

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA

“ALBERTO CAZORLA TALLERI”



“Implementación de Procedimientos Operativos Estandarizados en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo para la detección del antígeno NS1 del virus de dengue por ELISA y evaluación de su impacto en el diagnóstico oportuno de pacientes febriles con sospecha a dengue”

**TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

Yessenia Edith Llantoy Quispe

Lima – Perú

2023

REVISORES

DRA. KATHERINE JESSICA TORRES FAJARDO

BLGA. CHASKA IZABO ASUNCIÓN CALLE GALINDO

ASESOR(ES):

DRA. FRANCESCA FALCONI AGAPITO

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, Nilda Roxana Quispe Sánchez y Saturnino Llantoy López, que siempre fueron un soporte para llegar hasta aquí. Personas maravillosas que me inculcaron sabiduría y cultura.

A mis abuelos, que siempre mantuvieron la esperanza de que algún día sería una profesional.

A mi querida asesora, Dra. Francesca Falconi, por el tiempo dedicado en la enseñanza y apoyo en la realización de este trabajo. También por su comprensión y amabilidad hacia las personas que asesora.

A la Red de Salud Satipo por brindarme la oportunidad de ser parte de ella, brindando servicio de salud a la población más vulnerable del VRAEM, junto al Comando Conjunto de las Fuerzas Armadas del Perú.

"Implementación de Procedimientos Operativos Estandarizados en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo para la detección del antígeno NS1 del virus de dengue por ELISA y evaluación de su i

INFORME DE ORIGINALIDAD

7 %	7 %	3 %	2 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	aprenderly.com Fuente de Internet	1 %
2	scielo.sld.cu Fuente de Internet	<1 %
3	www.dge.gob.pe Fuente de Internet	<1 %
4	vsip.info Fuente de Internet	<1 %
5	www.currentschoolnews.com Fuente de Internet	<1 %
6	repositorio.unesum.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
7	repositorio.cinvestav.mx Fuente de Internet	<1 %
8	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	<1 %

ÍNDICE DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Mi formación	1
1.2.	Centro de trabajo	3
1.3.	Responsabilidades en mi trabajo	3
1.4.	Problema	4
1.5.	Justificación	7
1.6.	Etapas del proyecto	8
1.7.	Competencias profesionales que se aborda	9
1.8.	Objetivos	9
1.8.1.	Objetivo principal	9
1.8.2.	Objetivos específicos	10
II.	MARCO TEÓRICO	10
2.1.	Dengue	10
2.2.	El vector	11
2.3.	Transmisión del virus	12
2.4.	Ingreso del virus y su replicación	13
2.5.	Patogenia inducida por NS1 y su importancia en el diagnóstico de laboratorio.	15
2.6.	Curso de la enfermedad	18
2.6.1.	Fase febril	18
2.6.2.	Fase crítica	19
2.6.3.	Fase de recuperación	20
2.7.	Clasificación del dengue según su gravedad	21
2.8.	Métodos de diagnóstico de laboratorio	22
2.8.1.	Diagnóstico con ELISA NS1	25
2.9.	Distribución del dengue en las Américas	27
2.10.	Distribución del dengue en el Perú	29
2.11.	Norma técnica y reactivos para diagnóstico de dengue en el Perú	33
III.	METODOLOGÍA	36

3.1.	Lugar de ejecución	36
3.2.	Redacción del Procedimiento Operativo Estándar para los establecimientos de salud de Satipo sobre la recolección, conservación y envío de muestras de suero al Laboratorio Intermedio.	36
3.3.	Redacción el Procedimiento Operativo Estándar para el ensayo de ELISA NS1 de dengue que incluye la recepción y conservación de suero, realización del ELISA y emisión de resultados en el Laboratorio Intermedio, y envío de sueros al Laboratorio Referencial de Junín.	37
3.4.	Evaluación de la calidad interna del ensayo de ELISA NS1 en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.	37
3.5.	Evaluación de la eficacia de la implementación de los POEs a través del tiempo de emisión de resultados del ensayo de ELISA NS1 y del número de hospitalizaciones.	40
3.6.	Evaluación de la efectividad de la implementación de los POEs a través de la relación de la seropositividad por NS1 con el número de cercos epidemiológicos.	41
IV.	RESULTADOS	41
4.1.	Procedimiento Operativo Estándar para los establecimientos de salud de Satipo sobre la recolección, conservación y envío de muestras de suero al Laboratorio Intermedio.	41
4.1.1.	Propósito	41
4.1.2.	Alcance	42
4.1.3.	Consideraciones generales	42
4.1.3.1.	Técnicas asépticas	42
4.1.3.2.	Precauciones universales	43
4.1.3.3.	Complicaciones	44
4.1.4.	Definiciones	45
4.1.5.	Responsabilidades	45
4.1.5.1.	Toma de muestra de suero (44)	45
4.1.5.2.	Conservación de muestra de suero (44)	45
4.1.5.3.	Envío de muestra de suero (44)	46
4.1.6.	Materiales y equipos para recolección, conservación y envío de muestras de suero	46
4.1.7.	Procedimiento	47
4.1.7.1.	Recepción y verificación de la ficha epidemiológica y/o solicitud de emergencia hacia laboratorio.	47
4.1.7.2.	Extracción de muestra de sangre por el método de venopunción	49
4.1.7.2.1.	Con sistema de presión inversa o extracción al vacío (47,48)	50

4.1.7.2.2. Con sistema de aguja libre	53
4.1.7.3. Separación de suero	56
4.1.7.4. Registro de ficha epidemiológica y muestra de suero	57
4.1.7.5. Conservación de la muestra de suero	58
4.1.7.6. Envío de muestras de suero del EESS al Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo	59
4.1.7.6.1. Transporte	60
4.1.7.6.2. Empaquetamiento	60
4.1.8. Notas adicionales y precauciones	62
4.1.9. Seguridad	63
4.1.9.1. Objetos punzocortantes	63
4.1.9.2. Desechos de riesgo biológico	63
4.2. Procedimiento Operativo Estándar para el ensayo de ELISA NS1 de dengue que incluye la recepción y conservación de suero, realización del ELISA y emisión de resultados en el Laboratorio Intermedio, y envío de sueros al Laboratorio Referencial de Junín.	64
4.2.1. Propósito	64
4.2.2. Alcance	64
4.2.3. Consideraciones generales	64
4.2.3.1. Técnicas asépticas	65
4.2.3.2. Precauciones universales	66
4.2.4. Definiciones	66
4.2.5. Responsabilidades del personal del Laboratorio Intermedio	67
4.2.6. Materiales y equipos	67
4.2.7. Procedimiento	68
4.2.7.1. Verificación del estado de las muestras de suero (5)	68
4.2.7.2. Verificación de la ficha epidemiológica	69
4.2.7.3. Registro de la recepción	70
4.2.7.4. Disconformidad en la recepción	71
4.2.7.4.1. De la muestra de suero	71
4.2.7.4.2. De la ficha epidemiológica	71
4.2.7.5. Conservación de la muestra de suero	72
4.2.7.6. Selección de tipo de análisis	72
4.2.7.7. Análisis del ensayo ELISA NS1 dengue	73

4.2.7.7.1. Cantidad de sueros	73
4.2.7.7.2. Procedimiento	73
4.2.7.8. Control de calidad de la ficha técnica del reactivo	81
4.2.7.9. Interpretación de resultados	81
4.2.8. Emisión de resultados del ensayo ELISA NS1	82
4.2.9. Envío de información y sueros del Laboratorio Intermedio al Laboratorio Referencial de Junín	83
4.2.9.1. Reporte de la semana epidemiológica	83
4.2.9.2. Envío de muestras de sueros al Laboratorio Referencial de Junín.	85
4.2.9.2.1. Especificaciones	85
4.2.9.2.2. Procedimiento de empaquetamiento	86
4.2.9.2.3. Redacción de la documentación del envío	89
4.2.10. Seguridad	89
4.2.10.1. Derrame se restos biológicos	89
4.3. Calidad interna del ensayo de ELISA NS1 en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.	90
4.3.1. Calidad interna del ensayo ELISA NS1, previa capacitación.	90
4.3.2. Calidad interna del ensayo ELISA NS1, después de capacitación.	92
4.3.3. Comparación de densidades ópticas, relación muestra y resultado final del ensayo de ELISA NS1 antes y después de la capacitación.	94
4.4. Eficacia de la implementación de los POEs medida a través del tiempo de emisión de resultados del ensayo de ELISA NS1 y del número de hospitalizaciones.	98
4.5. Efectividad de la implementación de los POEs medida a través de la relación de la seropositividad por NS1 con el número de cercos epidemiológicos.	101
V. DISCUSIÓN	104
5.1. Importancia de la implementación de POEs en un laboratorio	104
5.2. POE para los establecimientos de salud de la provincia de Satipo	106
5.3. POE para el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo	108
5.4. Calidad interna del ensayo de ELISA NS1 en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo	110
5.5. La implementación de los POEs redujo el tiempo de emisión de resultados del ensayo de ELISA NS1 y el porcentaje número de hospitalizaciones.	111
5.6. El diagnóstico oportuno de dengue a través de la implementación del ELISA NS1 permitió una oportuna implementación de cercos epidemiológicos.	113
VI. CONCLUSIONES	115

VII. RECOMENDACIONES	116
VIII. BIBLIOGRAFÍA	117
IX. ANEXOS	126

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Flujograma de responsables de cada área en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo	2
Figura 2. Etapas del Trabajo de Suficiencia Profesional	9
Figura 3. El ciclo del virus del dengue urbano en humanos y mosquitos.	13
Figura 4. Ciclo de vida del virus del dengue.	15
Figura 5. Mecanismos de patogenia de NS1 que conducen a la enfermedad durante la infección por el virus del dengue.	16
Figura 6. Curso de la enfermedad del dengue.	18
Figura 7. Clasificación de casos de dengue según gravedad.	22
Figura 8. Técnicas fundamentales empleadas para la confirmación de la infección por el virus del dengue.	24
Figura 9. Distribución geográfica de los casos de dengue notificados a nivel mundial, 2020	28
Figura 10. (A) Distribución del vector el dengue, <i>A. aegypti</i> , en el Perú.	30
Figura 11. (A) Mapa de calor y (B) cuadro de casos de dengue en el Perú 2022, por departamento hasta la SE40.	33
Figura 12. Flujograma para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue.	34
Figura 13. Mapa de ubicación de establecimientos de Salud de la Provincia de Satipo, clasificado por Microred.	36
Figura 14. Flujograma del procedimiento de ejecución de control de calidad interno del ensayo de ELISA NS1. Ilustración propia.	39
Figura 15. Rotulado correcto en el tubo de extracción sin aditivos (tapa roja) y con separador de suero (tapa mármol).	49
Figura 16. Flujograma de toma de decisión para la extracción de sangre.	50
Figura 17. Extracción de sangre por el método de venopunción - aguja libre.	54
Figura 18. Rotulado y llenado correcto de los crioviales con muestras de suero.	57
Figura 19. Cuaderno de registro de muestras de dengue.	58

Figura 20. Imagen de crioviales almacenados en portaviales designado para muestras de dengue.	59
Figura 21. Flujoograma del proceso del ensayo ELISA NS1.	75
Figura 22. Lavadora de microplacas automática Erba ELISA	78
Figura 23. Lector de microplacas Erba ELISA	80
Figura 24. Flujoograma de distribución de muestras de suero para el envío al Laboratorio Referencial de Junín (LRJ).	86
Figura 25. Ejemplo de correcta distribución de las muestras de sueros para envío al LRJ.	88
Figura 26. Paquete completo del envío de muestras de dengue al LRJ.	88
Figura 27. Ilustración en microplacas y densidades ópticas de los resultados del control de calidad interna del ensayo ELISA NS1 previa de la capacitación.	90
Figura 28. Ilustración en microplacas de los resultados del control de calidad interna del ensayo ELISA NS1 después de la capacitación.	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Problemas clínicos en las fases del dengue	21
Tabla 2. Pruebas de diagnóstico y tipo de muestra, según el tiempo de enfermedad.	25
Tabla 3. Sensibilidades de Platelia Dengue NS1 Ag test, Dengue NS1 Ag STRIP, pan-E Dengue Early ELISA y MAC-ELISA según el número de días desde el inicio de la fiebre en pacientes con infección por DENV	26
Tabla 4. Sensibilidad de la prueba Platelia Dengue NS1 Ag, Dengue NS1 Ag STRIP y pan-E Dengue Early ELISA en función del serotipo del virus del dengue detectado por RT-PCR y/o aislamiento del virus	26
Tabla 5. Genotipos del virus dengue circulantes en el Perú	31
Tabla 6. Pruebas disponibles de acuerdo a nivel de complejidad del laboratorio.	35
Tabla 7. Materiales para cada procedimiento del POE.	47
Tabla 8. Distribución de copias de las fichas epidemiológicas de dengue.	48
Tabla 9. Color de bolsa según el tipo de residuo.	53
Tabla 10. Clasificación de las tres capas de embalaje en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.	61
Tabla 11. Materiales para cada procedimiento del POE.	68
Tabla 12. Distribución de controles y muestras en una placa de ELISA.	76
Tabla 13. Interpretación de los resultados de ELISA NS1.	82
Tabla 14. Formato Excel de registro de resultados del ensayo de ELISA NS1.	82

Tabla 15. Formato de determinación de antígeno NS1.	83
Tabla 16. Hoja de Semana Epidemiológica.	84
Tabla 17. Reporte resumido de resultados del ensayo ELISA dengue.	85
Tabla 18. Comparación de densidades ópticas (D.O.), relación muestra y resultado del ensayo de ELISA NS1 previa capacitación.	95
Tabla 19. Cantidad de positivos, indeterminados y negativos del ensayo NS1, antes de la capacitación.	96
Tabla 20. Comparación de densidades ópticas (D.O.), relación muestra y resultado del ensayo de ELISA NS1 después de la capacitación.	97
Tabla 21. Cantidad de positivos, indeterminados y negativos del ensayo NS1, después de la capacitación.	98
Tabla 22. Promedio de porcentaje de hospitalizaciones del 2021 – 2022, por periodo de lluvia y seco.	101
Tabla 23. Cantidad de seropositivos NS1 y cercos epidemiológicos en Satipo, a nivel provincial, distrital y periferie, en el 2022 (SE 47).	103

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Reporte de casos de dengue en las Américas de 1980 – 2022.	29
Gráfico 2. Distribución de los casos de dengue en las Américas por semana epidemiológica, 2022.	29
Gráfico 3. Número de casos de dengue por semana epidemiológica, Perú 2018-2022 (SE40).	32
Gráfico 4. Tiempo de emisión de resultado desde la recepción de muestra en el Laboratorio intermedio en la provincia (A), distrito (B) y periferie (C) de Satipo, del 2021 al 2022 (noviembre).	99
Gráfico 5. Porcentaje de hospitalizados por dengue, respecto a los casos positivos de cada mes del 2021 y 2022 (noviembre), en la provincia de Satipo.	100
Gráfico 6. Número de seropositivos NS1 y cantidad de cercos epidemiológicos realizados el 2022, por SE en la provincia (A), distrito (B) y periferie (C) de Satipo.	102

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Flujograma del Procedimiento Operativo Estándar para los establecimientos de salud de Satipo sobre la recolección, conservación y envío de muestras de suero al Laboratorio Intermedio.	
--	--

Anexo 2. Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis.

Anexo 3. Instructivo del correcto relleno de la Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis.

Anexo 4. Hoja de control y registro diario de la temperatura de refrigeración

Anexo 5. Flujograma del Procedimiento Operativo Estándar para el ensayo de ELISA NS1 de dengue que incluye la recepción y conservación de suero, realización del ELISA y emisión de resultados en el Laboratorio Intermedio, y envío de sueros al Laboratorio Referencial de Junín.

Anexo 6. Reporte de resultado de control de calidad interna del personal A, previa capacitación.

Anexo 7. Reporte de resultado de control de calidad interna del personal B, previa capacitación.

Anexo 8. Reporte de resultado de control de calidad interna del personal A, después de la capacitación.

Anexo 9. Reporte de resultado de control de calidad interna del personal A, después de la capacitación

RESUMEN

El dengue es una enfermedad febril infecciosa, originada por transmisión del virus del dengue (DENV), transmitida por la picadura del mosquito infectado del género *Aedes*, principalmente por *A. aegypti*, que se encuentra actualmente extendido en zonas tropicales y adyacentes a estas. Esta enfermedad no cuenta con un tratamiento específico y la única vacuna tiene limitaciones. Es así, que el diagnóstico por laboratorio es una herramienta muy importante para dar un manejo rápido y pertinente al paciente. En la provincia de Satipo, la ejecución de ELISAs NS1 se realizaba tardíamente por diversos motivos, entre ellos, la falta de personal capacitado y/o especializado en ejecución del ensayo y la falta de protocolos operativos estandarizados. A partir de mi periodo de trabajo se realizaron diversos filtros desde la parte pre-analítica, analítica y post-analítica para tener un flujo adecuado de las muestras y mejorar la calidad de los resultados del ensayo; es así, que este trabajo se centró en la redacción de dos Procedimientos Operacionales Estandarizados (POEs) respecto al ensayo ELISA NS1 y la evaluación del impacto de estos. Se realizó una revisión de diversos protocolos, guías y normas y el apoyo de la experiencia obtenida en el trabajo para la redacción de los POEs, y una recopilación de datos para el análisis del impacto de estos. Se redactó dos POEs, uno específico para los establecimientos de salud y otro para el Laboratorio Intermedio; el control de calidad interno de la ejecución de ELISA NS1 es mejor después de una previa capacitación. Se identificó que desde el inicio de mi trabajo hubo una disminución del tiempo de emisión de resultados, el porcentaje de hospitalizaciones y seropositivos, y una mejor coordinación con el área de control vectorial.

