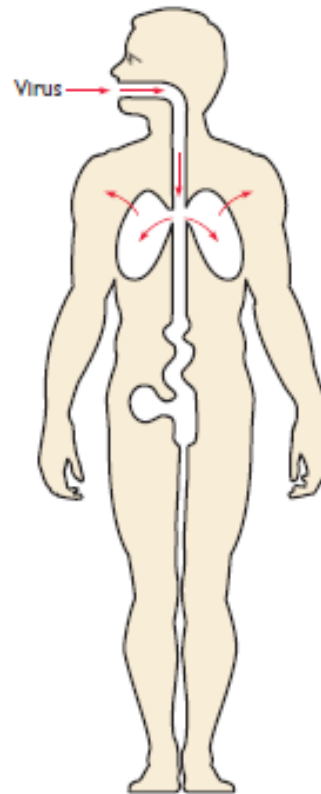
Infects epithelial cells of respiratory tract, spreads in lymphocytes and by viremia

Replicates in conjunctivae, respiratory tract, urinary tract, lymphatic system, blood vessels, and central nervous system

T-cell response to virus-infected capillary endothelial cells causes rash

Cell-mediated immunity is required to control infection

Complications are due to immunopathogenesis (postinfectious measles encephalitis) or viral mutants (subacute sclerosing panencephalitis)



Ej. : virus respiratorios,  
Rhinovirus

El único hospedero es el hombre

# Cómo proceso las muestras en el laboratorio?

- Colecta de muestras:
- Sangre
- Saliva
- Secreciones respiratorias
- Orina, heces











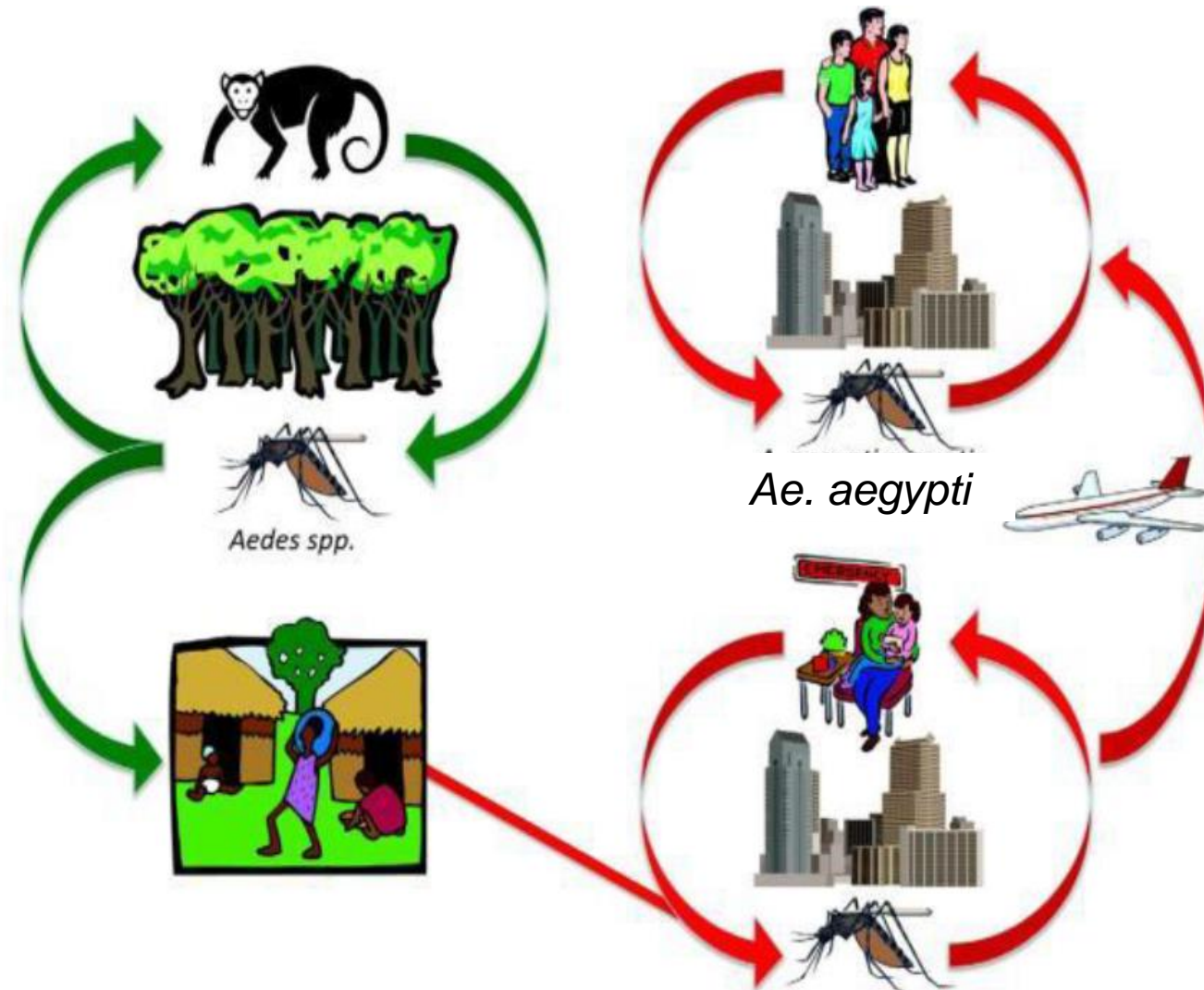
Para el estudio de virus que son transmitidos por animales de nuestra fauna (mamíferos, artrópodos, etc..) es muy importante realizar **campañas de trampeo/captura** y tomar muestras para buscar evidencias de infección.

