



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

PROCEDIMIENTO PARA LA APLICACIÓN DEL NUEVO ALGORITMO PARA DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO DE FIEBRE POR DENGUE Y FIEBRE HEMORRÁGICA POR DENGUE

InDRE - RNLSP

2008



GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

CONTENIDO

| | | |
|-------|--|----|
| I. | OBJETIVO GENERAL..... | 3 |
| II. | INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| III. | DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO..... | 5 |
| IV. | NUEVO ALGORITMO PARA EL DIAGNÓSTICO DE DENGUE EN LA RNLSP..... | 6 |
| | A) MUESTRAS RECIBIDAS EN EL LABORATORIO ENTRE 0-5 DÍAS DE HABER INICIADO LA FIEBRE..... | 8 |
| | B) MUESTRAS RECIBIDAS EN EL LABORATORIO CON \geq 6 DÍAS DE HABER INICIADO LA FIEBRE..... | 9 |
| | C) ESTÁNDAR DEL SERVICIO..... | 10 |
| V. | VIGILANCIA VIROLÓGICA..... | 10 |
| VI. | USO DE PRUEBAS RÁPIDAS PARA EL DIAGNÓSTICO..... | 12 |
| VII. | CLÍNICA DE MONITOREO Y MUESTRAS DE DEFUNCIONES..... | 13 |
| VIII. | EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO..... | 13 |
| IX. | BANCO DE SUEROS..... | 16 |
| X. | SISTEMAS DE INFORMACIÓN..... | 16 |
| | A) INFORMACIÓN SEMANAL DE LOS LESP..... | 17 |
| | B) INFORMACIÓN RELACIONADA CON LA PLATAFORMA ÚNICA PARA DENGUE..... | 17 |
| XI. | REFERENCIAS..... | 20 |
| XII. | ANEXO..... | 21 |



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

I. Objetivo General.

Establecer los procedimientos para la aplicación del nuevo algoritmo de diagnóstico de Fiebre por Dengue (FD) y Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD) y establecer el manejo adecuado de la información generada por laboratorio, a través de la RNLSP, en apoyo a la Vigilancia Epidemiológica de esta enfermedad.

II. Introducción.

La conformación de la red de diagnóstico de Dengue empezó en 1995 con 7 Laboratorios Estatales de Salud Pública (LESP). El Laboratorio de Arbovirus del InDRE ha ofrecido a la red cursos de capacitación, capacitaciones en servicio, supervisiones y asesorías, incluyendo el apoyo con equipo e insumos en caso de emergencias epidemiológicas y desastres. El laboratorio de Arbovirus también envía reactivos para realizar la determinación de anticuerpos tipo IgM con MAC-ELISA y con reactivos comerciales. Desde 1999 el InDRE inició un programa de Control de Calidad en el que la red envía el 100% de las muestras positivas y un 10% de las muestras negativas a Dengue. En el 2002 la RNLSP se incorporó al Programa Caminando a la Excelencia para evaluar el desempeño de los estados respecto a los programas prioritarios de la salud para fomentar su desarrollo. En el año 2003 se empieza a realizar la evaluación del desempeño a través del envío de paneles de eficiencia y se establece el envío únicamente de probables FHD para control de calidad.

El marco analítico de la Red para el diagnóstico de esta enfermedad está conformado por el diagnóstico serológico (24 LESP's realizan determinación de anticuerpos IgM y 21 realizan también IgG). Dos LESP's (Sonora y Veracruz) realizan aislamiento e identificación por Inmunofluorescencia. Seis LESP's (Veracruz, Sonora, Hidalgo, Quintana Roo, Guerrero y Tabasco) realizan pruebas de identificación molecular por RT-PCR.

El incremento en el número de casos en nuestro país obliga a que todos los laboratorios de la RNLSP realicen el diagnóstico, al menos serológico. Por ello, se requiere que los LESP's de Aguascalientes, Baja California, Estado de México, Guanajuato, Querétaro, Tlaxcala y Zacatecas se integren a esta red. Todos los laboratorios de la RNLSP deben realizar la determinación de NS1 e IgM anti-dengue.



GOBIERNO FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

En la figura 1 se muestra el marco analítico que deberá implementarse este 2008 en la RNLSP para la aplicación del nuevo algoritmo para el diagnóstico por laboratorio de Dengue.



Fig. 1. Conformación de la red para el diagnóstico de Dengue en México. Los estados mostrados en ■ realizan NS1, IgM e IgG, con excepción de Chihuahua, Coahuila y Durango que no realizan IgG. Los estados que se muestran en ■ deben incorporarse a la red realizando en un inicio NS1 e IgM.