Palabras claves: Dengue, Protocolo Operativo Estándar, ELISA NS1, control de calidad.

ABSTRACT

Dengue is an infectious febrile disease, caused by the transmission of the dengue virus (DENV), transmitted by the bite of the infected mosquito of the *Aedes* genus, mainly by *A. aegypti*, which is currently widespread in and adjacent to tropical areas. This disease does not have a specific treatment and the only vaccine has limitations. Thus, laboratory diagnosis is a very important tool to provide rapid and relevant management to the patient. In the province of Satipo, the execution of ELISAs NS1 was carried out late for various reasons, among them, the lack of trained and/or specialized personnel in the execution of the assay and the lack of standardized operating protocols. Starting from my period of work, various filters were carried out from the pre-analytical, analytical, and post-analytical parts to have an adequate flow of the samples and improve the quality of the test results; Thus, this work focused on the drafting of two Standardized Operating Procedures (SOPs) regarding the ELISA NS1 assay and the evaluation of their impact. A review of various protocols, guides, and standards was carried out and the support of the experience obtained in the work for the drafting of the SOPs was carried out, as well as data collection for the analysis of their impact. Two SOPs were drafted, one specific for health establishments and another for the Intermediate Laboratory; internal quality control of ELISA NS1 execution is best after prior training. It was identified that from the beginning of my work, there was a decrease in the time to issue results, the percentage of hospitalizations and seropositive, and better coordination with the vector control area.

Keywords: Dengue, Standard Operating Protocol, ELISA NS1, quality control.

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Mi formación

Mi formación académica en la Universidad Peruana Cayetano Heredia estuvo dirigida a la Biología Ambiental; sin embargo, a lo largo de la carrera decidí complementarla con la Epidemiología.

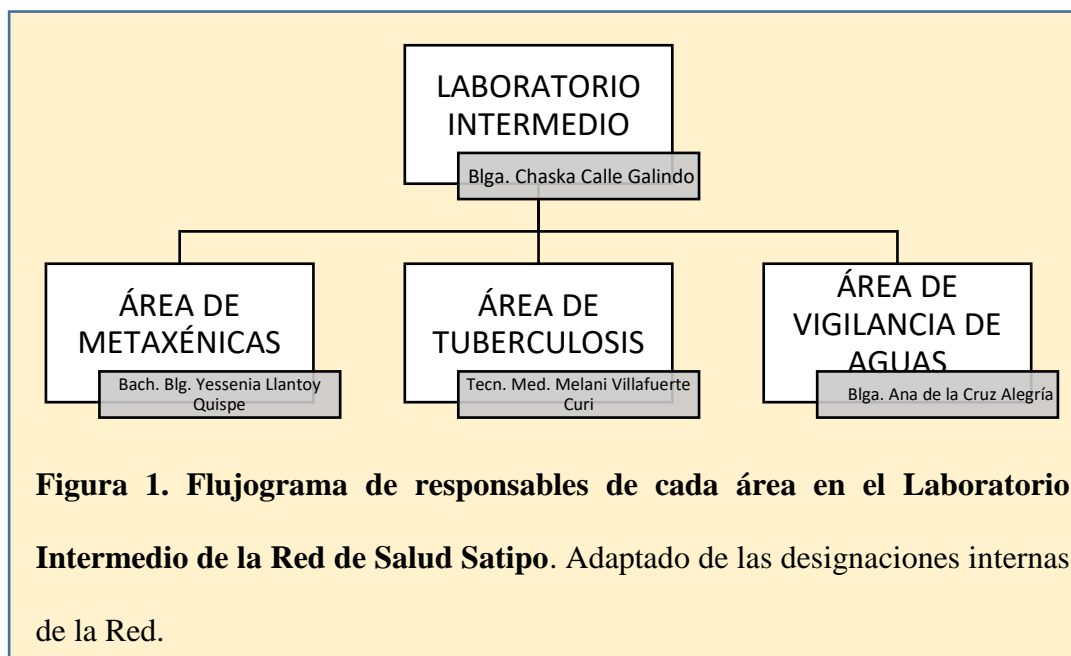
Mi selección de cursos de pregrado dirigido a estas ramas empezó por Introducción a la Metodología de Evaluación Ambiental y Contaminación Ambiental en mi octavo ciclo. De ahí, fui integrando esta amplia rama con los estudios de animales, llevando Introducción a la ecología del comportamiento animal, Metodología en ecología del campo y Tópicos en biología de la conservación. Aquí es donde tomo la decisión de saber más sobre las enfermedades infecciosas del Perú; pero los cursos y mi desconocimiento de los Laboratorios del LID que brinda la universidad, me llevaron a solo cursar Parasitología Humana, Bioquímica de agentes infecciosos y Señales celulares. Más adelante, me integré al Laboratorio de Endocrinología y Reproducción, donde el jefe responsable del área, el Dr. Gustavo Gonzales me instruyó en el análisis, descripción e interpretación de data mediante el programa de STATA. Durante este periodo de aprendizaje gané la Beca GeoHealth/Fogarty-NHI para asistir al curso de Investigación en Salud Ambiental, donde mejoré aún más mis habilidades en análisis de datos.

Mi interés sobre las enfermedades zoonóticas en el contexto COVID-19, me llevaron a realizar mis prácticas profesionales en el C.S. San Martín – Ayacucho/VRAEM. Donde me instruí en el manejo clínico y en el área de Control

Vectorial, realizando vigilancia entomológica, cercos epidemiológicos y fumigaciones en epidemias de dengue.

En el 2021, se presentó la oportunidad de laborar en la Red de Salud Satipo; estando contratada por Terceros por dos meses (setiembre y octubre), nueve meses como Cas-COVID y en adelante hasta hoy como Cas Continuidad.

Mediante la Red de Salud Satipo, inicialmente laboré de forma dinámica en el Hospital Manuel Ángel Higa Arakaki y en Campañas de Salud Integral junto con el Comando Conjunto de las Fuerzas Armadas del Perú; entre estas fecha (setiembre 2021 – abril 2022) el Laboratorio Intermedio empezó de forma operativa y luego de su creación (04 de abril del 2022) y equipamiento formé parte del personal (Figura 1).



La Red de Salud Satipo me ha brindado la facilidad de las capacitaciones que ofrece el MINSA, que incluye: “I Taller de Capacitación de Manejo integral y clínico del dengue”, “II Taller de Capacitación de Manejo integral y clínico del dengue”, “Taller teórico-práctico de diagnóstico de malaria”, “Fortalecimiento de

capacidades de las brigadas de atención en toma de muestra y diagnóstico microscópico de malaria”, “Capacitación en vigilancia y control del vector transmisor de malaria” y “Fortalecimiento de los procedimientos técnicos en el laboratorio de micobacterias”.

Así mismo, para ampliar mis conocimientos he llevado el “Curso básico de diagnóstico y manejo de malaria –DOM-2021” que ofrece la OPS.

I.2. Centro de trabajo

El Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo; pertenece a la provincia de Satipo - departamento de Junín. Fue creado en abril del presente año, con la finalidad de tener un ente específico en el análisis de enfermedades transmitidas por vectores y otras sujetas a vigilancias epidemiológicas emergentes en la región, como: Malaria, Tuberculosis, Leishmaniasis, Dengue, etc.; de las Microredes de Satipo y el Hospital Manuel Ángel Higa Arakaki – Satipo.

I.3. Responsabilidades en mi trabajo

I.3.1. Setiembre 2021 – Marzo 2022: Laboratorio Intermedio operativo en el Laboratorio del Hospital Manuel A. Higa Arakaki.

- Toma de muestras serológicas para dengue
- Ejecución de ELISAS NS1 e IgM dengue
- Lectura de muestras de gota gruesa (Malaria)
- Lectura de muestras de Leishmaniasis

I.3.2. Abril 2022 – Actualidad: Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo en el Módulo de Familia José Olaya

- Ejecución de ELISAS NS1 e IgM dengue
- Vigilancia entomológica
- Identificación de larvas de *Aedes sp* y *Anopheles sp*
- Identificación de mosquitos adultos de *Anopheles sp*
- Control de calidad de Gotas Gruesas
- Coordinación con la unidad de Control vectorial
- Apoyo en Campañas de Salud con el Comando Conjunto de las Fuerzas Armadas

I.4. Problema

Falta de un diagnóstico oportuno de dengue en lugares de bajos recursos en áreas endémicas de la provincia de Satipo.

El dengue es una enfermedad viral que no cuenta con un tratamiento específico y la única vacuna tiene limitaciones (1). Es así, que el diagnóstico por laboratorio es una herramienta muy importante para dar un manejo rápido y pertinente al paciente (2).

En el transcurso del tiempo, se han creado distintas técnicas de laboratorio para el diagnóstico molecular, antigénico y serológico del dengue (3). Cada técnica es compleja y requiere de un experto, no solo en la ejecución, sino también en la interpretación del resultado (3). Por esta razón, los laboratorios deben tener en cuenta diversos aspectos en la ejecución misma, el diagnóstico diferencial y la implementación del área.

En el Perú, el Instituto Nacional de Salud (INS) del Ministerio de Salud (MINSA) cuenta con 19 Laboratorios Regionales para el diagnóstico de dengue (4). La cantidad de laboratorios intermedios se desconoce, ya que su creación depende de los intereses de cada red.

En el departamento de Junín, se tiene el Laboratorio Referencial de Junín y, este año, se cuenta con el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo. En este último, se ejecutan análisis de dengue por el método de ELISA; esto, por ser más accesible y de fácil implementación (3). Por otro lado, se trata de evitar la realización de pruebas rápidas de dengue en los establecimientos; ya que, el estado peruano no acepta el diagnóstico por este método (5).

El Laboratorio Intermedio de Satipo tiene como uno de sus objetivos la optimización del diagnóstico de dengue. Ya que, la centralización hace que los principales laboratorios se encuentren en ciudades importantes, lo que dificulta la trazabilidad de las muestras; es así, que frente a un difícil acceso las muestras llegan tardíamente al laboratorio, causando a su vez un diagnóstico tardío para el paciente, muchas veces sin impacto en el manejo de los casos clínicos pues los resultados llegan posterior a la etapa crítica de la enfermedad.

Este manejo inadecuado de los pacientes con sospecha a dengue, que no cuentan con confirmación por laboratorio, genera problemas como sobresaturación de los sistemas de salud por hospitalizaciones innecesarias, administración innecesaria de antibióticos, pobre seguimiento de los casos que pueden evolucionar a manifestaciones severas de la enfermedad.

Específicamente en la provincia de Satipo la realidad es la siguiente: Antes del 2022, el procesamiento de ELISA para detección de dengue en toda la provincia de Satipo, estaba a cargo del Laboratorio del Hospital Manuel Ángel Higa Arakaki (M.A.H.A.). El establecimiento procesaba las muestras de suero de las cinco Microredes de Satipo y sus propias muestras obtenidas.

La ejecución de estas se realizaba en un ambiente compartido con la Unidad de Almacenamiento de Banco de Sangre; que contenía equipos de gran tamaño específicos para la Unidad, dejando un espacio reducido para el ensayo de ELISA.

Además de ello, el problema es la falta de personal capacitado, y no solo en la ejecución del proceso sino también en el sistema de calidad, teniendo un impacto en los resultados confiables. En la provincia de Satipo, el personal no contaba con una capacitación y ninguna guía estandarizada. Lo más cercano a este, eran las fichas técnicas de los kits de dengue que no son lo suficientemente detalladas para que el personal pueda realizar el ensayo de una forma fiel a un control de calidad, trazabilidad, de ensayo, sujeto a diferentes interpretaciones, por no ser estandarizado. He incluso se tenía un desconocimiento del control de calidad interno de cada ficha técnica de ELISA NS1 e IgM.

A esto se suma, que en el periodo 2020 -2021, el único personal que contaba con experiencia en ejecución de ELISA, por temas de comorbilidad en el periodo de COVID, se retiró del Hospital M.A.H.A. Generando que el laboratorio tomara la decisión de aglomerar las muestras de suero y

ejecutarlas de una a cuatro veces por mes. También se vio un mal manejo en la recepción de las muestras y las fichas epidemiológicas.

Por tanto, la falta de personal capacitado, personal especializado en ensayos para diagnósticos de enfermedades febriles, de procedimientos estandarizados, de recursos para contar con estos métodos de diagnósticos para enfermedades febriles conlleva a la falta de diagnóstico oportuno, limitándose a un diagnóstico sindrómico que no es específico debido a la presentación clínica similar de enfermedades febriles y a la co-circulación de estas enfermedades en áreas endémicas. Finalmente, esto conlleva a un manejo inadecuado del paciente, que lleva a un potencial riesgo de complicaciones.

I.5. Justificación

La OMS, en marzo del presente año, lanzó una Iniciativa Global Contra Las Arbovirosis, que implica que los países endémicos tengan un control para reducir la carga de estas enfermedades en su país (6). Esto, porque se están generando brotes masivos importantes de dengue de carácter internacional; y el estado peruano, ha lanzado alertas epidemiológicas, porque hay un incremento de “dengue con signos de alarma” (7).

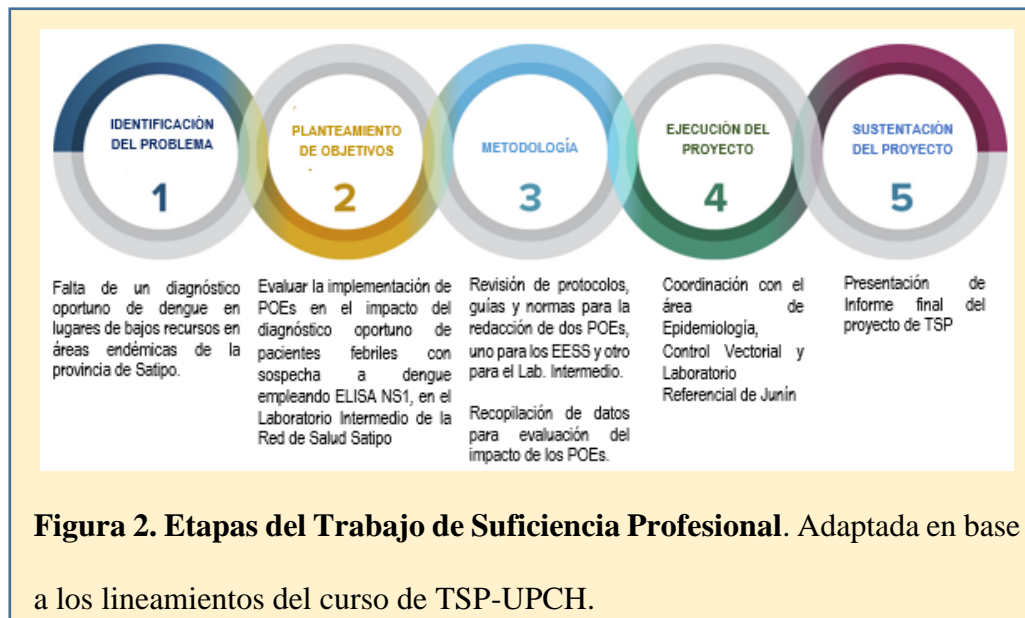
En ausencia de tratamientos virales contra el dengue, el diagnóstico oportuno y la vigilancia y control del vector deben ser reforzados. El diagnóstico oportuno y correcto brindan un apoyo para el manejo del paciente disminuyendo la evolución desfavorable de los pacientes febriles y; por tanto,

la tasa de mortalidad con dengue grave (2). Mientras que la vigilancia y control del vector disminuye la transmisibilidad y propagación del dengue (8). Sin embargo, en el Perú, se tiene que mejorar el diagnóstico por laboratorio, lo que implica llevarlo a todos los lugares endémicos. En la actualidad, los métodos moleculares y serológicos son los más utilizados; sin embargo, los métodos moleculares son más difíciles de implementar (3). En este contexto se justifica ampliamente la implementación del método de ELISA, que es más simple y accesible en laboratorios de recursos limitados como lo es el Laboratorio Intermedio de Satipo.

Por el método de ELISA, se puede detectar la proteína NS1 y el anticuerpo IgM del dengue, para cada uno de estos, existe un kit diferente (3). El NS1 nos indica una infección dentro de los primeros 5 días después de iniciado los síntomas, mientras que el IgM indica una infección reciente mayor a cinco días desde el inicio de la enfermedad (9). Por esta razón, la detección del antígeno NS1 del virus del dengue es prioritario, ya que indica que el paciente se encuentra en la fase febril de esta patología (9). La confirmación de un caso de dengue en esta etapa ayuda a una mejor monitorización del paciente con la intención de evitar complicaciones frente a una evolución desfavorable.

I.6. Etapas del proyecto

Las etapas del Trabajo de Suficiencia Profesional (TSP) se visualizan en la Figura 2.



I.7. Competencias profesionales que se aborda

Este Trabajo de Suficiencia Profesional abarca las Ciencias de la Salud - Medicina Tropical; en específico enfermedades metaxénicas (dengue). Aquí se dispone del conocimiento adquirido durante cinco años de estudio en la carrera de biología y la experiencia profesional dentro de esta área.