*Requerimiento esencial para animales vertebrados:*

**CEUA (Comisión de Ética en el Uso de Animales)  
de cada Facultad**

Comisión Honoraria de Experimentación Animal (UdelaR) o  
Comisión Nacional de Experimentación Animal (otras instituciones)

# Ciclos biológicos de los virus





# Ciclos biológicos de los virus



Roedor persistentemente infectado

Transmision a través de comportamiento agresivo  
intraspecífico



Orina aerosolizada  
Contacto dircto con roedores  
infectados



Virus también presente en  
saliva y heces

Síndrome pulmonar por hantavirus (SPH), arenavirus, alfavirus



## CONSIDERACIONES:

qué tipo de virus estoy buscando?

Hay vacuna?

Posee alta morbi-mortalidad?

cómo se transmite?

Via aérea? contacto directo? A través de heridas en la piel? Utiliza algún vector (ej. mosquito, garrapata?)

Pero cuidado...**LO CONOCIDO....VS LO DESCONOCIDO!!!**

# Algunos ejemplos....

- *HANTAVIRUS:*
- NO existe vacuna
- Transmitidos por vía aérea a través de EXCRETAS (orina, materia fecal) Y/O CONTACTO DIRECTO con roedores (ratas y ratones)
- Enfermedad grave con alta mortalidad



Quando se hace un muestreo en zonas donde circula este virus (ej: donde se registran casos humanos) debo hacerlo bajo estrictas normas de bioseguridad

- Protección personal
- Laboratorio de campo para procesamiento de la captura
- Normas y protocolo de desinfección en el campo
- Procesamiento y traslado de muestras y carcasas de animales. Almacenamiento.
- Tratamiento de los residuos al llegar laboratorio de virología

...antes de salir al campo.....

**PACKING CHECKLIST**

(minimum quantities for 3 technicians to process 100 animals)