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

III. Diagnóstico por laboratorio

El diagnóstico se realiza con suero del paciente. Se debe obtener una muestra de sangre completa por venopunción (aprox. 5 mililitros) sin usar anticoagulante, para procesarla y obtener el suero (aprox. 2.5 mililitros) que será enviado al LESP para el ensayo. La muestra debe mantenerse siempre en refrigeración (2-8 °C) desde la toma hasta la llegada al LESP. La muestra deberá venir acompañada con el **Formato Único de Envío de Muestras** (F-REM-01) debidamente llenado, sin datos alterados o sobre escritos y en dado caso es conveniente que se indique la gravedad del paciente; las muestras que no cumplan con los requisitos establecidos en el Manual para la Toma, Envío y Recepción de Muestras (REM-MA-03), serán rechazadas. Cuando todos los estados estén capturando en el sistema de Plataforma Única para Dengue se requerirá únicamente el listado nominal y del número de folio otorgado por el mismo sistema.

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA-2002, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector, las técnicas alternativas para confirmar o descartar un caso probable en los primeros días de haber iniciado con la fiebre (0-5 días) es identificar al virus mediante técnicas virológicas (aislamiento en cultivo) o moleculares (RT-PCR). Sin embargo estas técnicas no están implementadas en todos los laboratorios de la RNLSP y resultan muy costosas.

A finales del año 2006 apareció una alternativa en formato de ELISA más fácil, rápida y oportuna para aplicar en los primeros días. Esta técnica se basa en la identificación de la proteína no estructural NS1 del virus dengue, implicada en los procesos de replicación viral. Esta prueba tiene reportada una sensibilidad entre el 80-100% dependiendo del serotipo que haya sido el infectante y una especificidad de 100%, que junto con las técnicas comerciales ya existentes tanto para determinación de IgM (sensibilidad de 94.7% y especificidad del 97.2%) y para determinación de IgG de segundas infecciones (sensibilidad del 94.5% y especificidad del 97.3%) serán las pruebas consideradas como básicas en la realización del nuevo algoritmo.

Los tres tipos de métodos son en formato de ELISA, el equipo requerido para poder realizar éstas técnicas es un lector de ELISA para placas completas con un filtro de 450 nm y otro de referencia entre 600-650 nm, un lavador para placas completas, un incubadora o baño María (28-37°C) y micropipetas multicanales y sencillas con diferentes volúmenes variables, además de todo el material requerido no incluido en los estuches de diagnóstico.



GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

Los procedimientos se deben realizar como lo indican los insertos correspondientes para poder cumplir con la validación de cada corrida (también como lo indica cada inserto). Es importante mencionar que las muestras a procesar por cualquiera de éstas técnicas se manejen en frío, es decir que no permanezcan a temperatura ambiente, se sugiere sacar las muestras del refrigerador hasta el momento de realizar cada procedimiento y una vez terminado el uso de las mismas se deben mantener almacenadas a 4°C. De ser posible, se recomienda que para el manejo de las mismas ya sea al momento de rotularlas, usarlas en cada técnica, alicuotarlas, etc. se pueden colocar la gradilla en donde se tienen ubicadas sobre una cama de hielo o de refrigerantes congelados. El énfasis para el manejo de muestras en estas condiciones radica en el hecho de que el virus dengue es termolábil y los cambios de temperatura degradan la partícula viral y las proteínas involucradas con la respuesta humoral.

IV. Nuevo algoritmo para el diagnóstico de Dengue en la RNLSP

La propuesta del nuevo algoritmo para el diagnóstico de Dengue deriva de dos premisas básicas: 1) la necesidad de mejorar el porcentaje de casos confirmados por laboratorio con respecto de los casos probables utilizando una sola muestra, y 2) la necesidad de incrementar la vigilancia virológica en el país. La implementación del nuevo algoritmo redundará en la satisfacción del Programa Nacional de Prevención y Control del Dengue al contar con información oportuna y de calidad para iniciar las intervenciones adecuadas. El algoritmo propuesto fue consensuado en cuatro diferentes reuniones entre los laboratorios de la RNLSP y el InDRE en México. También fue sometido a la crítica de expertos internacionales en la reunión *Americas Dengue Prevention Board – Dengue Surveillance*, celebrado en la Ciudad de México (17 a 19 de enero, 2008). Durante los días 26 al 29 de febrero se realizó, en instalaciones del InDRE, el *Taller teórico-práctico para la Implementación del nuevo algoritmo para el diagnóstico por laboratorio para Dengue* dirigido a los 31 laboratorios estatales que conforman la RNLSP. Los últimos comentarios se discutieron durante la visita de Evaluación del Programa Nacional de Control y Prevención del Dengue en México por parte de la Organización Panamericana de la Salud, del 24 de marzo al 2 de abril 2008. La solicitud por parte del InDRE a la RNLSP fue iniciar la implementación a partir del mes de abril de 2008.

Este algoritmo involucra la calidad y la oportunidad de la información generada por el componente de laboratorio en la prevención y control del Dengue, se muestra en la siguiente figura.