I.8. Objetivos

I.8.1. Objetivo principal

Evaluar el impacto de la implementación de Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs) en el diagnóstico oportuno de pacientes febriles con sospecha a dengue empleando el ensayo de ELISA NS1 en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

I.8.2. Objetivos específicos

- Redactar el Procedimiento Operativo Estándar para los establecimientos de salud de Satipo sobre la recolección, conservación y envío de muestras de suero al Laboratorio Intermedio.
- Redactar el Procedimiento Operativo Estándar para el ensayo de ELISA NS1 de dengue que incluye la recepción y conservación de suero, realización del ELISA y emisión de resultados en el Laboratorio Intermedio, y envío de sueros al Laboratorio Referencial de Junín.
- Evaluar la calidad interna del ensayo de ELISA NS1 en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.
- Evaluar la eficacia de la implementación de los POEs a través del tiempo de emisión de resultados del ensayo de ELISA NS1 y del porcentaje de hospitalizaciones.
- Evaluar la efectividad de la implementación de los POEs a través de la relación de la seropositividad por NS1 con el número de cercos epidemiológicos.

II. MARCO TEÓRICO

II.1. Dengue

Es una enfermedad febril infecciosa, originada por transmisión del virus del dengue (DENV), transmitida por la picadura del mosquito infectado del

género *Aedes*, principalmente por *Aedes aegypti* (10–12), que se encuentra actualmente extendido en zonas tropicales y adyacentes a estas (11).

Esta enfermedad es causada por cuatro serotipos del DENV serológicamente diferenciables en 1,2,3,y 4; que pertenecen al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae* (10). El DENV está constituido por un genoma de ARN de cadena positiva simple, que codifica tres proteínas estructurales (envoltura [E], premembrana [prM] y cápside [C]) que dan lugar a una forma esférica de 40 a 50 nm (13). El genoma de DENV también codifica 7 proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5), las cuales forman un complejo de replicación que amplifica el genoma viral; además, presentan un rol importante en la interacción con las proteínas del hospedero para la replicación exitosa del virus (13,14).

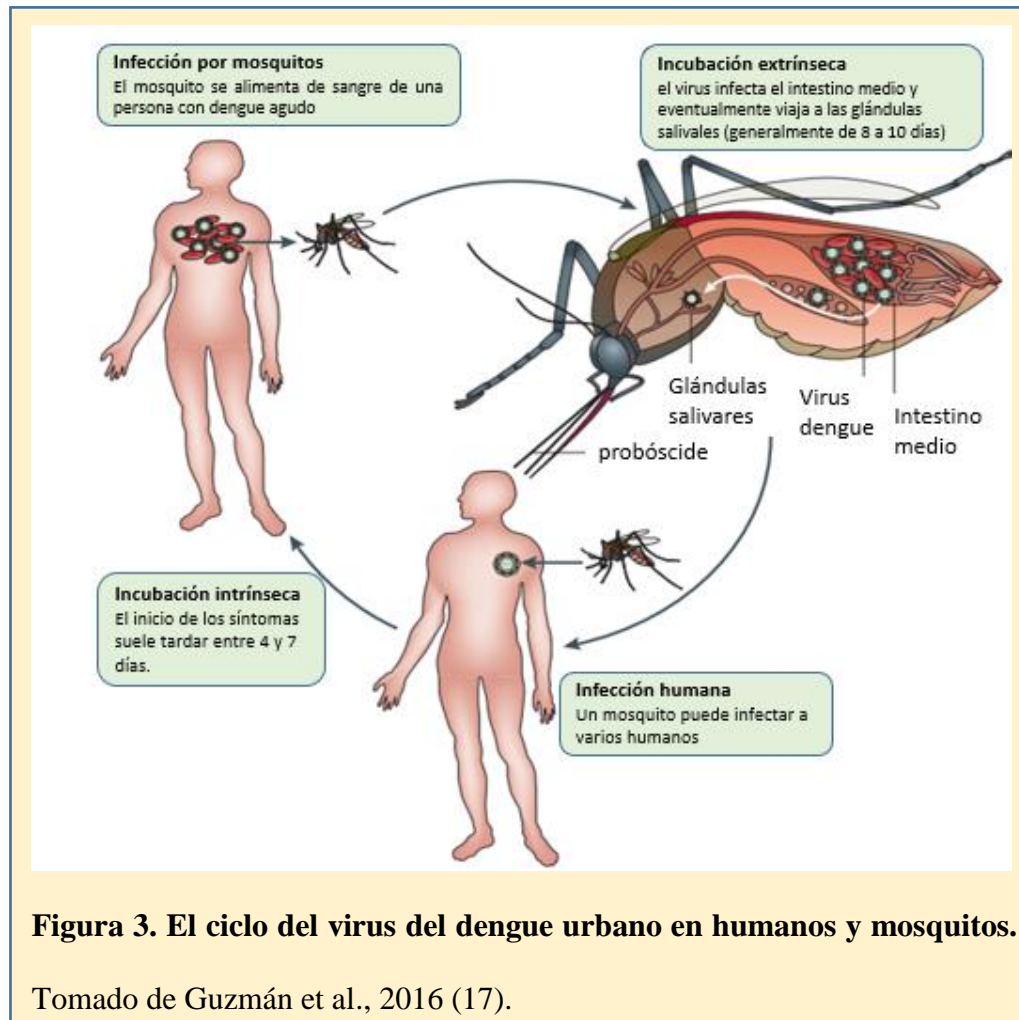
II.2. El vector

El principal vector en las américas es el *A. aegypti*, un mosquito existente alrededor de la vivienda, en un rango de no más de 100 metros; que se desarrolla en depósitos de agua limpia, donde las hembras ovopositan sobre el nivel del agua y en las superficies del recipiente (15). En zonas lluviosas, como la selva, los recipientes preferidos por estos mosquitos son aquellos que se encuentran en desuso o desechados como latas, botellas, floreros, llantas o envases que retengan de precipitaciones; mientras que en lugares secos, como la costa, en la mayoría son envases de almacenamiento de agua tales como tanques, barriles, tinajas y baldes (15,16).

II.3. Transmisión del virus

El ciclo comienza cuando el mosquito hembra se infecta al alimentarse de sangre de un hospedero en la fase febril, que es la más virémica de la enfermedad (10). A partir de aquí, se observan dos periodos de incubación, el extrínseco que se da dentro del mosquito y el intrínseco, dentro del hospedero humano (17).

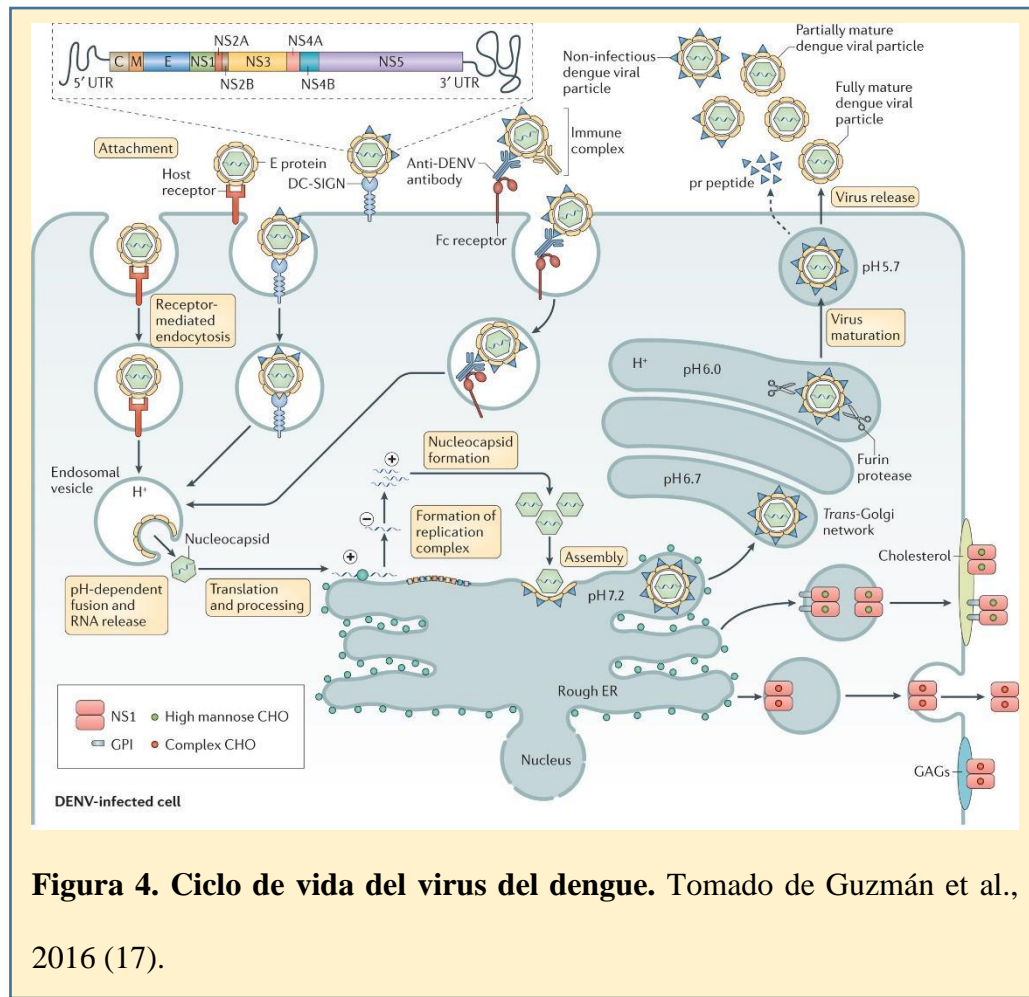
El período de incubación extrínseco, es donde el virus infecta primero las células del intestino medio y posteriormente se dispersa para replicarse en diversos tejidos del mosquito logrando infectar las glándulas salivales. Finalizado esto, el mosquito se convierte en infeccioso y transmite el virus a través de la picadura al hospedero humano (17). Cabe resaltar, que el mosquito es infeccioso permanentemente y seguirá infectando mientras se alimente o intente alimentarse. Una vez infectado el humano, comienza el período de incubación intrínseco, que se define como el tiempo desde la transmisión del virus hasta el desarrollo de la enfermedad, variando de 3-14 días, con una media de 4 - 7 días (17,18) (Figura 03).



II.4. Ingreso del virus y su replicación

La replicación del DENV ocurre en el citoplasma de la célula infectada. El virus infecta a una célula mediante la interacción de su proteína de envoltura (E) a diferentes receptores como Fc receptor y DC-SIGN (19); y por medio de la endocitosis ingresa a la célula hospedera. Dentro, la proteína de envoltura (E), sufre un reordenamiento que ayuda a la fusión de la membrana viral y endosomal para liberar la nucleocápside. Esta, a su vez, libera el ARN genómico que se puede usar como ARN mensajero para traducir una poliproteína en el retículo endoplásmico (RE) rugoso o usarse como base para

generar más réplicas del genoma (2,20). Si se traduce en poliproteína, esta es procesada por proteasas virales (NS3) y celulares (peptidasas resistentes en el RE), para el desarrollo de 3 proteínas estructurales, C, prM y E, y siete no estructurales, NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5 (2). Las proteínas NS liberadas van hacia el sitio de replicación en paquetes de vesículas para iniciar la transcripción; el NS1 se une a la membrana y también se ancla a glicosil-fosfatidilinositol (GPI) (17). Mientras tanto, la forma precursora de la proteína de membrana (M) (prM) y la proteína E se incrustan en la membrana del RE y engulle la nucleocápside recién formada mientras se forma una partícula inmadura. Esta partícula se transporta a través de la vía secretora y la red trans -Golgi provoca un reordenamiento de las proteínas prM y E que permite la escisión de prM por la furina proteasa para formar la proteína M madura. El virión se libera de la célula hospedera con la liberación del péptido pr (flecha discontinua) (17) (Figura 4).



II.5. Patogenia inducida por NS1 y su importancia en el diagnóstico de laboratorio.

La proteína no estructural -1 (NS1), es una glicoproteína que se encuentra producida intracelularmente como un monómero, luego pasa al Retículo Endoplasmático (R.E.) donde se dimeriza encontrándose asociada a la superficie celular formando parte del complejo de replicación del ARN, esta misma puede oligomerizarse en un hexámero y ser secretada en el torrente sanguíneo durante la fase aguda de enfermedad (21) (Figura 5).

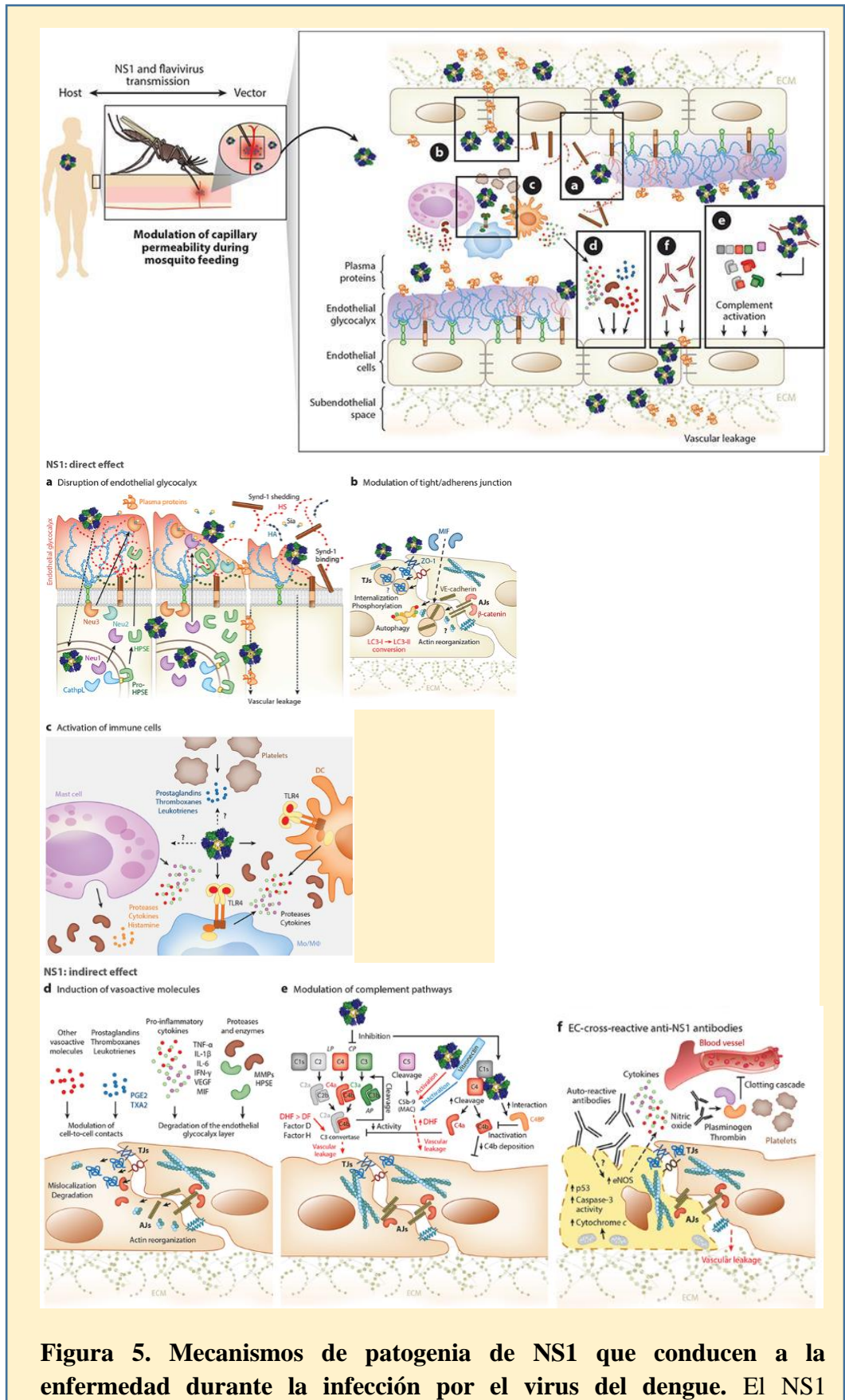


Figura 5. Mecanismos de patogenia de NS1 que conducen a la enfermedad durante la infección por el virus del dengue. El NS1

oligomerizado influye en la transmisión del virus del dengue, de humanos a mosquitos, ayudando al virus a penetrar la barrera de intestino medio del mosquito; y a la inversa, el NS1 en el mosquito infectado ayuda en la permeabilidad capilar de la dermis del huésped impactando en la diseminación viral en humanos. (a) La interacción directa de NS1 del DENV con células endoteliales conduce a una mayor expresión y/o activación de catepsina L; heparanasa; y las sialidasas endoteliales Neu1, Neu2 y Neu3, lo que provoca la interrupción y el desprendimiento de componentes clave del glucocáliz (HS, Synd-1, Sia). (b) NS1 también modular las proteínas de unión intercelular, lo que resulta en hiperpermeabilidad endotelial. (c, d) NS1 puede activar directamente las células inmunitarias que expresan TLR4 para desencadenar la secreción de citoquinas proinflamatorias que causan disfunción endotelial. NS1 también puede estimular la secreción de otras moléculas solubles con actividades vasoactivas y proteolíticas que pueden afectar la integridad de la barrera endotelial (p) NS1 contribuye a la evasión inmunitaria a través de la interacción con componentes de la vía del complemento, lo que lleva a su activación (p. ej., C3 convertasa; Factor D, Factor H, C5b-9) o degradación (p. ej., C4b, C5b-9). Por lo tanto, NS1 protege al DENV de la eliminación mediada por el complemento y a las células infectadas por el DENV de la lisis mediada por el complemento, lo que conduce a una mayor replicación viral y contribuye potencialmente a la lesión endotelial que produce una fuga vascular. (f) Los anticuerpos anti-NS1 de reactividad cruzada también pueden contribuir a la patogénesis del DENV al unirse a las plaquetas y los componentes de la cascada de la coagulación (p. ej., plasminógeno, trombina) y pueden reconocer epítomos autorreactivos expresados en la superficie de las células endoteliales, potencialmente conduce al daño de las células endoteliales a través de la apoptosis.