ITEM	AMT	ITEM	AMT
<b>SET-UP</b>		Alcohol burner	1
Sherman traps	300	100% Ethanol	1 pt
Tomahawk traps	60	Squeeze bottle	1
Surveyor's flagging	3 rls	70% Ethanol or Isopropyl alcohol	1 pt
Bait	4 lbs	Trap tally forms	5
Cotton balls (in cold weather)	300	Habitat assessment forms	12
Sack or shoulder bag for traps	3	Clipboard	1
		LN2 or cooler & dry ice	1
<b>COLLECTION/PROCESSING</b>		1-cc syringes with needles	100
Pencils	3	3-cc syringes	50
Plastic collection bags	200	22 g, 1.5 inch needles	50
Heavy rubber gloves	7 prs	Heparin	1 btl
Tape, white labeling	3 rls	Large (12") forceps	1
Sharpies or pens	3	Foot tags	100
Respirators/goggles or PAPRs	3	Pen with indelible ink	2
Surgeon's gowns	9	10% Formalin	2 gal
Latex surgeon's gloves	1 box	Wide-mouth carboys, 1 gallon	2
Shoe covers	9 prs	Freezer boxes for samples	10
Tent or tarp	1		
Folding table	1	<b>CLEANUP</b>	
Chairs or stools	3	Buckets, 5 gallon	3
Zip-lock bags (12" x 12")	25	Long-handle brush (for traps)	1
Labels: Blood	100	Scrub brush (for instruments)	1
Spleen	100	Large carboys (for water)	2
Kidney	100	Hand soap	1
Liver	100	Large trash bags	10
Lung	100	Biohazard bags	10
Other	100	Autoclave tape	1
Metofane	2 btl		
Ketamine:Xylazine	1 btl	<b>MISCELLANEOUS</b>	
Gauze squares	200	First aid kit	1
Pesola scales, 100 g & 1000 g	1 ea	Trunks for equipment	4
Rulers, millimeter	2	Insect repellent	1
Paper towels	300	Drinking water	
Capillary tubes	200	Flashlight	2
Sharps container	1	Small zip-lock bags (8" x 8")	25
Dissecting scissors	50	Mammal guide	1
Forceps	50	Computer	1
Tray for Lysol/instruments	2	Tape measure	1
Cryovials (2 ml)	600	Maps	
Cryovial racks	5	Magnifying lens	1
Lysol	1 gal	Matches or lighter	2
Spray bottle	1		



**SECCIÓN  
VIROLOGÍA**  
FCIEN | UDELAR



# Trampeo



Trampas Sherman para captura de pequeños mamíferos



SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCIEN | UDELAR







SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCIEN | UDELAR

Colocación de trapas (con cebo)  
en ambientes diversos

Inspección y recolección de trampas



(\*botas, ropa de trabajo, guantes de látex grueso)





SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCIEN | UDELAR



# Preparación del laboratorio de campo:

- Mesa, bancos, lona (en caso de lluvia)
- Material para colecta de muestras: tubos, rotuladores, , jeringas, capilares, gradillas
- Balanza (Pesola<sup>®</sup>), regla, planilla de captura (datos morfométricos)
- Material de disección: tijeras, bisturíes, bandeja, etc
- Desinfección y conservación: etanol 70% , hipoclorito 10%, formol 10%, detergente
- Algodón, gasa, cinta adhesiva, cepillos
- Guía de mamíferos
- Anestesia (Metofane<sup>®</sup> o similar)
- Recipientes para descarte de punzantes y para desinfección de material quirúrgico
- N<sub>2</sub> líquido
- Baldes (limpieza de trampas, conservación de carcacas)



# TRAJE DE PROTECCIÓN PERSONAL

- Material: Tyvek®
- Filtros HEPA
- Presión positiva
- Doble guante de látex, cinta


***¡Importante!***

Desinfección externa del traje con hipoclorito 10%  
luego de cada jornada de procesamiento de muestras





# Importante:

- Cómo extraer las muestras (esterilidad)
- Cómo conservarlas adecuadamente para los estudios virológicos
- CADENA DE FRÍO: N<sub>2</sub> líquido (tejidos)  
refrigerante (sueros)  
  
freezer (-20°C, -80°C)
- Carcasas EN SOLUCIÓN DE FORMOL 10%

***Cuidado!!..***

*Cuando llego con mi muestreo: circular con precaución, utilizar cajas contenedoras. En lo posible, circular por escaleras..*