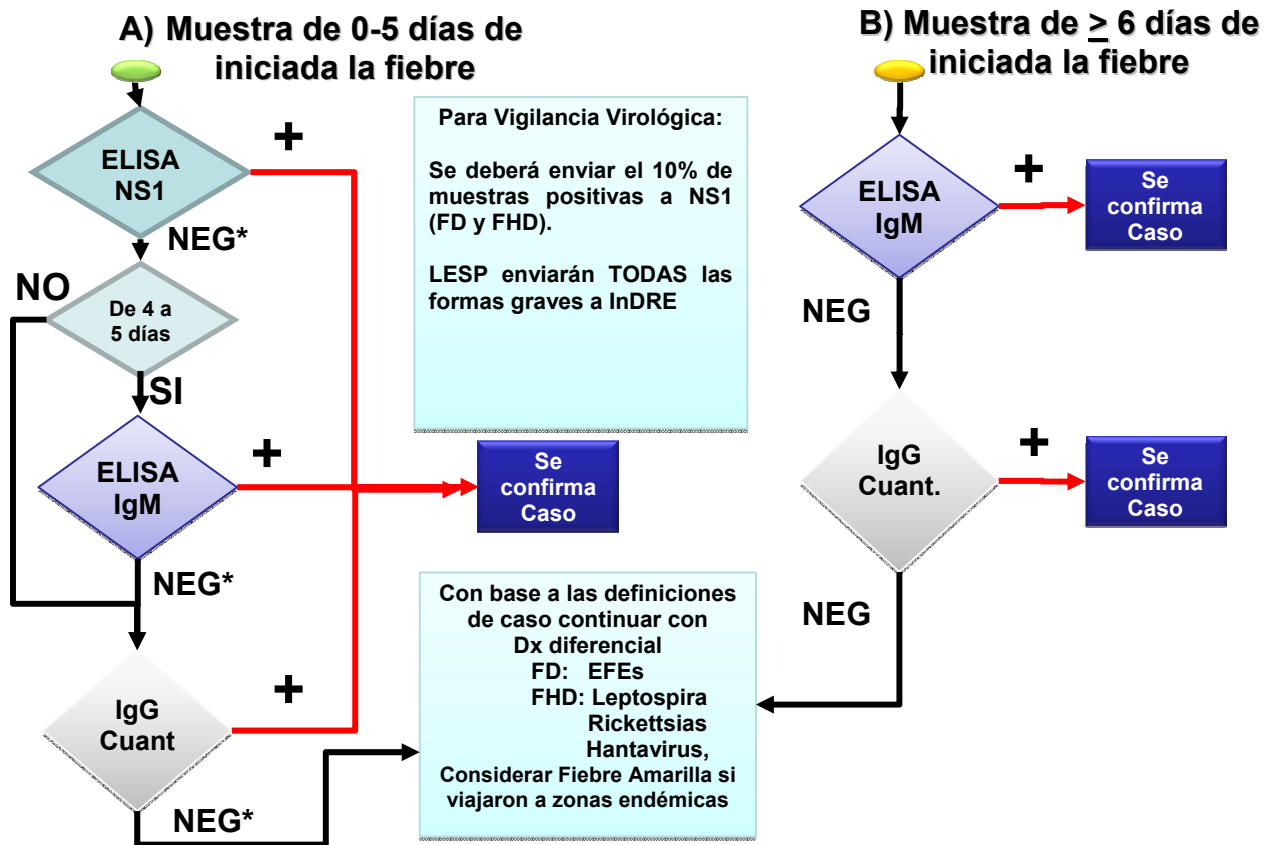


Fig. 2. Nuevo algoritmo diagnóstico para casos probables de FD y FHD.



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

El nuevo algoritmo se describe a continuación.

A) Muestras recibidas en el Laboratorio entre 0-5 días de haber iniciado la fiebre

El algoritmo diagnóstico inicia con:

Determinación del antígeno viral NS1 por ELISA (Platelia Bio-Rad, Cat. 72830). Si el resultado obtenido es:

Positivo: Confirma caso. El laboratorio reportará este resultado. En este momento se da por terminado el algoritmo. NO se realizará ninguna otra prueba, ni se reportará ningún otro resultado (a excepción del serotipo identificado si es que fue seleccionada para la vigilancia virológica). El valor reportado que representa a un positivo es mayor o igual a 1.0 unidad.

Negativo: El laboratorio NO reportará el resultado y se realizará la siguiente prueba indicada en el algoritmo: ELISA para IgG (cuando la muestra sea de un paciente con 0-3 días de inicio de fiebre) o ELISA para IgM (cuando la muestra sea de un paciente con 4-5 días de inicio de fiebre).

Determinación de IgM por ELISA (PanBio No. catálogo E-DEN01M), únicamente para las muestras que tengan entre 4-5 días de haber iniciado la fiebre. Si el resultado obtenido es:

Positivo: Confirma caso. El laboratorio reportará este resultado. En este momento se da por terminado el algoritmo. NO se realizará ninguna otra prueba, ni se reportará ningún otro resultado. El valor reportado que representa a un positivo es mayor o igual a 11.0 unidades.

Negativo: El laboratorio NO reportará el resultado y realizará la determinación de IgG.

Determinación de IgG por ELISA (PanBio, No. de catálogo E-DEN02G), únicamente para muestras que estén entre 0-3 días. Si el resultado obtenido es:

Positivo: Confirma caso. El laboratorio reportará este resultado, en este momento se da por terminado el algoritmo. NO se realizará ninguna otra prueba, ni se reportará ningún otro resultado. El valor reportado que representa a un positivo es mayor o igual a 22.0 unidades.