Abreviaturas: *AJ*, uniones adherentes; *AP*, vía alternativa; *CathpL*, catepsina L; *CP*, vía clásica; *DC*, célula dendrítica; *DENV*, virus dengue; *DHF*, Fiebre del dengue hemorrágico; *DF*, fiebre del dengue; *EC*, célula endotelial; *eNOS*, óxido nítrico sintasa endotelial; *HPSE*, heparanasa; *HS*, sulfato de heparán; *IFN*, interferon; *IL*, interleuquina; *LC3*, cadena ligera 3; *LP*, vía de Lectina; *MAC*, complejo de ataque a la membrana; *MIF*, factor inhibidor de migración; *MMP*, metaloproteinasas de la matriz; *Mo*, monocito; *MΦ*, macrófago; *Neu*, neuraminidasa; *NS1*, proteína no estructural 1; *PGE*, prostaglandina; *Sia*, ácido siálico; *Synd-1*, sindecán-1; *TJ*, unión estrecha; *TLR4*, receptor tipo Toll 4; *TNF*, factor de necrosis tumoral; *TXA*, tromboxano; *VE*, endotelial vascular; *VEGF*, factor de crecimiento vascular endotelial; *ZO*, zonula ocludens. Tomado de Glasner et al., (21)

Hong et. al. menciona que, la concentración sérica de NS1 en personas infectadas con el virus del dengue puede alcanzar hasta 50 µg/ml, y su concentración se correlaciona positivamente con la gravedad de la enfermedad; y la presencia de NS1 secretada es un marcador temprano de infección (22).

II.6. Curso de la enfermedad

La infección por dengue se origina de manera abrupta luego de un periodo de incubación de entre 4 y 7 días, y la enfermedad mantiene un curso de tres fases: febril, crítica y de convalecencia (23).

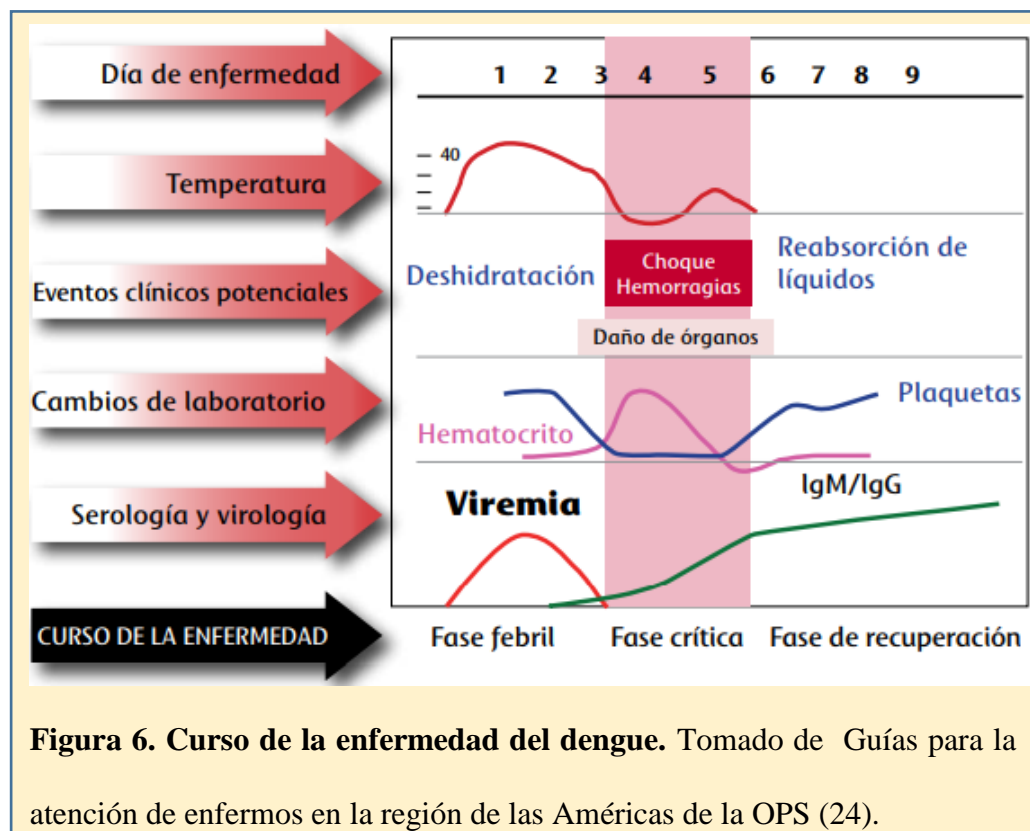


Figura 6. Curso de la enfermedad del dengue. Tomado de Guías para la atención de enfermos en la región de las Américas de la OPS (24).

II.6.1. Fase febril

Se manifiesta por una febrícula súbita de alto grado y deshidratación que suele permanecer entre 2 - 7 días, acompañada

de dolor de cabeza, articular, muscular, corporal y molestia retroocular y ocular a la presencia de luz brillante (10). La primera manifestación cutánea es el enrojecimiento del torso dentro de las 24 a 48 horas iniciales, con una ligera erupción pruriginosa, el cual se halla por encima del 50% de los casos (9,10). La evidencia de hemorragia va desde la presencia de sangrado bucal, equimosis, petequias y positivo al signo del Torniquete (24). Otros síntomas poco comunes son la presencia de náuseas, vómitos, anorexia y odinofagia (10). Por otro lado, lo evidenciado en los análisis del laboratorio es la disminución de plaquetas por debajo de 150000cel/mm³, leucocitos por debajo de 4000cel/mm³ e incremento del hematocrito (10).

En esta fase, la mayoría de los pacientes no presentan complicaciones y se recuperan; sin embargo, algunos pocos generan síntomas secundarios a la fuga capilar, y entran en la fase crítica (24) (Figura 6, Tabla 1).

II.6.2. Fase crítica

Su principal cuadro clínico es la extravasación de plasma, sangrado y daño grave de órganos (10). Esta etapa, es marcada por el incremento del hematocrito causada por un aumento en la filtración capilar; clínicamente, esto suele durar de 24 a 48 horas (25). A esto, se precede una leucopenia progresiva seguida de una plaquetopenia; si no se logra disminuir la permeabilidad capilar,

habrá pérdida de volumen plasmático y el paciente entrará en shock, pudiendo tener derrames pleurales, hipoproteinemias, ascitis o hemoconcentración (24).

Con un shock prolongado, la hipoperfusión de órganos da como resultado un daño orgánico continuo, coagulación intravascular generalizada y acidosis metabólica, esto conduce a una hemorragia grave que causa una disminución del hematocrito conllevando a un estado de shock grave, donde se da un aumento del recuento total de leucocitos (24,26). Adicionalmente, puede generar alteraciones graves como miocarditis, hepatitis y/o hemorragias graves sin fuga de plasma o shock evidentes (24) (Figura 6, Tabla 1).

II.6.3. Fase de recuperación

Esta persiste entre 2 - 3 días y se distingue por la resorción de líquidos, mejora del estado general, estabilización del estado hemodinámico y aumento de la diuresis. En algunos pacientes se da la aparición de una erupción de "islas blancas en el mar rojo", prurito diseminado, bradicardia y alteraciones electrocardiográficas (27).

El hematocrito se mantiene o llega a disminuir a causa de la dilución del líquido reabsorbido, y el recuento de leucocitos comienza a subir a medida que disminuye la fiebre, seguido del

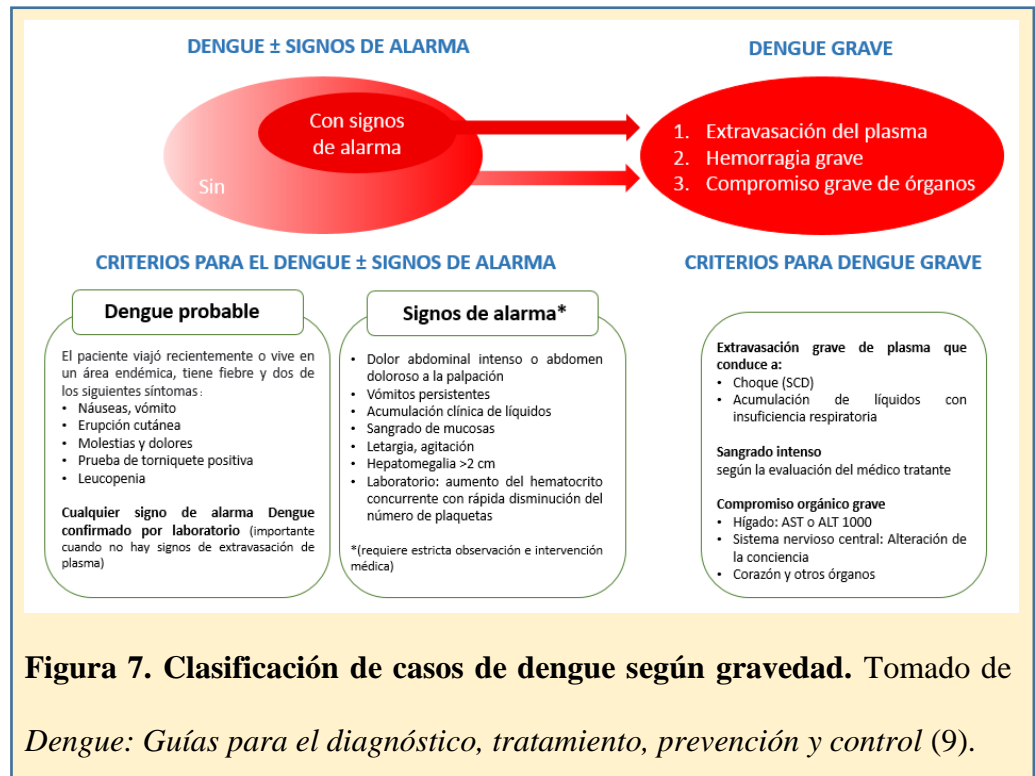
aumento de plaquetas dentro de los valores normales (28) (Figura 6, Tabla 1).

Fase	Problema clínico
Febril	Deshidratación. La fiebre alta puede asociarse a trastornos neurológicos y convulsiones en niños.
Crítica	Choque por la extravasación de plasma; hemorragias graves, compromiso grave de órganos.
Recuperación	Hipervolemia (si el tratamiento intravenoso con líquidos ha sido excesivo o se ha extendido en esta fase).

Tabla 1. Problemas clínicos en las fases del dengue. Tomado de *Guías para la atención de enfermos en la región de las Américas – Organización Panamericana de la Salud (OPS) (24).*

II.7. Clasificación del dengue según su gravedad

La OMS, en el año 2009, propuso una nueva clasificación del dengue, esto por tener inconvenientes con la clasificación anterior, es por ello que se tiene: dengue con/sin signos de alarma y dengue grave (15). Esta clasificación actualizada brinda un mejor manejo de los pacientes en los establecimientos por niveles de atención según su gravedad, siendo los no graves atendidos en los de primer nivel, y lo graves en los de segundo y tercer nivel de atención donde reciben una atención más especializada (9,29). En la Figura 7 se detallan los criterios de calificación:



II.8. Métodos de diagnóstico de laboratorio

Existe los métodos directos e indirectos (30):

- **Directos:** Son aquellos que detectan componentes del virus dengue. La principal técnica es el RT-PCR que detecta el genoma viral, mientras que el Ensayo de Flujo Lateral (LFA) y ELISA detectan la proteína viral NS1(30). El resultado positivo indica que el virus está presente en la persona (Figura 8).
- **Indirectos:** Son aquellos que detectan anticuerpos producidos por la exposición al virus como anticuerpos específicos antivirales por técnicas inmunológicas (ELISA IgM e IgG) y

la neutralización (30). Un resultado positivo indica que la persona estuvo expuesta al virus (Figura 8).

La CDC recomienda realizar el examen de laboratorio para la detección del dengue a toda persona que viva o haya viajado a un área endémica y haya manifestado recientemente signos y síntomas de la enfermedad (dolor de cabeza, fiebre, malestar general, sarpullido, evidencias de sangrado, et.), estos pueden ser leves o graves (31).

Durante los primeros siete días de la enfermedad se pueden realizar las pruebas directas sean moleculares o antigénicas. Pasado los siete días, solo se podrá realizar pruebas serológicas (detección de anticuerpos) y de tejido (31) (Tabla 2).

Pruebas de laboratorio complementarias, cuando presenten signos de alarma (11) son: Biometría hemática, análisis del líquido cefalorraquídeo, mientras no haya riesgo de sangrado y en casos de shock se solicita gasometría, perfil hepático y renal.

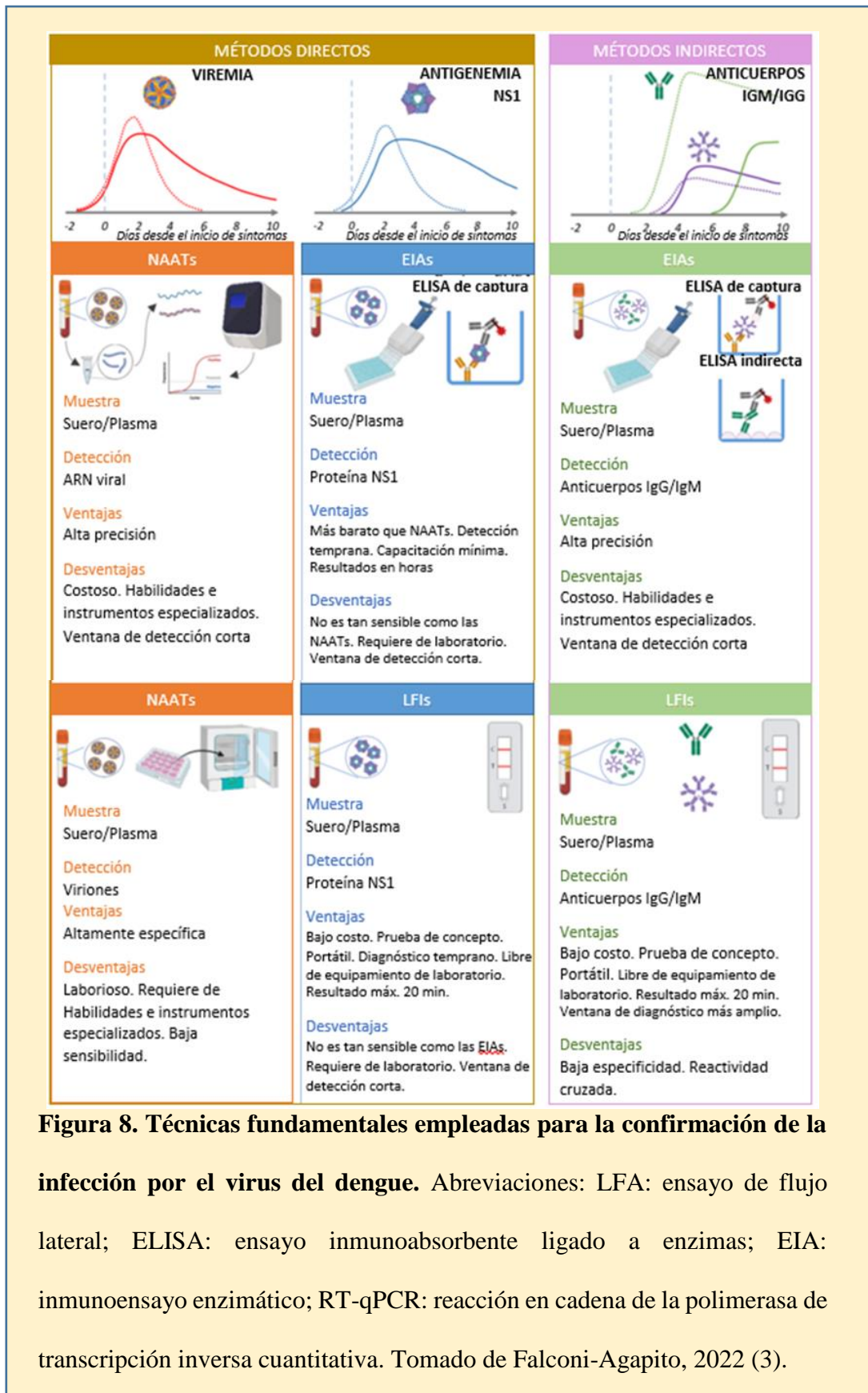


Figura 8. Técnicas fundamentales empleadas para la confirmación de la infección por el virus del dengue. Abreviaciones: LFA: ensayo de flujo lateral; ELISA: ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas; EIA: inmunoensayo enzimático; RT-qPCR: reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa cuantitativa. Tomado de Falconi-Agapito, 2022 (3).