# Cómo proceso las muestras en el laboratorio?



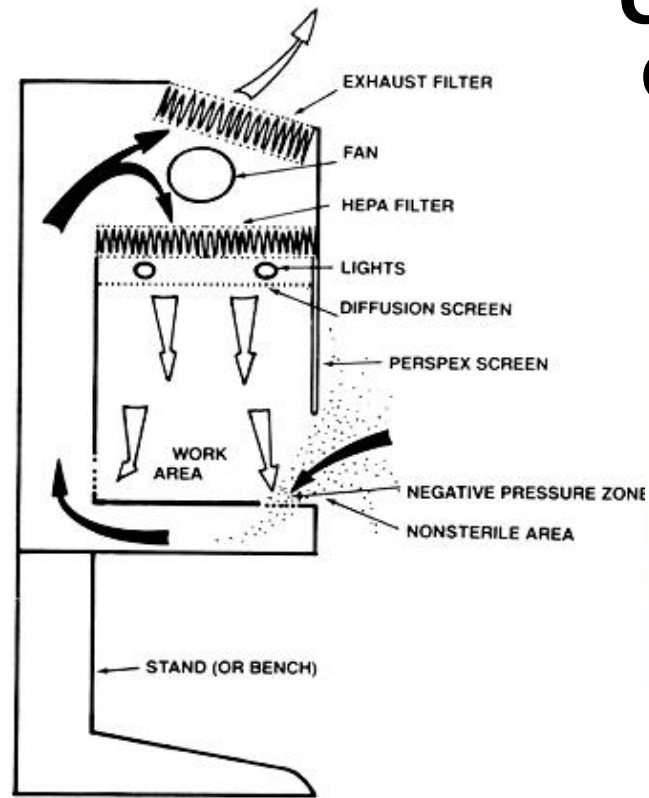


# Cómo proceso las muestras en el laboratorio?

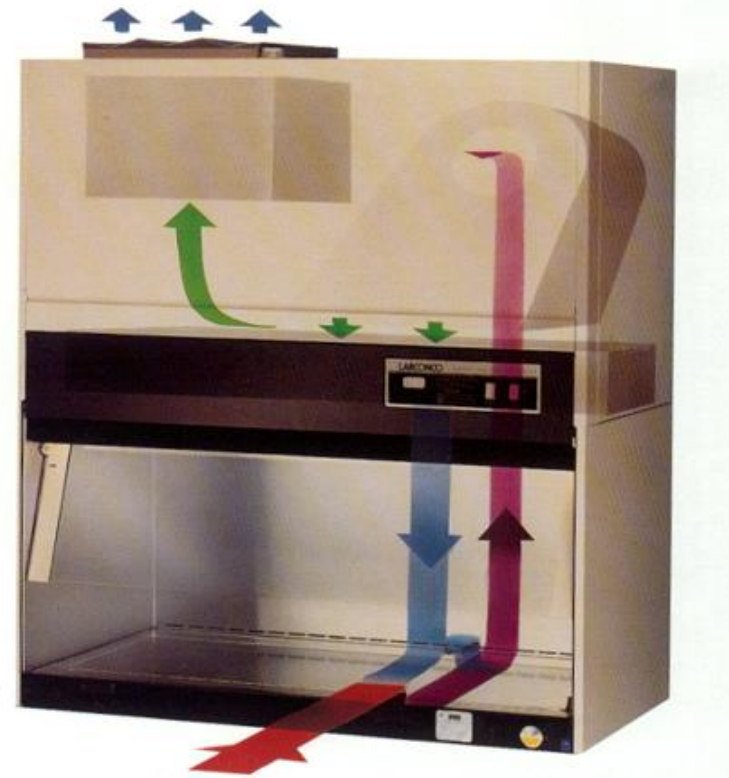
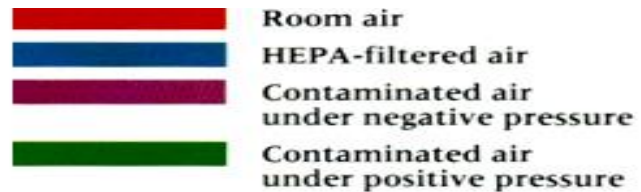


SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCIEN | UDELAR

## Cabina bioseguridad Clase II



b) VERTICAL  
Operator Protection





SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCEN | UDELAR

Muestras humanas: suero o sangre  
tejidos  
necropsias

*Requerimiento esencial:*

Comité de Ética

Consentimiento informado del paciente

## TODO EL MATERIAL UTILIZADO DEBE:



SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCEN | UDELAR

- 1.-LLEGAR al laboratorio previamente DESINFECTADO, en bolsas especiales.
- 2.- luego debe ser tratado por AUTOCLAVE para posterior descarte o reutilización (ej: material quirúrgico)  
o LAVADO (ropa no descartable)



Bolsa especial para autoclave





# Esterilización



SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCIEN | UDELAR

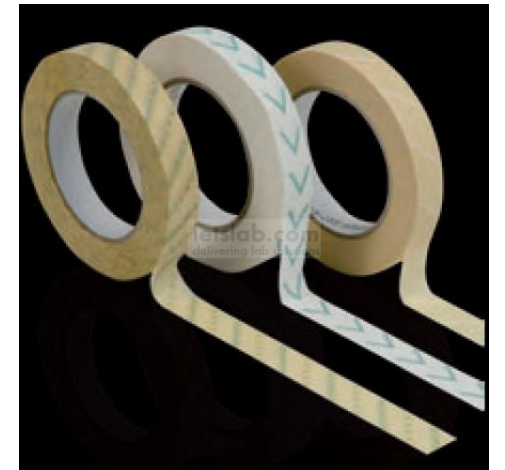
AUTOCLAVE:  
(calor húmedo)  
121°C, 1atm de presión, 20-30 min.