Negativo: El laboratorio reportará este resultado, dando por hecho que todas las pruebas antes mencionadas se realizaron resultando negativas. En este momento se da por



GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

terminado el algoritmo. El valor reportado que representa a un negativo es menor o igual a 18.0 unidades.

Una muestra negativa a las tres pruebas previas se considera negativa a dengue y se realizará diagnóstico diferencial con base en el diagnóstico clínico y previa solicitud de Vigilancia Epidemiológica estatal, ya sea para EFE's, Leptospira, Rickettsias o Hantavirus (en caso de signos hemorrágicos). Ante casos de fiebre icterohemorrágica y viajeros de zona endémica se sugiere realizar diagnóstico diferencial con Fiebre Amarilla. En zonas endémicas para leptospira se sugiere realizar la prueba rápida al mismo tiempo que se inicie con el algoritmo de Dengue.

B) Muestras recibidas en el Laboratorio con ≥ 6 días de haber iniciado la fiebre

Se inicia el proceso con:

Determinación de IgM por ELISA. Si el resultado obtenido es:

Positivo: Confirma caso. El laboratorio reportará este resultado, en este momento se da por terminado el algoritmo. NO se realizará ninguna otra prueba, ni se reportará ningún otro resultado. El valor reportado que representa a un positivo es mayor o igual a 11.0 unidades.

Negativo: El laboratorio NO reportará el resultado y realizará la siguiente prueba indicada en el algoritmo. En este caso será determinación de IgG.

Determinación de IgG por ELISA. Si el resultado obtenido es:

Positivo: Confirma caso. El laboratorio reportará este resultado, en este momento se da por terminado el algoritmo. NO se realizará ninguna otra prueba, ni se reportará ningún otro resultado. El valor reportado que representa a un positivo es mayor o igual a 22.0 unidades.

Negativo: El laboratorio reportará este resultado, dando por hecho que la prueba antes mencionada se realizó resultando negativa. En este momento se da por terminado el algoritmo. El valor reportado que representa a un negativo es menor o igual a 18.0 unidades.

Una muestra negativa a las dos pruebas previas se considera negativa a dengue y se realizará diagnóstico diferencial con base en el diagnóstico clínico y previa solicitud de Vigilancia Epidemiológica estatal, ya sea para EFE's, Leptospira, Rickettsias o Hantavirus (en caso de signos hemorrágicos). Ante casos de fiebre icterohemorrágica y viajeros de



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

zona endémica se debe realizar diagnóstico diferencial con Fiebre Amarilla. En zonas endémicas para leptospira se sugiere realizar la prueba rápida al mismo tiempo que se inicie con el algoritmo de Dengue.

En dado caso que se obtengan resultados “indeterminados” por alguna de las técnicas mencionadas anteriormente se procederá de la siguiente forma:

- ❖ **Indeterminado para determinación de NS1 por ELISA.** No se deberá reportar el resultado como indeterminado, lo que procede es procesar nuevamente la muestra por duplicado como lo indica el inserto y si se obtiene el mismo resultado (indeterminado), realizar la siguiente prueba indicada en el algoritmo según corresponda.
- ❖ **Indeterminado para determinación de IgM por ELISA.** No se deberá reportar el resultado como indeterminado, lo que procede es procesar nuevamente la muestra por duplicado como lo indica el inserto y si se obtiene el mismo resultado (indeterminado), realizar la siguiente prueba indicada en el algoritmo según corresponda.
- ❖ **Indeterminado para determinación de IgG por ELISA.** No se deberá reportar el resultado como indeterminado, lo que procede es procesar nuevamente la muestra por duplicado como lo indica el inserto y si se obtiene el mismo resultado (indeterminado) se enviará al InDRE para diagnóstico.

C) Estándar del servicio

El tiempo máximo para el reporte de resultados hasta finalizar con el algoritmo es decir hasta la realización de IgG, será de 3 días hábiles. En caso de emergencia epidemiológica cada LESP deberá elaborar un plan de respuesta rápida en donde se incluya laborar todos los días de la semana.

V. Vigilancia Viroológica.

La importancia de identificar los serotipos circulantes radica en tener la información para poder predecir brotes e identificar localidades de riesgo. Con el fin de fortalecer la vigilancia virológica y evaluar el nuevo algoritmo, se procederá de la siguiente manera:



GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

Todos los LESP's enviarán los días martes la base nominal completa acumulada de datos en formato electrónico. La base será procesada por el InDRE para realizar la selección aleatoria de las muestras que serán solicitadas. Durante la semana posterior a la recepción de la base electrónica se informará al LESP, vía correo electrónico la relación de muestras que deberán enviar y la fecha en que deberán realizar el envío.

En el caso de FD el InDRE seleccionará el 10% de las muestras positivas a NS1, para FHD se seleccionará el 100% de las muestras positivas a NS1, que serán procesadas para aislamiento viral. Estas muestras deberán venir acompañadas con el Formato Único de Envío (F-REM-01) debidamente llenado y sin que se omita algún dato, como se ha indicado anteriormente. Además de un listado con los resultados obtenidos para NS1 en el LESP (densidad óptica de la muestra, valor de corte e interpretación de resultado).