Prueba de diagnóstico	≤7 días después de que comienza los síntomas	>7 días después de que comienza los síntomas	Tipos de muestras
Pruebas moleculares	SI	–	Suero, plasma, sangre entera, líquido cefalorraquídeo *
Detección de antígenos del virus del dengue (NS1)	SI	–	suero
Pruebas serológicas	SI	SI	suero, líquido cefalorraquídeo*
Pruebas de tejidos	SI	SI	Tejido fijado

* Se recomienda hacer análisis de líquido cefalorraquídeo en los pacientes con infección presunta y con manifestaciones clínicas en el sistema nervioso central, como encefalopatía y meningitis aséptica.

Tabla 2. Pruebas de diagnóstico y tipo de muestra, según el tiempo de enfermedad. Tomado de <https://www.paho.org/es/temas/dengue>, accedido en octubre, 2022.

II.8.1. Diagnóstico con ELISA NS1

El ELISA NS1 es una técnica de carácter inmunoenzimático de tipo Sandwich dado en formatos de microplacas para el análisis cualitativa y semicuantativa de la proteína no estructural 1 (NS1) del DENV en la muestra serológica (32). Esta prueba usa anticuerpos monoclonales de ratón (AcM) para su captación y revelación (32).

La detección del NS1 en muestras serológicas de los pacientes, se realiza para el diagnóstico precoz de la infección por dengue, porque el antígeno NS1 se encuentra circulando en sangre desde el 1ro al 9no día desde la aparición de la fiebre, con picos de producción entre los días 0 a 4 posterior al inicio de síntomas (33).

Dussart et al. realizó una evaluación y comparación del rendimiento de las pruebas comerciales para detección del antígeno NS1 del DENV con las marcas de Platelia Dengue NS1 Ag de Bio-Rad Laboratories, Dengue NS1 Ag STRIP y pan-E Dengue Early ELISA, donde muestra las sensibilidades según los días de inicio de enfermedad (Tabla 3) y en función al serotipo (Tabla 4) (34).

Day after onset of fever*	No. of sera tested	Platelia Dengue NS1 Ag test		Dengue NS1 Ag STRIP 15 min.		Dengue NS1 Ag STRIP 30 min.		pan-E Dengue Early ELISA		MAC-ELISA	
		No. of positive tests	Sensitivity (%) [95% CI]	No. of positive tests	Sensitivity (%) [95% CI]	No. of positive tests	Sensitivity (%) [95% CI]	No. of positive tests	Sensitivity (%) [95% CI]	No. of positive tests	Sensitivity (%) [95% CI]
0	20	19	95.0 [75.1–99.9]	16	80.0 [56.3–94.3]	17	85.0 [62.1–96.8]	13	65.0 [40.8–84.6]	1	5.0 [0–24.9] ^b
1	74	64	86.5 [76.5–93.3]	61	82.4 [71.8–90.3]	61	82.4 [71.8–90.3]	38	51.4 [39.4–63.1]	1	1.4 [0–7.3] ^b
2	60	56	93.3 [83.8–98.2]	51	85.0 [73.4–92.9]	51	85.0 [73.4–92.9]	40	66.7 [53.3–78.3]	3	5.0 [1.0–13.9]
3	42	36	85.7 [71.5–94.6]	35	83.3 [68.6–93.0]	35	83.3 [68.6–93.0]	27	64.3 [48.0–78.4]	7	16.7 [7.0–31.4]
4	24	18	75.0 [53.3–90.2]	17	70.8 [48.9–87.4]	18	75.0 [53.3–90.2]	14	58.3 [36.6–77.9]	7	29.2 [12.6–51.1]
5	18	8	44.4 [21.5–69.2]	8	44.4 [21.5–69.2]	8	44.4 [21.5–69.2]	8	44.4 [21.5–69.2]	15	83.3 [58.6–96.4]
6	15	14	93.3 [68.1–99.8]	12	80.0 [51.9–95.7]	13	86.7 [59.5–98.3]	5	33.3 [11.8–61.6]	15	100 [78.2–100] ^b
≥7	19	9	47.4 [24.4–71.1]	7	36.8 [16.3–61.6]	8	42.1 [20.3–66.5]	5	26.3 [9.1–51.2]	19	100 [82.4–100] ^b
Total	272	224	82.4 [77.3–86.7]	207	76.1 [70.6–81.0]	211	77.6 [72.1–82.4]	150	55.1 [49.0–61.2]	68	25.0 [20.0–30.6]

*Onset of fever is defined as day 0 if blood samples were collected within the first 24 h after the onset of the disease.
^bOne-sided test, 97.5% confidence interval.

Tabla 3. Sensibilidades de Platelia Dengue NS1 Ag test, Dengue NS1 Ag STRIP, pan-E Dengue Early ELISA y MAC-ELISA según el número de días desde el inicio de la fiebre en pacientes con infección por DENV (n = 272). Tomado de Dussart-Philippe, 2008 (34).

Serotype	No. of sera tested	Platelia Dengue NS1 Ag test		Dengue NS1 Ag STRIP 15 min.		Dengue NS1 Ag STRIP 30 min.		pan-E Dengue Early ELISA	
		No. of positive tests	Sensitivity % [95% CI]	No. of positive tests	Sensitivity % [95% CI]	No. of positive tests	Sensitivity % [95% CI]	No. of positive tests	Sensitivity % [95% CI]
DENV-1	33	30	90.9 [75.7–98.1]	27	81.8 [64.5–93.0]	27	81.8 [64.5–93.0]	28	84.8 [68.1–94.9]
DENV-2	42	36	85.7 [71.5–94.6]	34	81.0 [65.9–91.4]	34	81.0 [65.9–91.4]	30	71.4 [55.4–84.3]
DENV-3	101	88	87.1 [79.0–93.0]	82	81.2 [72.2–88.3]	83	82.2 [73.3–89.1]	66	65.3 [55.2–74.5]
DENV-4	46	40	87.0 [73.7–95.1]	38	82.6 [68.6–92.2]	39	84.8 [71.1–93.7]	10	21.7 [10.9–36.4]
Total	222	194	87.4 [82.3–91.5]	181	81.5 [75.8–86.4]	183	82.4 [76.8–87.2]	134	60.4 [53.4–66.8]

Tabla 4. Sensibilidad de la prueba Platelia Dengue NS1 Ag, Dengue NS1 Ag STRIP y pan-E Dengue Early ELISA en función del serotipo del virus del dengue detectado por RT-PCR y/o aislamiento del virus (n = 222). Tomado de Dussart-Philippe, 2008 (34).

En el Perú, el kit de ELISA para detección del antígeno NS1 del DENV, es distribuido por el Ministerio de Salud a través del Centro Nacional de Abastecimiento de Recursos Estratégicos en la Salud (CENARES) a todos los laboratorios. El PLATELIA™ DENGUE NS1 Ag de la marca Bio-Rad, es el kits utilizado en el país; este, según su ficha técnica, tiene una especificidad del 100% y una sensibilidad de 93.3% - 100% según serotipo, y del 52.6% - 100% (hasta el 5to día posterior a la fecha de inicio de síntomas) según el tiempo de enfermedad (32).

II.9. Distribución del dengue en las Américas

El dengue se introdujo en las Américas durante el siglo XVII y se extendió por el mundo a medida que se expandía la industria naviera (17). En las Américas, los primeros reportes de epidemias de dengue, fueron en el Caribe en 1827, expandiéndose hacia el Sur y posteriormente hacia el Norte (35). Actualmente, el dengue se encuentra distribuido por el mundo (Figura 9).

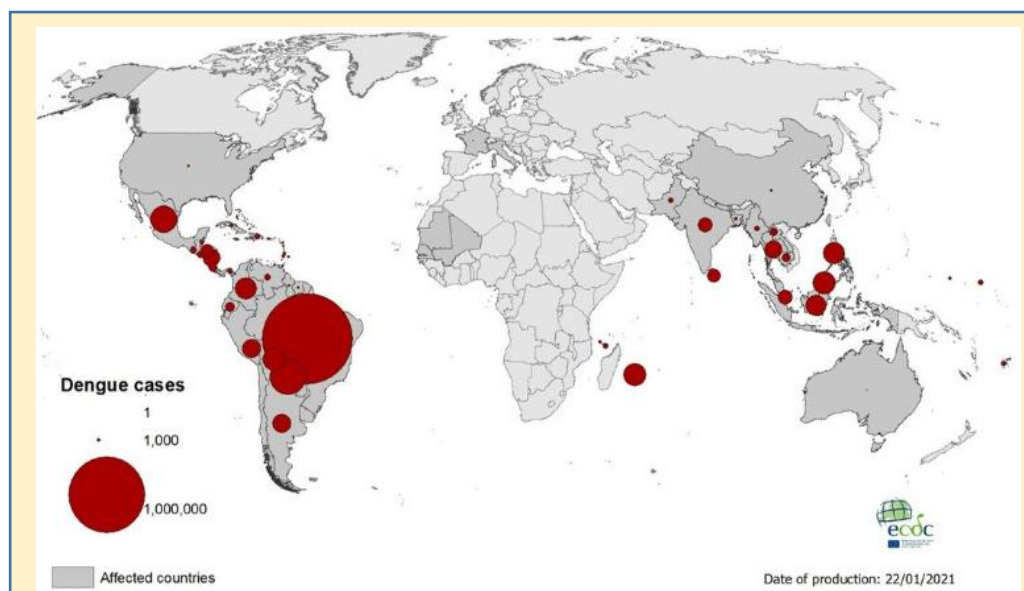


Figura 9. Distribución geográfica de los casos de dengue notificados a nivel mundial, 2020. Tomado de

<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/geographical-distribution-dengue-cases-reported-worldwide-2020>. Accedido en octubre, 2022.

En las Américas, en el presente año, 2022 (hasta la SE 37), se han notificado un total de 2 420 792 casos de dengue, con la incidencia acumulada de 244.08 casos por 100 000 habitantes. Mientras que, en el año del 2019 se registró el mayor número de casos de dengue, desde que la Organización Panamericana de la Salud (OPS) comenzó a consignar información de los casos de dengue desde 1980 (36) (Gráfico 01).

Solo en el 2022, el número de caso fue incrementando hasta alcanzar un pico máximo en la semana epidemiológica 18; luego de esto los casos fueron disminuyendo hasta la fecha (SE 37) (Gráfico 2) (36).

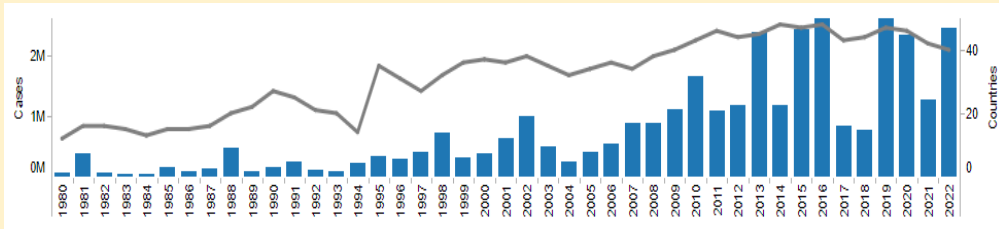


Gráfico 1. Reporte de casos de dengue en las Américas de 1980 – 2022.

Tomado de OPS - Actualización epidemiológica anual para dengue, chikungunya y Zika en 2022 (36).

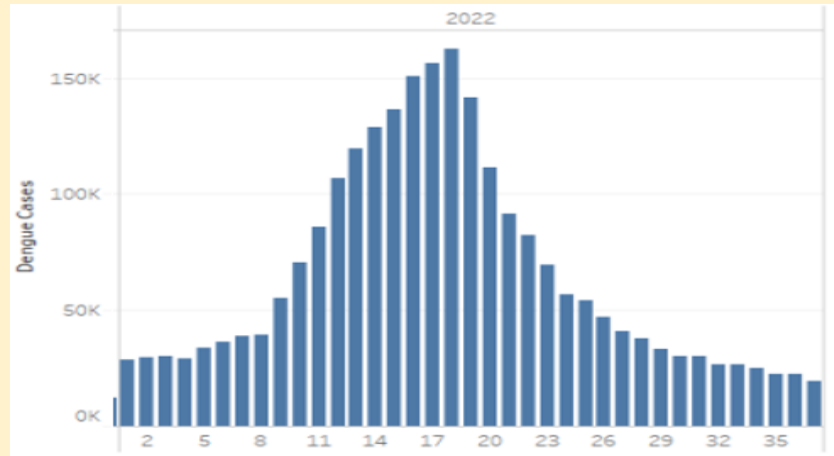
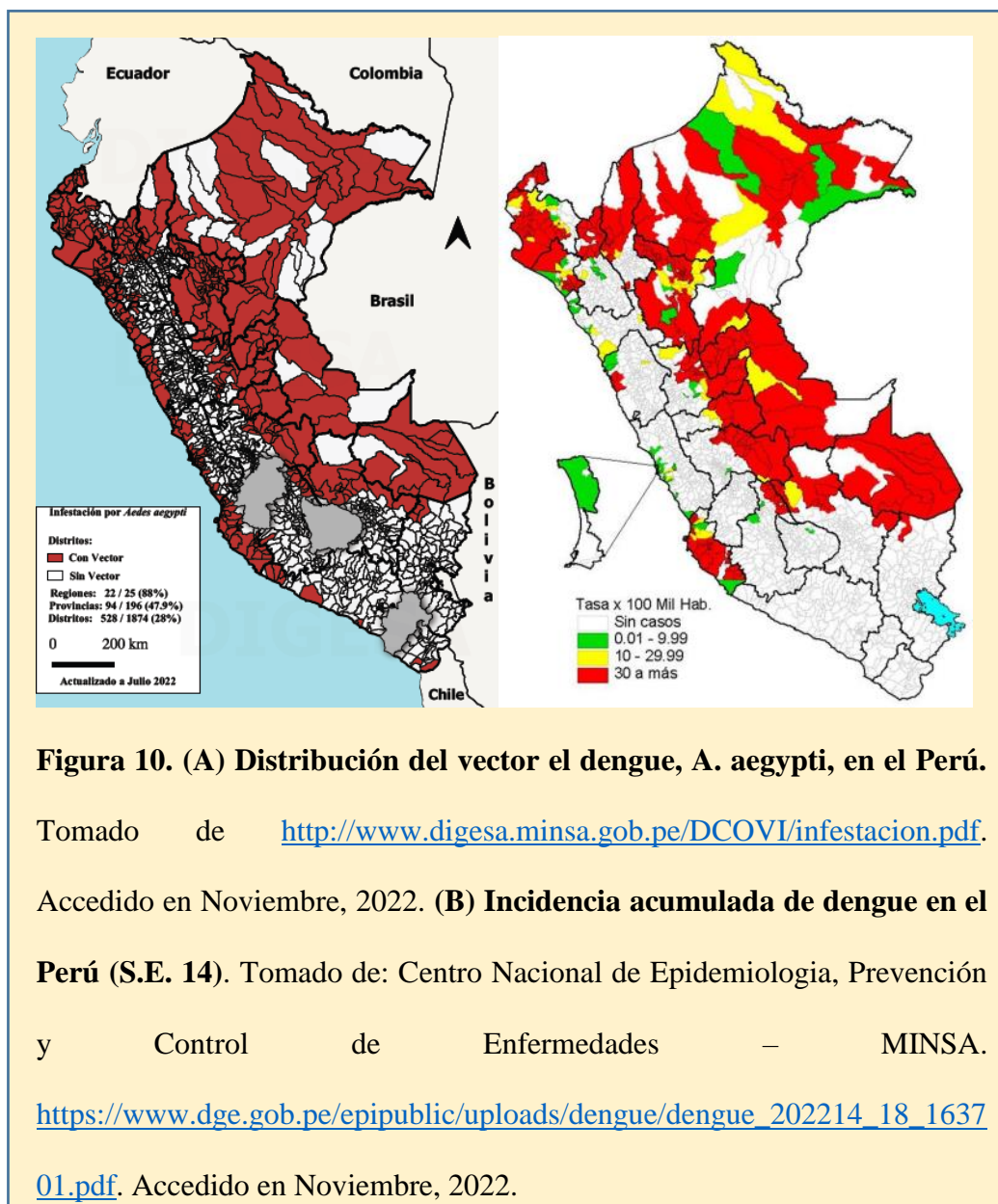


Gráfico 2. Distribución de los casos de dengue en las Américas por semana epidemiológica, 2022. Tomado de OPS - Actualización epidemiológica anual para dengue, chikungunya y Zika en 2022 (36).

II.10. Distribución del dengue en el Perú

En el Perú, actualmente, 22 de las 25 regiones manifiestan la presencia del vector *A. aegypti* desde la re-infestación en 1984, esto conforma un total de 94 provincias (37) (Figura 10).



En relación a los serotipos del dengue, en el Perú se tiene los cuatro serotipos denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4. (38). En 1990, ingresa el DENV-1 del genotipo americano/africano; en 1995 el DENV-1 genotipo americano; en el 2001 se produce una gran epidemia detectándose simultáneamente, el DENV-3 genotipo III y el DENV-4 genotipo indonesia; en el 2010 se produce otra gran epidemia dando el ingreso al DENV-2

genotipo americano/asiático; en el 2019, a causa del COVID-19 los casos de dengue aumentan y en el departamento de Madre de Dios y Cuzco se detecta el DENV-2 genotipo cosmopolita; y por último, recientemente, en el 2020 en el departamento de Loreto se detectó el DENV-1 genotipo V (3,38–40) (Tabla 5).