Estufa (horno Poupinel):  
(calor seco)  
170°C, 1 hora.



SÓLO material de vidrio, metal, porcelana  
gasa, algodón



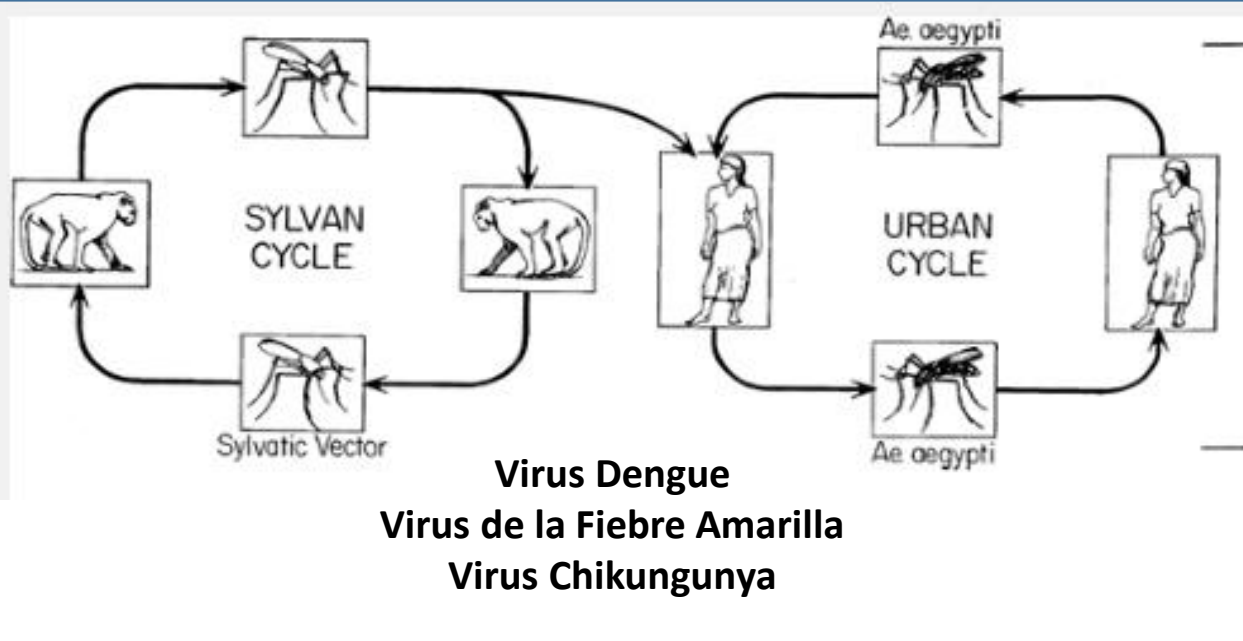
Cinta indicadora  
(cambia de color cuando  
el ciclo está completo)