Además de aislamiento viral, en todas las formas graves y en casos de extrema urgencia de FHD el InDRE realizará RT-PCR.

A pesar de que sean procesadas en sus respectivos laboratorios, el InDRE seleccionará también las muestras a procesar en los Laboratorios de Veracruz y de Sonora.

Por otra parte para la evaluación del nuevo algoritmo el InDRE también realizará la selección aleatoria del 10% de las muestras negativas (para IgM, IgG o NS1), que les serán solicitadas dos semanas después a la recepción de la base nominal.

El reporte de resultados de los serotipos identificados se realizará de la siguiente forma:

Aislamiento e identificación de serotipos por inmunofluorescencia. Si el resultado obtenido es:

Positivo: Se reportará el serotipo identificado. El laboratorio correspondiente tendrá que informar el resultado obtenido al remitente de la muestra según sea el caso. Cabe aclarar que las muestras que resulten positivas para aislamiento viral ya habían sido confirmadas mediante determinación de NS1, por lo que se deberá considerar como un solo caso confirmado.

Negativo: El laboratorio deberá también informar este tipo de resultado. Cabe aclarar que las muestras que resulten negativas para aislamiento viral ya habían sido confirmadas mediante determinación de NS1, por lo que se deberá considerar como un solo caso confirmado.

El estándar del servicio para emitir un resultado será de 15 días hábiles.



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

Determinación de material genético por RT-PCR (en casos de extrema urgencia y casos graves de FHD). Si el resultado obtenido es:

Positivo: Se reportará el serotipo identificado. El laboratorio tendrá que informar el resultado obtenido al remitente de la muestra según sea el caso. Cabe aclarar que las muestras que resulten positivas por RT-PCR ya habían sido confirmadas mediante determinación de NS1, por lo que se deberá considerar como un solo caso confirmado.

Negativo: El laboratorio deberá también informar este tipo de resultado. Cabe aclarar que las muestras que resulten negativas por RT-PCR ya habían sido confirmadas mediante determinación de NS1, por lo que se deberá considerar como un solo caso confirmado.

El estándar del servicio para emitir un resultado será de 5 días hábiles.

VI. Uso de pruebas rápidas para el diagnóstico.

Durante situaciones de emergencias e inundaciones hay sitios inaccesibles y el exceso de trabajo satura el LESP, por lo que se requiere contar con el diagnóstico oportuno. Para ello, se propone un algoritmo que permita confirmar casos de una forma rápida y práctica con este tipo de prueba que reporta una sensibilidad y una especificidad del 70%. La decisión de cuando usar esta prueba será con base al Manual de Vigilancia Epidemiológica y debe ser definido por Vigilancia Epidemiológica Estatal, previa autorización por la Dirección General Adjunta de Epidemiología, del nivel federal. Este tipo de metodología deberá ser realizada únicamente por los LESP. En situación normal se deberán realizar las pruebas indicadas en el nuevo algoritmo.

Prueba rápida Dengue Dúo Cassette (Panbio, No. de catálogo E-DEN01D). Para las muestras desde 0 a ≥ 6 días de haber iniciado con fiebre. Si el resultado obtenido es:

Positivo: Confirma caso. El laboratorio reportará este resultado. Se realizará una selección aleatoria, para que uno de cada 10 casos positivos siga el procedimiento del nuevo algoritmo.

Negativo: La muestra deberá ser procesada siguiendo el nuevo algoritmo con base en los días de evolución.



GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

VII. Clínica de Monitoreo y Muestras de defunciones

El funcionamiento de la clínica de monitoreo estará determinado por Vigilancia Epidemiológica Estatal y se establecerá únicamente cuando se presente un brote, por lo que en estos casos se establecerá una sola clínica en la que se deberá muestrear al 100% de los casos probables y permanecerá funcionando mientras dure un brote, por lo que Vigilancia Epidemiológica estatal deberá notificar esto a el LESP correspondiente. El procedimiento del laboratorio para las muestras generadas en esta clínica se llevará a cabo siguiendo el nuevo algoritmo de diagnóstico y se deberá ingresar la información correspondiente de cada muestra recibida en la base de dengue de cada LESP.

Las muestras de defunciones por probable FHD (positivas y negativas) ya no se enviarán al InDRE a excepción de que se requiera realizar diagnóstico diferencial de algún diagnóstico que no tenga el LESP. Por lo que para la dictaminación de defunciones en los Comités de Vigilancia Epidemiológica, Estatal y Nacional (CEVE y CONAVE) se tomarán únicamente los resultados obtenidos en los LESP. Para aquellos Laboratorios que obtengan clasificación No aceptable en la evaluación del desempeño, deberán enviar todas las muestras de defunciones al InDRE (100% de positivas y negativas), hasta que la clasificación en la evaluación del desempeño sea aprobatoria y se emita un documento al LESP en cuestión, en donde se le indicará que se suspende el envío de muestras de defunciones.