SEROTIPO	GENOTIPO	AÑO DE INGRESO PERÚ
DENV-1	AMERICANO/AFRICANO	1990
	AMERICANO	1995
	V	2020
DENV-2	AMERICANO/ASIATICO	2010
	COSMOPOLITA	2019
DENV-3	III	2001
DENV-4	INDONESIA	2001

Tabla 5. Genotipos del virus dengue circulantes en el Perú. Adaptado de Falconi, 2022; Mamani (2009-2010); Figueroa 2020 (3,38–40), respectivamente.

Según el Ministerio de Salud del Perú, en el presente año, hasta la S.E. 40, el número de casos de dengue fue de 60 986, contando con un total de 76 muertos. Registrándose un pico de casos positivos en la S.E. 16 (41) (Gráfico 3).

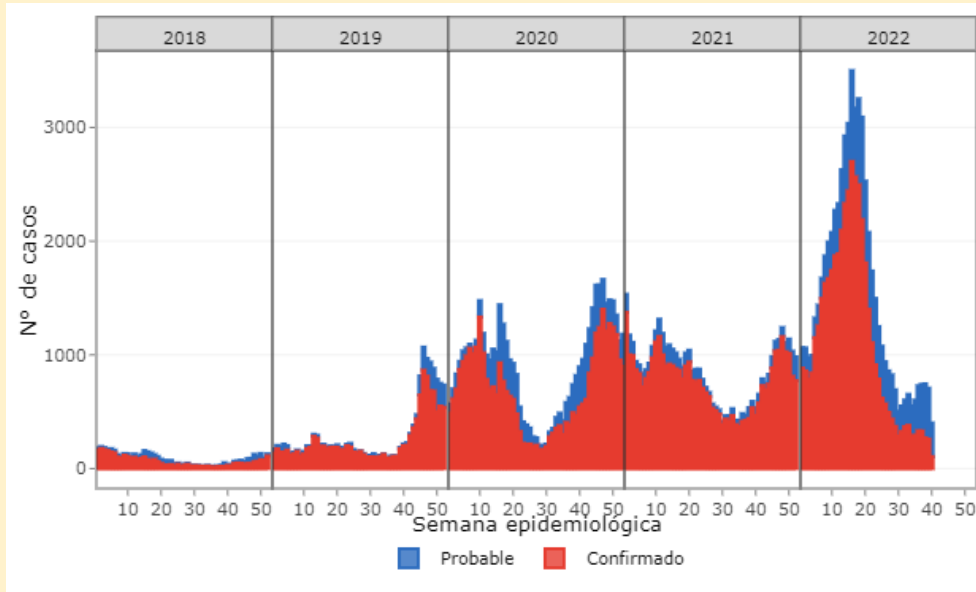


Gráfico 3. Número de casos de dengue por semana epidemiológica, Perú 2018-2022 (SE40). Tomado de Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades-MINSA (41).

A continuación, se muestran los números de casos dengue por departamento del Perú en el 2022 (Figura 11). Evidenciando que el departamento de Piura encabeza el primer lugar, en lo que va del 2022.

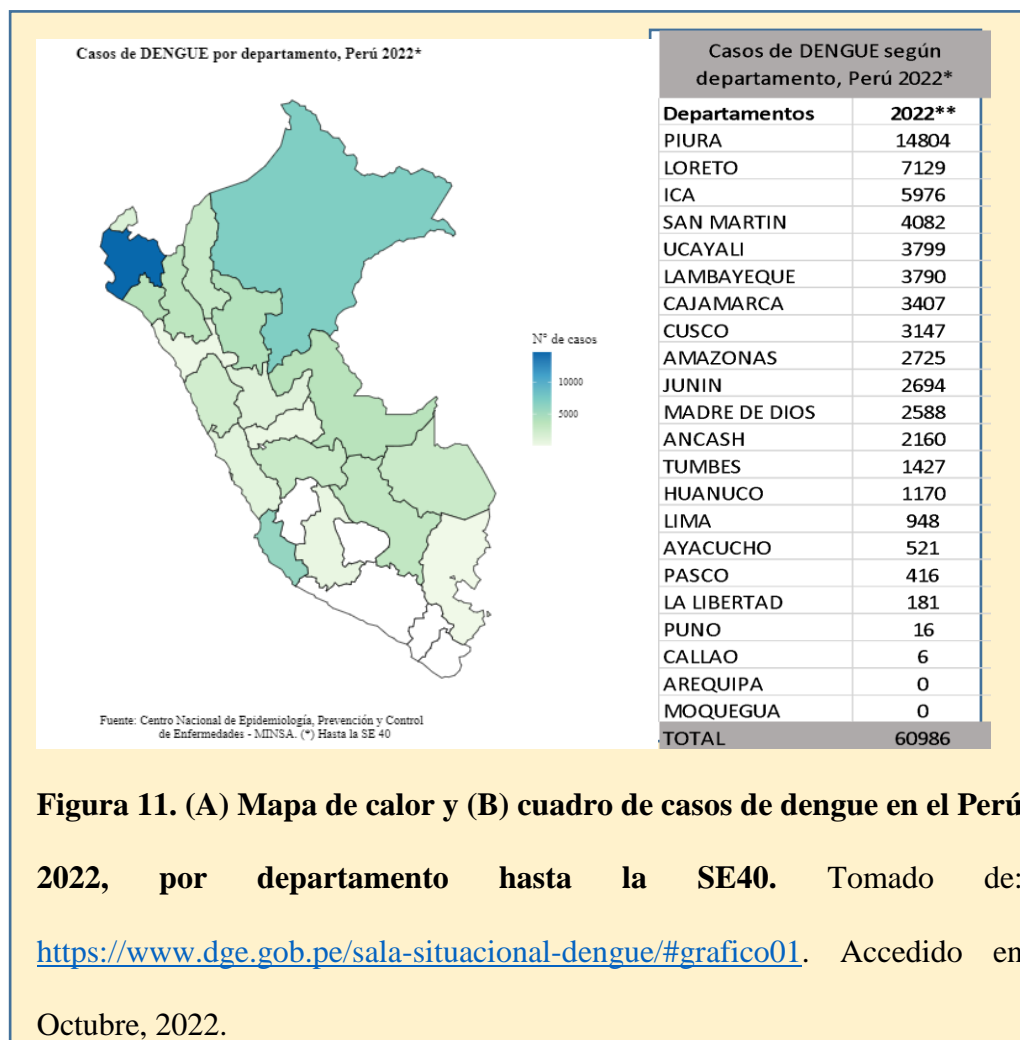


Figura 11. (A) Mapa de calor y (B) cuadro de casos de dengue en el Perú 2022, por departamento hasta la SE40. Tomado de: <https://www.dge.gob.pe/sala-situacional-dengue/#grafico01>. Accedido en Octubre, 2022.

II.11. Norma técnica y reactivos para diagnóstico de dengue en el Perú

Actualmente, en el Perú, se tiene la “*Norma técnica de salud para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue, chikungunya, zika y otras arbovirosis en el Perú*” – 2019 (5), que es un documento elaborado con la finalidad de fortalecer la vigilancia epidemiológica, detectar oportunamente e investigar el incremento de casos en zonas endémicas y no endémicas; como también prevenir, controlar y mitigar las enfermedades arbovirales.

Para el caso de dengue, la norma presenta un flujograma para la vigilancia y diagnóstico laboratorial del dengue (Figura 12), donde presenta el flujo desde la captación de los casos probables hasta la emisión de resultados por el sistema NOTI SP (5).

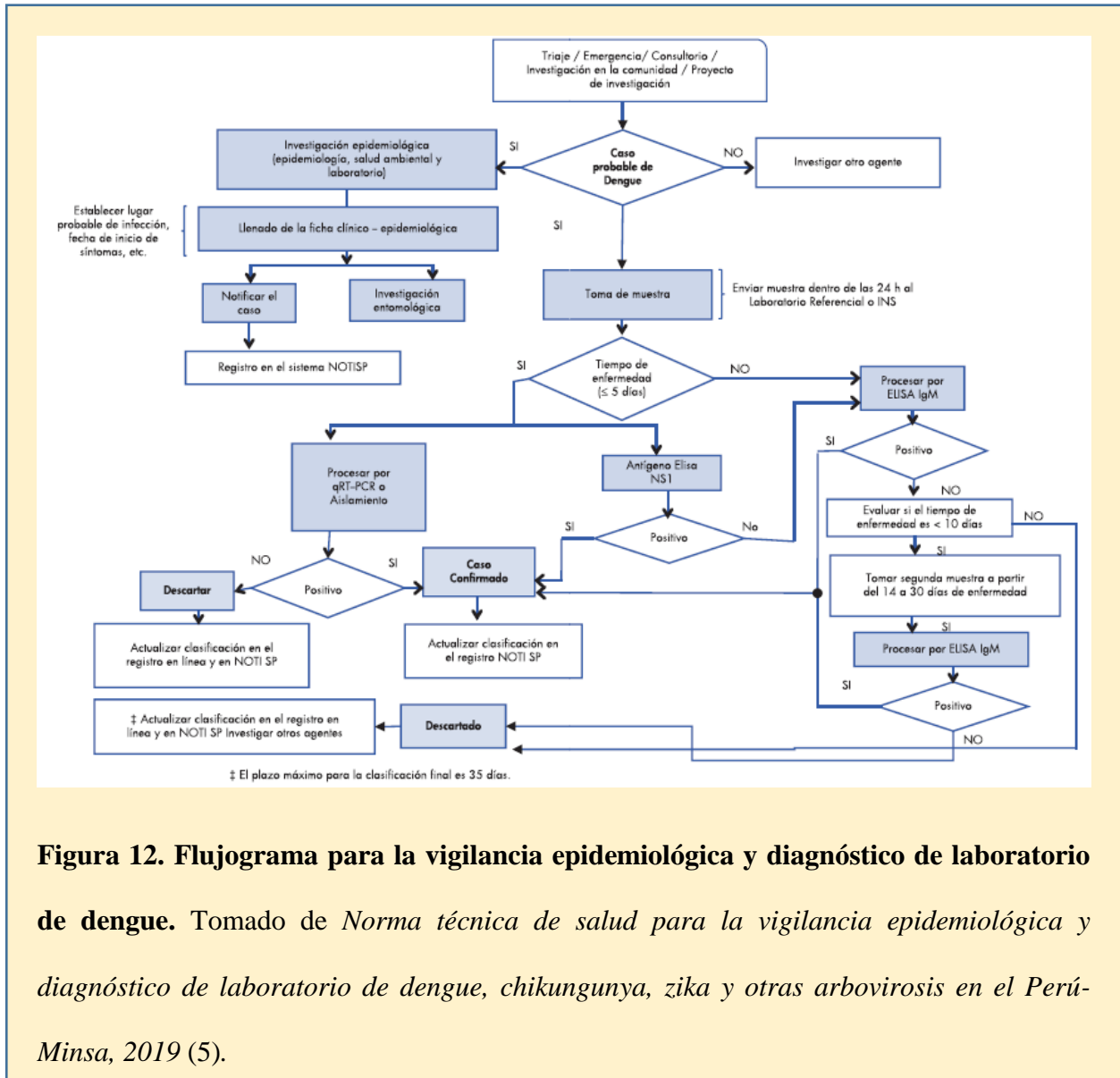


Figura 12. Flujograma para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue. Tomado de *Norma técnica de salud para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue, chikungunya, zika y otras arbovirosis en el Perú-Minsa, 2019 (5).*

Cada laboratorio tiene la responsabilidad de realizar el tipo de análisis según su nivel de complejidad y la disponibilidad de los kits de diagnóstico estandarizados por el Instituto Nacional de Salud (5) (Tabla 6).

Laboratorio	Toma de muestra	Ensa antígeno NS1	qRT-PCR	ELISA IgM	ELISA IGG	Aislamiento viral	Histopatología e IHQ
Laboratorio Local	SI						
Laboratorio Regional	SI	SI	SI*	SI	SI		
Laboratorio referencial nacional de metaxenicas virales (INS)			SI	SI	SI	SI	SI

(*) Solo los laboratorios Regionales que cuenten con transferencia tecnología de qRT-PCR por el Instituto Nacional de Salud.

Tabla 6. Pruebas disponibles de acuerdo a nivel de complejidad del laboratorio. Tomado de *Norma técnica de salud para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue, chikungunya, zika y otras arbovirosis en el Perú-Minsa, 2019* (5).

Por otro lado, el Centro Nacional de Abastecimiento de Recursos Estratégicos en la Salud (CENARES) es el responsable de realizar las compras y distribución de diferentes reactivos según programa, para el caso de los reactivos del ELISA para detección de dengue, realiza una compra en el mercado internacional con las especificaciones necesarias para luego distribuir las a las redes de salud del país (42), siendo el kit para ELISA NS1 el PLATELIA™ DENGUE NS1 Ag de la marca Bio-Rad.

III. METODOLOGÍA

III.1. Lugar de ejecución

El establecimiento donde se realizarán los Procedimientos Operativos Estandarizados es el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud de Satipo – Junín, donde se realiza el diagnóstico de dengue empleando la técnica de ELISA NS1 para cinco Microredes (Coviriali, Mazamari, Puerto Ocopa, Rio Negro y Valle Esmeralda); Hospital M.A.H.A. y Hospital I Rio Negro. (EsSalud) (Figura 13).



III.2. Redacción del Procedimiento Operativo Estándar para los establecimientos de salud de Satipo sobre la recolección, conservación y envío de muestras de suero al Laboratorio Intermedio.

Se realizó una revisión bibliográfica de diferentes protocolos estandarizados, guías y normas técnicas nacionales e internacionales sobre controles de calidad en toma de muestras, trazabilidad, conservación y envío de muestras

de suero a un laboratorio intermedio. Se tomó como base la “*Norma técnica de salud para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue, chikungunya, zika y otras arbovirosis en el Perú*” – 2019. También se tomó en cuenta mi conocimiento adquirido en esta área y en esta Red de Salud. Al final se realizará un flujograma que será anexado.

III.3. Redacción el Procedimiento Operativo Estándar para el ensayo de ELISA NS1 de dengue que incluye la recepción y conservación de suero, realización del ELISA y emisión de resultados en el Laboratorio Intermedio, y envío de sueros al Laboratorio Referencial de Junín.

Se realizó una revisión bibliográfica de diferentes protocolos estandarizados, guías y normas técnicas nacionales e internacionales sobre controles de calidad, recepción, ejecución de ELISAS, emisión de resultados y envío de muestras a un laboratorio referencial. Se tomó como base para el procedimiento de ejecución de ELISA NS1 el “*Inserto del Kit de BIORAD Platelia NS1*”, y como base para criterios de recepción la “*Norma técnica de salud para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue, chikungunya, zika y otras arbovirosis en el Perú*” – 2019. También se tomó en cuenta mi conocimiento adquirido en esta área y en esta Red de Salud. Al final se realizará un flujograma que será anexado.

III.4. Evaluación de la calidad interna del ensayo de ELISA NS1 en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

Se tomó como referencia el procedimiento de control de calidad externa del ELISA que realiza el Laboratorio Referencial de Junín. Esta está basada en el

Control externo de la calidad del diagnóstico serológico del dengue en laboratorios de países de las Américas, 1996–2001 (43), donde comprende la ejecución del ELISA mediante muestra en paneles.

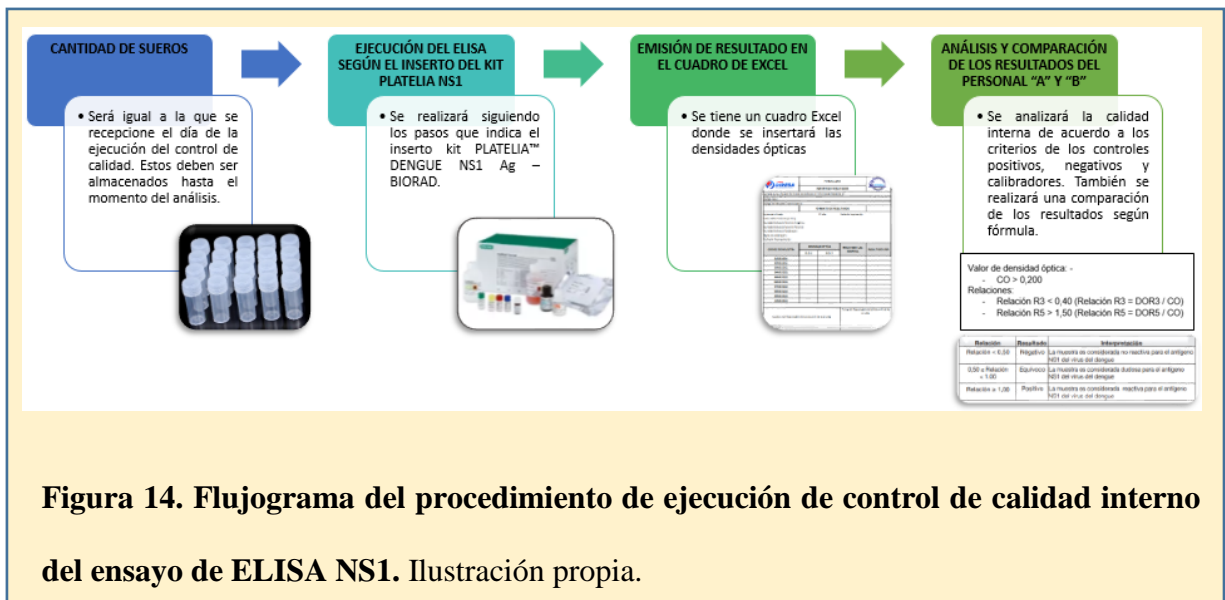
Por tanto, para el control de calidad interno se realizaron 2 corridas independientes de ELISA NS1 de muestras de sueros en dos oportunidades distintas, con el Kit de BIORAD Platelia NS1 abastecido por el CENARES:

- Primera oportunidad: ***Previa capacitación***, fue ejecutada en el Laboratorio del Hospital Manuel A. Higa Arakaki, el 01 de setiembre del 2021.
- Segunda oportunidad: ***Después de la capacitación***, fue ejecutada en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo, el 01 de diciembre del 2022.