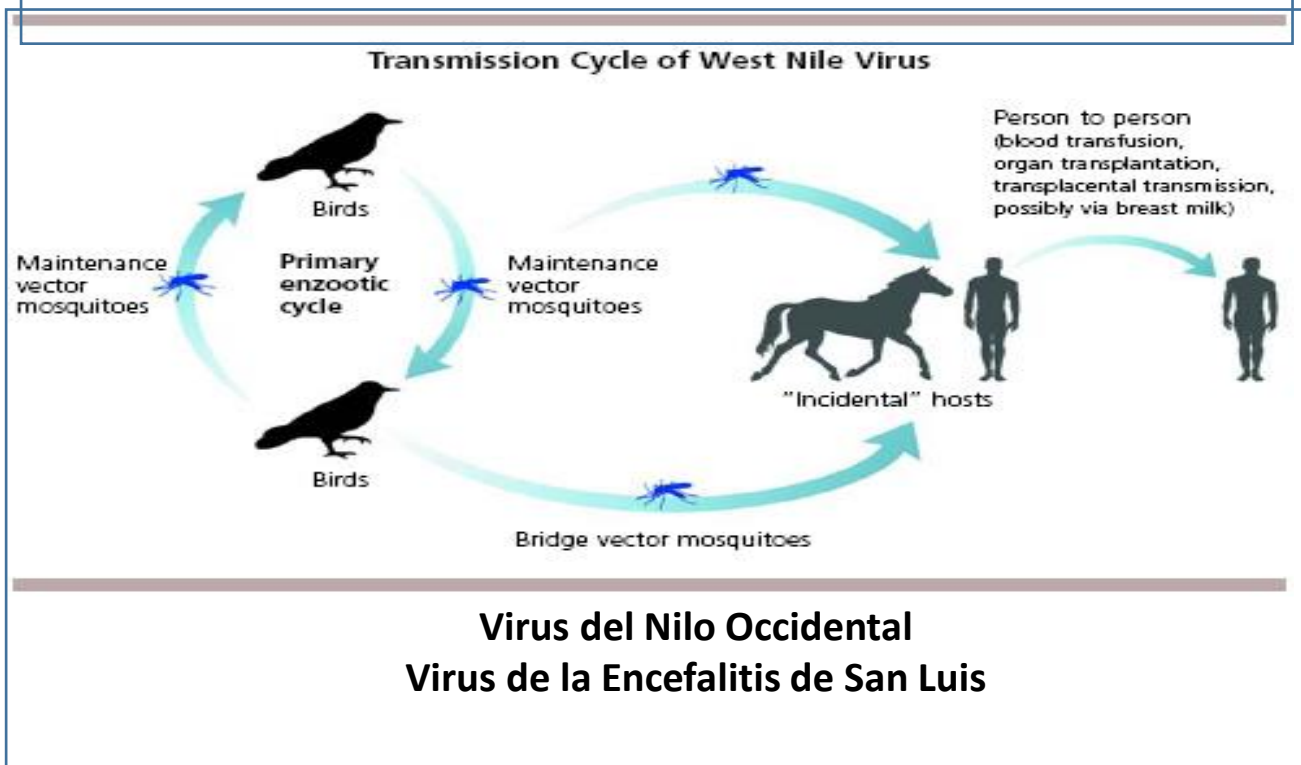
# Otros ejemplos....

- Estudios sobre los ciclos naturales de los virus transmitidos por artrópodos: ARBOVIRUS...(virus dengue, Zika, San Luis, West Nile, Chikungunya)
- Para este tipo de estudios, interesa estudiar a los diferentes participantes del ciclo, ya sea buscando al virus o alguna evidencia indirecta de infección, como son los anticuerpos contra el virus.
- Aves
- Mosquitos
- Mamíferos





**Virus Dengue**  
**Virus de la Fiebre Amarilla**  
**Virus Chikungunya**



**Virus del Nilo Occidental**  
**Virus de la Encefalitis de San Luis**



- Por ser **ARBOVIRUS** sólo se transmiten a través de picaduras de artrópodos.
- NO se transmiten por vía aérea.
- Se trabaja con un nivel menor de protección.
  
- Usar ropa de campo, botas o similar.
- Al tomar las muestras: guantes de látex, túnica o similar

# Captura de mosquitos adultos trampas CDC



SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCIEN | UDELAR





Piedra de CO<sub>2</sub> (cebo)