VIII. Evaluación del Desempeño

LESP que ya pertenecen a la red de dengue

El procedimiento para estos laboratorios se realizará de la siguiente forma:

- ❖ Envío de un primer panel de eficiencia (29 de enero del año en curso). Conformado únicamente para la determinación de anticuerpos tipo IgM.
- ❖ Envío de un segundo panel de eficiencia (01 de julio). Para evaluar el desempeño respecto a la determinación de IgM, IgG y de NS1 según sea el caso (dependiendo de la regionalización del marco analítico).

Con base en los resultados de concordancia obtenidos en los paneles se clasificará a los LESP como sigue:

Prolongación de Carpio No. 470, Col. Casco de Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo, México, DF 11340
t. +52 (55) 53427550 ext. 245, f. +52 (55) 53411432 www.salud.gob.mx
laboratorioarbovirusindre@yahoo.com.mx



GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

1. LESP que hayan obtenido entre 90-100% de concordancia, se clasifican como **SOBRESALIENTES**.
2. LESP que hayan obtenido entre 81-89% de concordancia, se clasifican como **SATISFACTORIOS**.
3. LESP que hayan obtenido menor o igual al 80% de concordancia, se clasifican como **NO ACEPTABLES**.

Para los laboratorios que obtengan clasificación **Sobresaliente o Satisfactoria**, se procederá de la siguiente forma:

- ❖ Ya no enviarán muestras para Control de Calidad al InDRE de cualquier técnica empleada en el LESP (determinación de IgM, IgG o NS1).
- ❖ La evaluación del desempeño se realizará únicamente a través de paneles de eficiencia, que se enviarán 2 veces por año.

Para los laboratorios que obtengan clasificación **No aceptable**, se procederá de la siguiente forma como se enlista a continuación:

- ❖ Se solicitará la elaboración de un plan de mejora que deberán enviar al InDRE en un tiempo no mayor a una semana después de la notificación de esta clasificación.
- ❖ Se realizará una auditoría al laboratorio implicado para evaluar la competencia técnica.
- ❖ Se enviará un tercer panel, a petición y compra del LESP, que de nuevo servirá para la evaluación del desempeño.
- ❖ Si se obtiene nuevamente un resultado **No aceptable** se solicitará el cambio del analista para el diagnóstico de Dengue en el LESP. El nuevo analista recibirá capacitación en el InDRE durante una semana.
- ❖ Derivado de los puntos anteriores y únicamente mientras dure el proceso de mejora deberán enviar para control de calidad el 100% de positivos y el 10% de negativos de todas las muestras de probables FD y FHD.



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

LESP que recientemente ingresaron a la Red.

El procedimiento para la evaluación del desempeño de estos laboratorios se hará de la siguiente forma:

- ❖ Se enviará un primer panel de eficiencia (01 de julio del año en curso), para evaluar el desempeño en la determinación de IgM y de NS1.
- ❖ Deberán enviar al InDRE el 100% de los positivos y el 10% de los negativos de Fiebre por Dengue durante este año 2008.
- ❖ Si con estos dos parámetros se obtiene la clasificación de **sobresaliente o satisfactoria** durante 2008, en el año 2009 se suspenderá el envío de muestras para control de calidad y únicamente serán evaluados a través de paneles de eficiencia dos veces por año.
- ❖ Si se obtiene un resultado **No aceptable** se procederá a solicitar un plan de mejora que deberán enviar al InDRE en un tiempo no mayor a una semana, se realizará una auditoría para evaluar la competencia técnica, posterior a esto se enviará un segundo panel, a petición y compra del LESP, que de nuevo servirá para la evaluación del desempeño, si se obtiene de nuevo clasificación **No aceptable** entonces se procederá a solicitar el cambio del analista para el diagnóstico de Dengue en el LESP y el nuevo analista recibirá capacitación en el InDRE durante una semana.
- ❖ Derivado del punto anterior y únicamente mientras dure el proceso de mejora deberán enviar para control de calidad el 100% de positivos y el 10% de negativos de todas las muestras de probables FD.

Aunado a estos sistemas de evaluación también se realizarán supervisiones a todos los laboratorios para la aplicación de una cédula y evaluar la competencia técnica misma que deberá ser mayor del 90%. Esta actividad está planeada para los últimos meses del año. (Ver cronograma de actividades).

También cada cuatro meses el InDRE solicitará a cada LESP (a través de correo electrónico) el envío de los registros de las corridas realizadas junto con las lecturas obtenidas para cada una de las determinaciones que realizan durante una semana continua, esto con el fin de evaluar la reproducibilidad y repetibilidad de cada técnica empleada.



GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

Posteriormente también se considerará el envío de paneles de eficiencia para la evaluación del desempeño de aquellos LESP que realizan aislamiento viral y/o RT-PCR.