Esta evaluación es para determinar la variabilidad de los resultados del ELISA NS1 por dos operadores que forman parte del personal técnico del laboratorio. Las muestras evaluadas en ambos oportunidades no fueron las mismas debido a que por indicación del Laboratorio Referencial de Junín, deben ser remitidas en su totalidad semanalmente para confirmación diagnóstica y vigilancia de otras arbovirosis.

La corrida de ELISA NS1, en ambas oportunidades, fue realizada por los mismos personales técnicos del Laboratorio Intermedio. Todo el procedimiento fue supervisado por el Coordinador de Laboratorio de la Red de Salud Satipo (previa capacitación) y/o el Responsable del Laboratorio Intermedio (después de la capacitación), estos mismos fueron los encargados

de la emisión e interpretación de los resultados. La figura 14 representa el flujo de trabajo que se debe seguir para esta evaluación.



El control de calidad se evaluará según cumpla los siguientes criterios (32):

- Valor Umbral (CO): El promedio de la densidad óptica (DO) de los calibradores debe ser mayor a 0,200.
- La relación del control negativo: Es la densidad óptica del control negativo (DOR3) entre el valor umbral (CO), el resultado debe ser menor a 0,40.
- La relación del control positivo: Es la densidad óptica del control positivo (DOR5) entre el valor umbral (CO), el resultado debe ser MAYOR a 1,50.

La comparación de resultados se realizará se acuerdo a la interpretación de resultados del inserto del kit PLATELIA™ DENGUE NS1 Ag – BIORAD (32), donde menciona que si la *relación de la muestra* (resultado de la D.O. de la muestra entre el CO)

- Relación muestra $< 0,50$ es NEGATIVO.
- $\geq 0,50$ relación muestra $< 1,00$ es INDETERMINADO
- Relación muestra $\geq 1,0$ es POSITIVO.

III.5. Evaluación de la eficacia de la implementación de los POEs a través del tiempo de emisión de resultados del ensayo de ELISA NS1 y del número de hospitalizaciones.

Se realizó y analizó una base de datos secundaria de reportes de ELISAS NS1 y número de pacientes hospitalizados del 2021 – 2022 en la provincia de Satipo. La base de datos de hospitalizaciones pertenece al Hospital Manuel A. Higa Arakaki, es la única institución en la provincia de Satipo que realiza hospitalizaciones.

- Criterio de inclusión: Los pacientes hospitalizados por dengue deben tener confirmación diagnóstica por ELISA.
- Criterio de exclusión: Los pacientes hospitalizados por dengue con diagnóstico de prueba rápida.

Mientras que la base de datos del tiempo de emisión de resultados se obtiene del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

- Criterio de inclusión: Tener el tiempo de recepción de muestra y la fecha de ejecución del ELISA NS1.

III.6. Evaluación de la efectividad de la implementación de los POEs a través de la relación de la seropositividad por NS1 con el número de cercos epidemiológicos.

Se analizó dos bases de datos secundarios: Una de reportes de ELISA NS1 del 2022 de forma progresiva y la otra del número de cercos epidemiológicos en el 2022.

Criterio de inclusión de reportes de ELISA NS1:

- Pacientes febriles con tiempo de enfermedad menor o igual a 5 días.
- Datos completos sobre procedencia de la muestra, específicamente a que establecimiento pertenece; y la semana epidemiológica de la ejecución del ensayo ELISA NS1.

Por otro lado, el número de cercos epidemiológicos fueron registrados por la coordinación de Control Vectorial de la Red de Salud de Satipo. Estos datos deben tener fecha de ejecución de cercos epidemiológicos.

IV. RESULTADOS

IV.1. Procedimiento Operativo Estándar para los establecimientos de salud de Satipo sobre la recolección, conservación y envío de muestras de suero al Laboratorio Intermedio.

Este primer POE se plasmará en un flujograma adjuntado en el Anexo 1.

IV.1.1. Propósito

Este POE describe la recolección, conservación y envío de muestras de suero sanguíneos de los Establecimientos de Salud de

Satipo al Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo. Este proceso es fundamental porque consta de los procesos pre-analíticos de un examen serológico.

IV.1.2. Alcance

Este procedimiento lo realiza el personal encargado del área de Toma de muestra del Laboratorio de cada establecimiento de salud.

IV.1.3. Consideraciones generales

El personal de laboratorio, deberá verificar el correcto llenado de la ficha epidemiológica y/o solicitud de Emergencia al Laboratorio, prevenir la contaminación de las muestras, garantizar y mantener una buena cadena de frío y de custodia, y coordinar el modo de transporte para el envío de las muestras.

El procedimiento de envío se realizará con la ayuda de la ambulancia o de manera particular, trasladando la muestra al Laboratorio Intermedio ubicado en el Módulo de Familia “José Olaya”, 1ra Cdra del Jr. 28 de Julio.

Recordar que, mientras las muestras estén en el establecimiento, el personal del laboratorio será responsable de mantener la integridad de dicha muestra (44)

IV.1.3.1. Técnicas asépticas

Las técnicas asépticas, definidas como "un conjunto de prácticas y procedimientos específicos realizados bajo

condiciones cuidadosamente controladas con el objetivo de minimizar la contaminación por patógenos" deben ser seguidas durante todo el proceso pre-analítico y analítico de las muestras, su conservación y envío (45).

Por ello, R. Sanders (45) menciona las siguientes pautas:

- Disponer y acondicionar un espacio estéril para el trabajo.
- Verificar la esterilidad y manipulación correcta de todos los instrumentos a utilizar.
- Ajustar y leer con precisión los instrumentos de medición.

IV.1.3.2. Precauciones universales

Al manejar pacientes y muestras biológicas, es muy importante aplicar precauciones universales.

Desinfecte la mesa y el cooler a ser utilizada en todo el procedimiento pre-analítico con una solución de lejía al 10% o etanol al 70% antes y después de la recolección y envío de todas las muestras, respectivamente. Se puede ayudar de una gasa estéril o papel absorbente si corresponde.

Nota: Tanto el 70% de etanol como el 10% de cloro (hipoclorito de sodio) son desinfectantes eficaces. Al desinfectar con lejía, espere 10 minutos antes de proceder,

70% de etanol es de acción rápida y es muy eficaz contra los microorganismos.

IV.1.3.3. Complicaciones

Aunque la punción venosa es rutinaria y relativamente segura, hay algunas complicaciones que pueden ocurrir, incluyendo la formación de hematomas, venas colapsadas, el fracaso en la extracción de sangre y la hemólisis. Además, puede producir sangrado excesivo, y en algunos casos el paciente puede desmayarse durante el procedimiento de toma de muestra. Proceda según su entrenamiento. De presentarse alguna complicación, redacte un informe de incidencia y presente al jefe de laboratorio de su establecimiento de salud.

Las conservaciones de las muestras de suero son relativamente prácticas y simples, sin embargo, hay algunas complicaciones que pueden ocurrir, como falla del equipo de refrigeración y corte de la energía eléctrica en la zona.

El envío de muestras de suero puede presentar complicaciones en los siguientes casos: (i) no enviar en los horarios establecidos al Laboratorio Intermedio, (ii) falla en la cadena de frío del cooler. Ante todas estas ocurrencias redactar un informe.

IV.1.4. Definiciones

- ° C: (grados) Celsius
- cm: centímetro
- ml: mililitro
- EPP: Equipo de protección personal
- POE: Protocolo Operativo Estándar
- SST: Tubo Separador de Suero

IV.1.5. Responsabilidades

El personal encargado desde la toma, conservación y envío de los sueros sanguíneos debe tener el nivel requerido de entrenamiento y experiencia, así como comprensión de la técnica aséptica, y Control de Calidad de los diferentes equipos, si corresponde.

IV.1.5.1. Toma de muestra de suero (44)

- Verificar el llenado correcto de la Ficha Epidemiológica
- Verificar los sellos de cada Ficha Epidemiológica: sello del investigador y sello del responsable de epidemiología de su Microred correspondiente.
- La recolección y etiquetado de la muestra serológica.
- Registrar la Ficha Epidemiológica y la muestra obtenida en el “Cuaderno de registro de muestras de dengue”

IV.1.5.2. Conservación de muestra de suero (44)

- Sellado de los crioviales.
- Guardar la muestra en la zona de congelación.

- Control de calidad del equipo de refrigeración.

IV.1.5.3. Envío de muestra de suero (44)

- Verificar el estado de las muestras
- Preparar el paquete de envío de muestras
- Coordinación de envío
- Coordinación de recepción de muestras

IV.1.6. Materiales y equipos para recolección, conservación y envío de muestras de suero

La Red de Salud Satipo proporcionará a cada Microred y establecimiento los materiales para la recolección, conservación y envío de las muestras y Fichas Epidemiológicas cuando sea necesario (46). El encargado del establecimiento debe solicitar el suministro de los materiales periódicamente realizando la revisión de su inventario. Todos los materiales se utilizan dentro de su fecha de vencimiento y se almacenan según las instrucciones del fabricante.

Los materiales que son necesarios para cada procedimiento se muestran en la tabla 7.

EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP)	RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	CONSERVACIÓN DE MUESTRAS	ENVÍO DE MUESTRAS
Mandil o bata de laboratorio Guantes de látex o nitrilo Gafas o lentes de laboratorio (opcional) Mascarilla o respirador NK95	Torniquete a ligadura Tubos de extracción al vacío: separador de suero (SST o tapa de mármol) y/o sin aditivos (tapa roja) Aguja de extracción al vacío Equipo Holder para sistema de extracción al vacío Algodón Esparadrapo Centrifuga para tubos Pipeta de plástico Crioviales de plástico con tapa rosca Marcador indeleble Aguja libre 20G ½	Gradilla o Portaviales Refrigerador Termómetro digital	Tecnopor o cooler Stickers de bioseguridad Bloquetas de hielo

Tabla 7. Materiales para cada procedimiento del POE.

Adaptado según la necesidad de los establecimientos de salud.

IV.1.7. Procedimiento

IV.1.7.1. Recepción y verificación de la ficha epidemiológica y/o solicitud de emergencia hacia laboratorio.

Todos los pacientes deberán tener su “*Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis*”, que es el documento oficial del MINSA. Este debe ser llenado de manera legible y correctamente por la Unidad de Captación de Febriles del establecimiento (Anexo 2 y 3).

En casos excepcionales, como emergencias, el paciente deberá tener una Solicitud de EMERGENCIA hacia el Laboratorio, firmada y sellada por el médico encargado; sin embargo, se deberá regularizar la “*Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de*

dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis” a la brevedad posible.

El encargado de toma de muestra verificará lo siguiente:

- De la “Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis” (5).
 - Deberá estar rellena legible y correctamente.
 - La ficha epidemiológica debe tener todos los sellos correspondientes: (i) sello del encargado de la captación del febril y (ii) sello del responsable de epidemiología de la Microred correspondiente, donde se ha captado al paciente febril.
 - La ficha epidemiológica consta de 5 copias. Los laboratorios de las Microredes deben enviar el original más 3 copias (Tabla 8).

COLOR DE LA FICHA EPIDEMIOLÓGICA	ÁREA CORRESPONDIENTE
BLANCO	Original para la INS
AZUL	Laboratorio Referencial de Junín
AMARILLO	Laboratorio Intermedio de la RSS
ROSADO	Epidemiología de la microred
VERDE	Historia clínica del paciente

Tabla 8. Distribución de copias de las fichas epidemiológicas de dengue. Adaptado según las necesidades de las instituciones.

Observación: En algunos casos el bloque de Fichas no cuenta con 5 copias; si ese fuera el caso sacar las copias que hagan falta cuando sea necesario.

- De la Solicitud de Emergencia hacia Laboratorio:
 - Verificar que tenga los datos del paciente de manera legible, el sello del médico, la fecha y hora que solicita;
 - Solicitar la regularización de la ficha epidemiológica correspondiente.

IV.1.7.2. Extracción de muestra de sangre por el método de venopunción

Antes de extraer cualquier muestra, la verificación del paciente debe realizarse preguntando el nombre del sujeto, luego rotular el tubo al vacío con los datos del paciente con marcador indeleble (Figura 15).

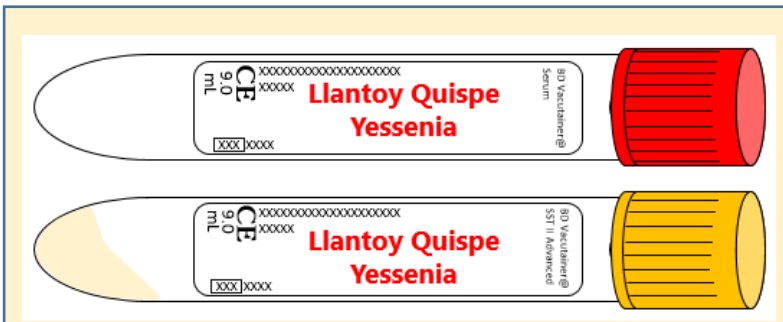


Figura 15. Rotulado correcto en el tubo de extracción sin aditivos (tapa roja) y con separador de suero (tapa mármol). Ilustración propia.

La toma de muestra se puede realizar por dos sistemas, dependiendo la disponibilidad de materiales del establecimiento de salud (Figura 16).

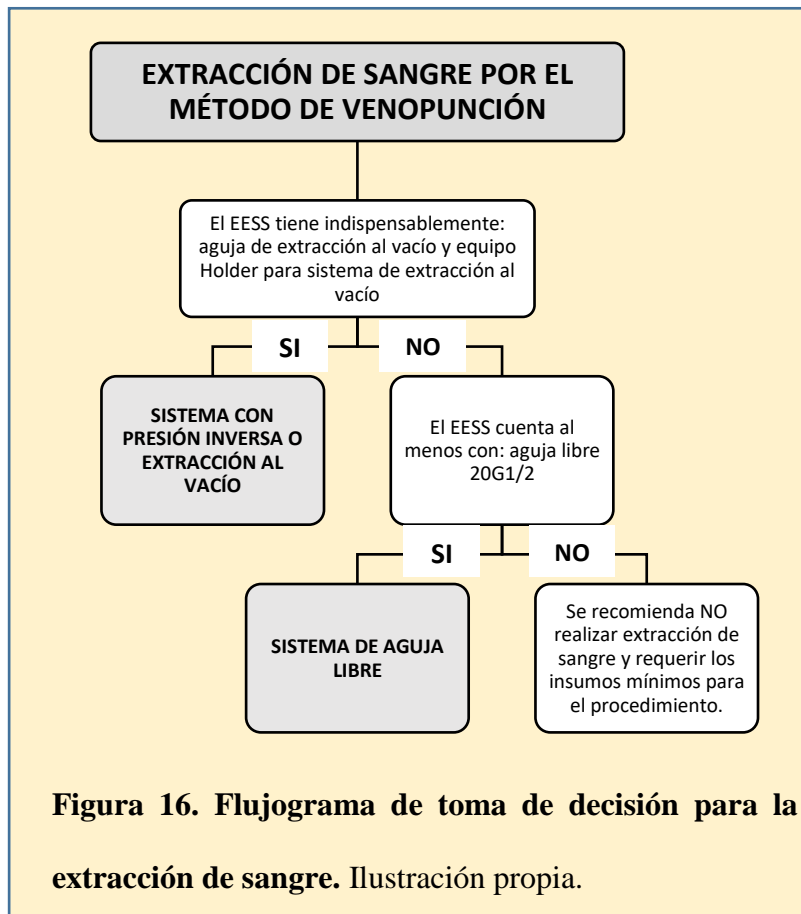


Figura 16. Flujograma de toma de decisión para la extracción de sangre. Ilustración propia.

IV.1.7.2.1. Con sistema de presión inversa o extracción al vacío (47,48)

- Prepare el tubo y el conjunto de la aguja de extracción al vacío en el equipo holder. Asegurar que la tapa de la aguja está sellada (material nuevo).
- Pedir al paciente que estire el brazo e identificar la vena más visible para la punción (48).
- Aplicar torniquete con la ligadura, de 5 a 10 cm arriba de la flexura del codo (48).
- Limpiar la zona de punción para la extracción, con una torunda con alcohol. Ojo: una vez desinfectada la zona evitar tocarla y dejar que el alcohol se evapore completamente (48).
- Con la aguja en el equipo Holder y el bisel hacia arriba, pinchar la vena de con un ángulo de 30°, de abajo hacia arriba (49).
- Fijar la aguja con una mano y con la otra, cuidadosamente, presionar el tubo para extracción al vacío.
- Cerciorarse de que la sangre fluya al tubo. Mientras tanto, solicitar al paciente que no haga movimientos bruscos con el fin de no perder la vena fijada a la aguja (48).