- Clasificación en el laboratorio
- Bajo lupa
- En placa fría



# Captura de aves usando redes de niebla

- Determinar los lugares para colocación de redes





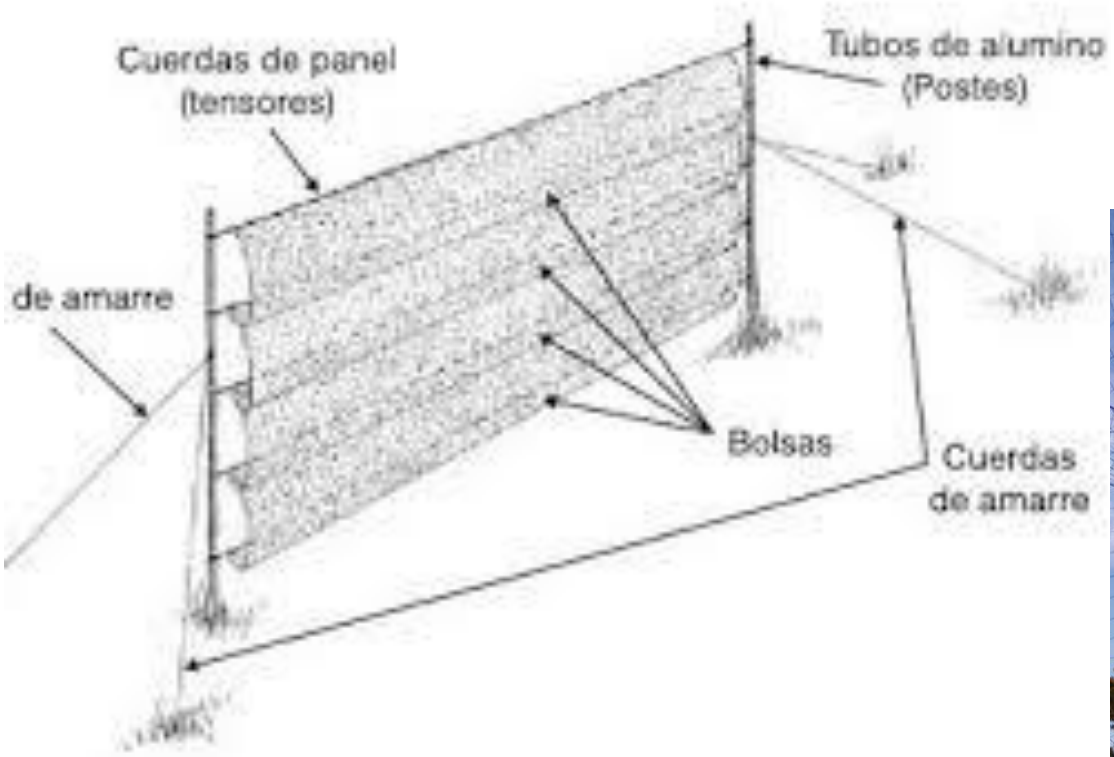
# Captura de aves utilizando redes de niebla



SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCIEN | UDELAR









*Las redes se abren antes del amanecer (por ser la hora de mayor actividad de las aves)*

*Se revisan cada 15-20 minutos*

*Las aves que caen se retiran con cuidado y se colocan en bolsas de tela hasta su procesamiento*



SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCIEN | UDELAR







SECCIÓN  
VIROLOGÍA  
FCIEN | UDELAR



### *Laboratorio de campo:*

mesa plegable y bancos  
guía de aves, planilla registro  
pinzas entomológicas  
balanza Pesola®  
agujas tipo insulina  
recipiente punzantes  
tubos colecta sangre  
algodón  
alcohol  
rotuladores  
agua con azúcar







Balanza tipo Pesola®





# Extracción de sangre por punción de carótida





## *Precauciones*

- Al quitar las aves que caen en la red.
- Colecta de sangre se hace en ejemplares de determinado peso (mayor a 10 gr.) y cierto volumen máximo en función del peso (100 a 200uL).
- Es necesario cierto entrenamiento para realizar la punción..
- Conservación de la sangre hasta llegar al laboratorio (4-10°C)
- *Descarte de punzantes, cuidar esterilidad, uso de guantes, descarte de fungibles en bolsas adecuadas..*

- Los procedimientos para captura y muestreo en fauna silvestre, así como todo experimento que involucre animales vertebrados están regulados por:
- CEUA (Comisión de Ética en el Uso de Animales) de cada Facultad
- CHEA: Comisión Honoraria de Experimentación Animal (UdelaR)
- CNEA: Comisión Nacional de Experimentación Animal
- Los Protocolos de experimentación deben ser aprobados
- Acreditaciones para la supervisión y el manejo (C2, B)

En el laboratorio, trabajar siempre bajo las normas de bioseguridad correspondientes (BSL2, BSL2+, BSL3, BSL4)\*\*

\*\*dependiendo del agente sospechoso y también de las técnicas que se van a llevar a cabo..





Gracias!