Para aquellos LESP como Jalisco, Chiapas, Quintana Roo y San Luis Potosí que tienen laboratorios locales que realizan el diagnóstico, éstos deben realizar todo el algoritmo siguiendo el mismo procedimiento, además se debe implementar el mismo sistema de evaluación del desempeño (a través de paneles de eficiencia), será responsabilidad de cada LESP realizar supervisiones y capacitaciones. Toda la información que genere cada laboratorio local deberá ser concentrada en cada LESP y deberá ser incluida en el informe semanal del LESP correspondiente, esto para evitar duplicidad en la información; además estos laboratorios también deberán contar con clave de acceso para reporte de resultados en Plataforma Única para Dengue.

IX. Banco de Sueros

Para seguir manteniendo el banco de material biológico que servirá para realizar los paneles de eficiencia o para obtener controles de referencia, cada trimestre todos los LESP'S enviarán el 40% de muestras positivas y 40% de las muestras negativas para IgM e IgG, aquellos LESP que realizan identificación de serotipos deberán enviar el 40% de muestras positivas y 40% de muestras negativas para NS1, para los que no lo realizan únicamente deberán enviar el 40% de muestras negativas para NS1 y el 30% de positivas para NS1. Para el envío de estas muestras se deberán usar viales de polipropileno tipo eppendorff o criotubos que deberán rotularse con los siguientes datos: número de folio, resultado y técnica empleada, con cantidad mínima de 1.0 mililitro y que no estén contaminadas, la tapa deberá sellarse con papel parafilm. Es necesario indicar en el oficio de envío que se trata de material biológico para Banco de Sueros para Dengue y anexar un listado del material que se está enviando, con los resultados obtenidos para cada técnica empleada.

X. Sistemas de Información

Con la única finalidad de conocer a nivel nacional toda la información generada en cada Laboratorio y que pueda ser conocida y consultada por las autoridades de este Instituto para los fines que el Programa Nacional de Vectores y la Dirección General Adjunta de Epidemiología requieran, se necesita que se lleven los sistemas de información que a continuación se mencionan.

Prolongación de Carpio No. 470, Col. Casco de Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo, México, DF 11340
t. +52 (55) 53427550 ext. 245, f. +52 (55) 53411432 www.salud.gob.mx
laboratorioarbovirusindre@yahoo.com.mx



GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

A) Información semanal de los LESP.

Además del envío de la base nominal cada LESP deberá enviar el informe semanal en el formato correspondiente, donde se concentra toda la información generada por cada LESP, además de que incluye el reporte de la existencia de reactivo y el reporte de los serotipos identificados para aquellos Laboratorios que pueden hacerlo. Este informe se debe llenar como a continuación se indica:

- La información incluida será únicamente con base en la Fecha de recepción del laboratorio.
- Se considerará un solo resultado por muestra recibida (ya sea positivo o negativo) con base en el procedimiento del nuevo algoritmo.
- Será responsabilidad de cada LESP actualizar semana a semana esta información, de existir alguna modificación. Se solicita que toda la información venga concentrada en el mismo formato, únicamente lo que diferenciará un archivo de otro será la fecha de elaboración.
- Se deberá informar el reporte de reactivo en existencia.
- Se deberá notificar los serotipos identificados (únicamente para los LESP que lo realicen), éstos ya deberán estar integrados en los confirmados y en la semana correspondiente, ya que en un inicio se procesaron para determinación de NS1 y solo un porcentaje de positivos a NS1 son los que se incluyen para serotipificación.

B) Información relacionada con la Plataforma Única para Dengue

En el caso del reporte en Plataforma Única para Dengue el LESP, el laboratorio local y el InDRE tendrán acceso a este sistema mediante la solicitud de una clave que será proporcionada por Vigilancia Epidemiológica Estatal o Federal, según corresponda, para reportar los resultados correspondientes. El apartado correspondiente al laboratorio se describe a continuación.

Estudios de Laboratorio.

La posibilidad del análisis de laboratorio está en función de las técnicas empleadas para el diagnóstico. Se deberá llenar el procedimiento de laboratorio específico para cada caso, por lo que es necesario ingresar la fecha de toma de la muestra y el LESP tendrá la atribución de ingresar el resultado obtenido y la fecha en que se está reportando. Las fechas de toma de muestra y de resultado son obligatorias.



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

El LESP recibirá el oficio de solicitud para el diagnóstico junto con el listado de muestras enviadas (con número de folio de identificación para la plataforma y nombre). Con estos datos el laboratorio realizará la búsqueda en la opción de “Seguimiento” al ingresar con su clave en Plataforma Única, ya habiendo ingresado podrá reportar un solo resultado (positivo o negativo) por cada muestra recibida, obtenido por cualquiera de las técnicas siguientes: Determinación de NS1, determinación de IgM, determinación de IgG; según se aplique en su momento con base en el nuevo algoritmo. También se podrá reportar Aislamiento, PCR o prueba rápida.

La variable “muestra” se refiere al paciente que ya cuenta con muestra para realizar el diagnóstico por laboratorio. Es importante mantener actualizado este dato ya que la plataforma considera este rubro para estimar el porcentaje de muestreo además del porcentaje de positividad.

ELISA para determinación de NS1:

- Anotar o seleccionar del menú la fecha de toma de muestra.
- Anotar o seleccionar del menú la fecha de reporte del resultado.
- Seleccionar el resultado:
 - Si resulta positivo se selecciona (+) y NO se reportará nada más.
 - Si resulta negativo NO se reportará. El laboratorio deberá realizar la siguiente prueba indicada en el nuevo algoritmo.

ELISA para determinación de IgM:

- Anotar o seleccionar del menú la fecha de toma de muestra.
- Anotar o seleccionar del menú la fecha de reporte del resultado.
- Seleccionar el resultado:
 - Si resulta positivo se selecciona (+) y NO se reportará nada más.
 - Si resulta negativo NO se reportará. El laboratorio deberá realizar la siguiente prueba indicada en el nuevo algoritmo.

ELISA para determinación de IgG:

- Anotar o seleccionar del menú la fecha de toma de muestra.
- Anotar o seleccionar del menú la fecha de reporte del resultado.
- Seleccionar el resultado:
 - Si resulta positivo se selecciona (+) y NO se reportará nada más.
 - Si resulta negativo se selecciona (-) y NO se reportará nada más dando por terminado el algoritmo, por lo que se debe interpretar que todas las pruebas



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

antes mencionadas ya se realizaron resultando negativas, por lo tanto el caso se descarta por laboratorio.

Aislamiento y PCR:

- En el caso que se requiera ingresar resultados en este rubro la fecha de toma de muestra será la misma que la fecha que se anotó o seleccionó en el rubro de NS1, ya que será la misma muestra para identificar serotipo.
- Anotar o seleccionar del menú la fecha de reporte del resultado, que será emitido por el InDRE o por el LESP que tenga implementadas las técnicas para identificar serotipos.
- Seleccionar el serotipo identificado (1, 2, 3 y 4).

Prueba rápida: (Siempre y cuando este aprobado el uso de esta)

- Anotar o seleccionar del menú la fecha de toma de muestra.
- Anotar o seleccionar del menú la fecha de reporte del resultado.
- Seleccionar el resultado (+ ó -).



GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

XI. Referencias.

1. Halstead SB. Dengue. 2007, Lancet; 370(9599):1644-52
2. Dussart P., Labeau B., Lagathu G., *et. al.* Evaluation of an Enzyme Immunoassay for detection of Dengue Virus NS1 Antigen in Human Serum. Clinical and Vaccine Immunology, 2006, p. 1185-1189
3. Kumarasamy V., Chua S. K., *et. al.* Evaluating the sensitivity of a commercial dengue NS1 antigen-capture ELISA for early diagnosis of acute dengue virus infection. Singapore Med. J. 2007; 48(7):669.
4. Pei-Yun S., Li-Kuang C., Shu-Fen C., *et. al.* Comparison of capture Immunoglobulin M (IgM) and IgG Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Nonstructural Protein NS1 Serotype-Specific IgG ELISA for Differentiation of Primary and Secondary Dengue Virus Infections. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2003, p. 622-630.
5. Pei-Yun S., Shu-Fen C., *et. al.* Current Status of Dengue Diagnostics as the Center for Disease Control, Taiwan. Dengue Bulletin-Vol. 28, 2004.
6. Burke DS, Nisalak A, Ussery MA. Antibody capture immunoassay detection of japanese encephalitis virus immunoglobulin M and G antibodies in cerebrospinal fluid. J Clin Microbiol. 1982;16(6):1034-42
7. Bundo K, Igarashi A. Antibody-capture ELISA for detection of immunoglobulin M antibodies in sera from Japanese encephalitis and dengue hemorrhagic fever patients. J Virol Methods. 1985;11(1):15-22
8. Secretaria de Salud de México (SSA). Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA-2002, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector. Publicada en el Diario Oficial de la Federación. Julio de 2003.



Vivir Mejor

GOBIERNO
FEDERAL



SALUD

CENAVECE
InDRE

XII. Anexo

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES 2008

| ACTIVIDAD | ENE | FEB | MAR | ABR | MAY | JUN | JUL | AGO | SEP | OCT | NOV | DIC |
|--|-----|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Envío del primer panel a la RNLSP | 29 | | | | | | | | | | | |
| Recepción de resultados en el InDRE (primer panel) | | 8 | | | | | | | | | | |
| Envío de resultados a la RNLSP (primer panel) | | 15 | | | | | | | | | | |
| Taller para implementación de técnicas | | 26-29 | | | | | | | | | | |
| Envío del segundo panel a la RNLSP | | | | | | | 1 | | | | | |
| Recepción de resultados en el InDRE (segundo panel) | | | | | | | 8 | | | | | |
| Envío de resultados a la RNLSP (segundo panel) | | | | | | | 15 | | | | | |
| Recepción de muestras seleccionadas para identificación de serotipos | | | | × | × | × | × | × | × | × | × | × |
| Supervisión a la RNLSP | | | | | | | | | | × | × | × |
| Envío de muestras para Banco de Sueros | | | | | | | | | × | | | × |

NOTA: El envío y recepción de información, resultados, dudas, etc. será a través de correo electrónico.