- En el caso de fracasar al primer intento de extracción de sangre (50).
 - Se recomienda mover, muy cuidadosamente, la aguja en modo de avanzar o retroceder evitando los movimientos bruscos, ya que pueden causar variación en los resultados del análisis, daño tisular y por consiguiente dolor al paciente.
 - Verificar que el tubo no haya perdido la presión al vacío, si fuera el caso, sustituirlo.
 - Si, pese a los movimientos con la aguja no se logra extraer la sangre, se debe cambiar de aguja para un segundo intento. Es importante mencionar al paciente sobre la dificultad presentada.
 - Se recomienda, que, tras dos intentos fallidos, el personal debe de llamar a su par con mayor experiencia para la toma de muestra.
- Verificar que la cantidad de sangre sea la necesaria para la ejecución del análisis. El tubo de 9 mL debe estar completamente lleno hasta la marca que indica el tubo, excepto en pacientes pediátricos donde el volumen de sangre colectada será de 2mL (5).

- Desenlazar la ligadura y retirar la aguja de la vena, luego poner una torunda, mencionarle al paciente que presione por 5 a 10 minutos, sin doblar el brazo (47).
- Terminado este proceso se debe eliminar todo material contaminado en los recipientes correspondientes, según la Norma técnica: Procedimientos para el manejo de residuos sólidos hospitalarios (51)/Tabla 9).


Tipo de Residuo	Color de Bolsa	Símbolo
Biocontaminados	Rojo	
Comunes	Negra	Sin Símbolo
Especiales	Amarilla	Sin Símbolo

Tabla 9. Color de bolsa según el tipo de residuo.
Tomado de Norma técnica del Minsa (51)

- No olvidar que las agujas son materiales punzocortantes y deben eliminarse en recipientes rígidos (51). No reencapuchar, doblar o romper las agujas utilizadas.
- Comprobar el estado del paciente.

IV.1.7.2.2. Con sistema de aguja libre

- Prepare el tubo y el conjunto de la aguja libre. Asegurar que la tapa de la aguja está sellada (material nuevo).
- Pedir al paciente que estire el brazo e identificar la vena más visible para la punción (48).

- Aplicar torniquete con la ligadura, de 5 a 10 cm arriba de la flexura del codo (48).
- Limpiar la zona de punción para la extracción, con una torunda con alcohol. Ojo: una vez desinfectada la zona evitar tocarla y dejar que el alcohol se evapore completamente (48).
- Con la parte posterior de la aguja dentro del tubo y el bisel hacia arriba, pinchar la vena de con un ángulo de 30°, de abajo hacia arriba (49).
- Fijar la aguja con una mano y cerciorarse de que la sangre fluya al tubo. Mientras tanto, solicitar al paciente que no haga movimientos bruscos con el fin de no perder la vena fijada a la aguja (48) (Figura 17).

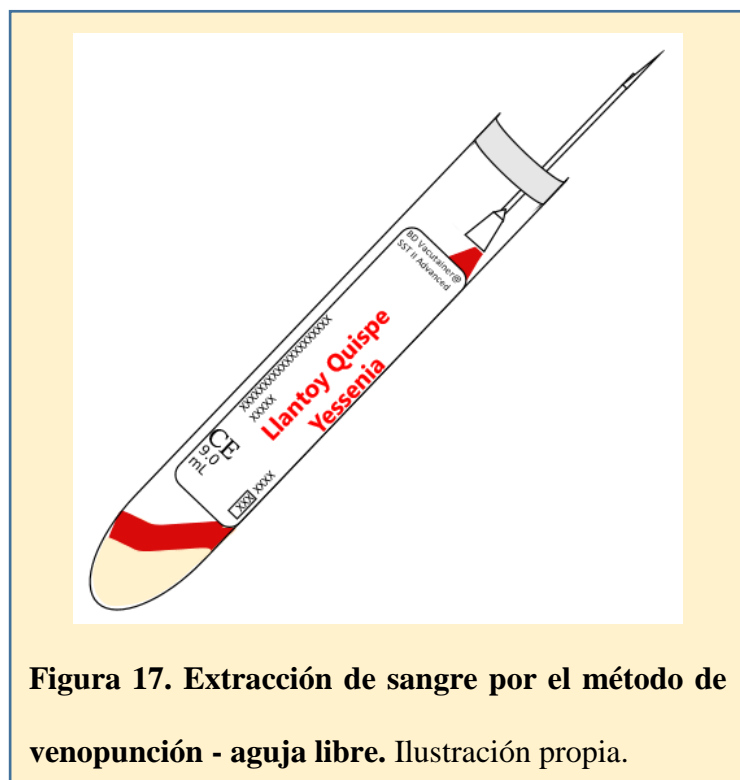


Figura 17. Extracción de sangre por el método de venopunción - aguja libre. Ilustración propia.

- Cerciorarse de que la sangre fluya al tubo. Mientras tanto, solicitar al paciente que no haga movimientos bruscos con el fin de no perder la vena fijada a la aguja (48).
- En el caso de fracasar al primer intento de extracción de sangre (50).
 - Se recomienda mover, muy cuidadosamente, la aguja en modo de avanzar o retroceder evitando los movimientos bruscos, ya que pueden causar variación en los resultados del análisis, daño tisular y por consiguiente dolor al paciente.
 - Verificar que el tubo no haya perdido la presión al vacío, si fuera el caso, sustituirlo.
 - Si, pese a los movimientos con la aguja no se logra extraer la sangre, se debe cambiar de aguja para un segundo intento. Es importante mencionar al paciente sobre la dificultad presentada.
 - Se recomienda, que, tras dos intentos fallidos, el personal debe de llamar a su par con mayor experiencia para la toma de muestra.
- Verificar que la cantidad de sangre sea la necesaria para la ejecución del análisis. El tubo de 9 mL debe

estar completamente lleno hasta la marca que indica el tubo, excepto en pacientes pediátricos donde el volumen de sangre colectada será de 2mL (5).

- Desenlazar la ligadura y retirar la aguja de la vena, luego poner una torunda, mencionar al paciente que presione por 5 a 10 minutos, sin doblar el brazo (47).
- Terminado este proceso se debe eliminar todo material contaminado en los recipientes correspondientes, según la Norma técnica: Procedimientos para el manejo de residuos sólidos hospitalarios (51) (Tabla 6).
- No olvidar que las agujas son materiales punzocortantes y deben eliminarse en recipientes rígidos (51). No reencapuchar, doblar o romper las agujas utilizadas.
- Comprobar el estado del paciente.

IV.1.7.3. Separación de suero

- Dejar los tubos con la muestra durante 5 a 10 minutos (a temperatura ambiente) para que la sangre se coagule y luego colocar en la centrífuga para la separación de los componentes sanguíneos durante 5 minutos a 3500 rpm (5).
- Rotular con marcador indeleble el criovial con los datos del paciente: apellidos y nombres completos (Figura 18).

- Extraer el tubo de la centrífuga y separar el suero en el criovial.

El volumen de suero debe ser de 2mL (5).

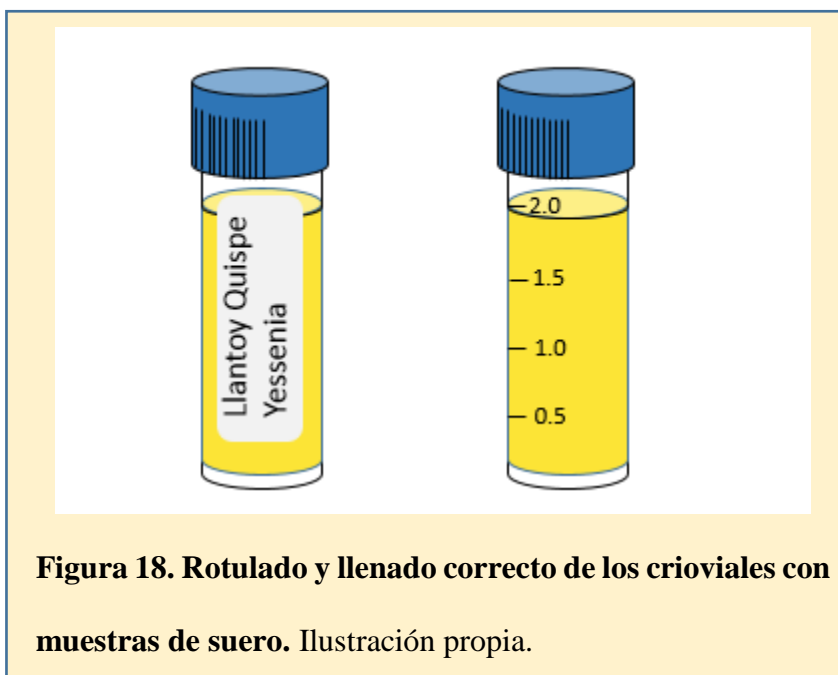


Figura 18. Rotulado y llenado correcto de los crioviales con muestras de suero. Ilustración propia.

IV.1.7.4. Registro de ficha epidemiológica y muestra de suero

Registrar recepción de la “*Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis*” y la obtención de la muestra de suero en el “Cuaderno de registro de muestras de dengue - #NombreDelEstablecimiento”. El registro debe tener los siguientes items: Nombre del paciente, DNI, fecha y hora de toma de muestra, responsable de la toma de muestra (Figura 19).

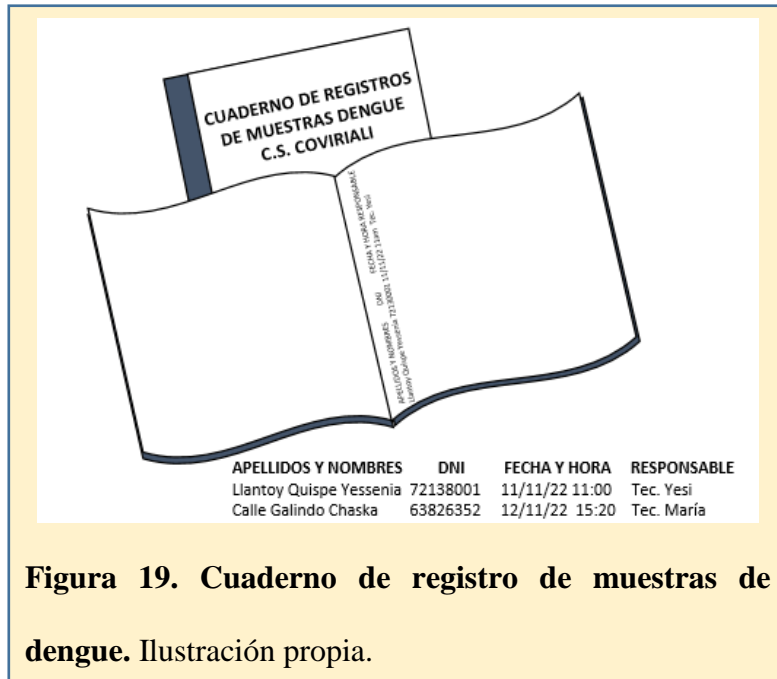


Figura 19. Cuaderno de registro de muestras de dengue. Ilustración propia.

IV.1.7.5. Conservación de la muestra de suero

- Verificar el funcionamiento correcto del refrigerador (encendido o apagado).
- Control y registro diario de la temperatura mediante la “Hoja de Control y Registro de temperatura de refrigeración” (Anexo 4).
- Parafinar los crioviales, si lo requiere, esto para prevenir derrames.
- Poner los crioviales en el portavial designado para su almacenamiento (Figura 20).



Figura 20. Imagen de crioviales almacenados en portaviales designado para muestras de dengue. Tomada del Laboratorio del Hospital Manuel A. Higa Arakaki.

- Colocar el portavial en la zona de congelación de la refrigeradora. Mantener los sueros de -10°C a -20°C , no más de 3 días (5).
- Archivar las fichas epidemiológicas o solicitudes de cada muestra hasta su envío al Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

IV.1.7.6. Envío de muestras de suero del EESS al Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo

Según la “Norma Técnica de Salud para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue, chikungunya, Zika y otras arbovirosis en el Perú” (5), los laboratorios de la microredes deberán de enviar los sueros al laboratorio intermedio dentro de las 24 horas después de

la obtención en cajas térmicas con bloquetas de hielo para garantizar la conservación de la muestra, manteniendo una temperatura por debajo de 8 °C.

En caso los laboratorios de las microredes no puedan enviar la muestra e suero al laboratorio intermedio, deberán conservar en congelación (-10°C a -20°C) no más de 3 días (5).

IV.1.7.6.1. Transporte

Coordinar con el personal de ambulancia o auto particular para el transporte de los sueros hacia el Laboratorio Intermedio.

Antes del envío, coordinar con el encargado de Metaxénicas del Laboratorio Intermedio para la recepción de las muestras.

Recordar: El Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo tiene un horario administrativo; es decir, lunes a viernes a partir de las 08:00-13:00 y 14:30-17:30. No hay atención, fines de semana (sábado y domingo) y feriados.

IV.1.7.6.2. Empaquetamiento

El transporte de muestras se debe de realizar dentro de tres capas de embalajes/envases (52) (Tabla 10).



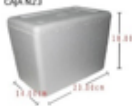
EMBALAJE O ENVASE	MATERIAL	IMAGEN REFERENCIAL
PRIMER: Contiene la muestra.	Criovial de plástico con tapa rosca, de 2mL	
SECUNDO: hermético e impermeable o a prueba de derrames para encerrar y proteger el recipiente primario	Parafilm para reforzar el sellado del criovial	
TERCERO: capa exterior de embalaje/envasado que se utiliza para proteger el embalaje/envase secundario de daños físicos durante el transporte	Caja de poliestireno para proteger las muestra	

Tabla 10. Clasificación de las tres capas de embalaje en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo. Adaptado de la Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019-2022 – OMS (52).

- Sacar las muestras del congelador.
- Verificar el estado de las muestras; asegurar que no hayan sufrido derrames y que los viales no estén rotos ni destapados.
- Verificar el rótulo de los viales. A veces, la tinta se borra, en caso de que así fuera, rotular el criovial adecuadamente o disponer de un nuevo criovial.
- Verificar que cada muestra de suero tenga su ficha epidemiológica correspondiente. La ficha debe tener mínimo 3 copias.

- Colocar las muestras en un portaviales o una gradilla de forma vertical con el fin de evitar derrames.
- Colocar el portaviales o gradilla en un cooler o caja de poliestireno agregando las bloquetas de hielo con fin de mantener la cadena de frio (2°C a 8°C).
- Cerrar el cooler o caja de poliestireno y agregar símbolos de bioseguridad.
- Entregar el “cuaderno de recepción de muestras” y el paquete de muestras al designado (ambulancia o transporte particular).
- Realizar seguimiento de la entrega de las muestras.

IV.1.8. Notas adicionales y precauciones

- Evitar formación de pequeñas coágulos de fibrina en el criovial.
- Evitar hemólisis en el suero a trabajar debido a que será rechazada.
- Cantidad de suero por paciente: 1.5mL a 2mL en adultos y de 1mL a 2mL en pacientes pediátricos (5).
- Tomar cada muestra como altamente patogénica y utilizar siempre el EPP.
- Evitar la formación de grandes bloques de hielo en el equipo de refrigeración.

- Realizar un control de temperatura del equipo de refrigeración, mínimo dos (02) veces al día.

IV.1.9. Seguridad

Además del EPP, se aconseja tomar todas las precauciones de seguridad

IV.1.9.1. Objetos punzocortantes

Deben ser colocados en un contenedor rojo para materiales punzocortantes de riesgo biológico. Siga las directrices del sitio para el recojo y eliminación de residuos químicos peligrosos y de riesgo biológicos. Los objetos no afilados contaminados deben colocarse en una bolsa roja biodegradable (51).

IV.1.9.2. Desechos de riesgo biológico

Las muestras que tengan contacto con el personal encargado debe ser desechada en la bolsa roja e informar al personal de limpieza para su recojo y eliminación (51).

IV.2. Procedimiento Operativo Estándar para el ensayo de ELISA NS1 de dengue que incluye la recepción y conservación de suero, realización del ELISA y emisión de resultados en el Laboratorio Intermedio, y envío de sueros al Laboratorio Referencial de Junín.

Este segundo POE se compactó en un flujograma adjuntado en el Anexo 5.

IV.2.1. Propósito

Este POE describe la recepción, conservación, análisis en el Laboratorio intermedio, y el envío de las muestras de sueros sanguíneos al Laboratorio Referencial de Junín. Estos pasos son parte fundamental debido que es el término del proceso pre-analítico, comenzando al analítico y post-analítico para brindar un resultado de calidad.

IV.2.2. Alcance

Este procedimiento lo realiza el personal del Área de Metaxénica del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo, ubicado en el módulo de José Olaya.

IV.2.3. Consideraciones generales

- En el Laboratorio Intermedio todo el personal que labora ahí es el encargado de recepcionar las muestras que provienen de los laboratorios locales: Hospital Manuel Ángel Higa Arakaki, Hospital I Rio Negro y establecimientos de salud de las

microredes (Coviriali, Rio Negro, Mazamari, Valle Esmeralda y Puerto Ocopa).

- Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo tiene un horario administrativo; es decir, lunes a viernes a partir de las 08:00-13:00 y 14:30-17:30. No hay atención, fines de semana (sábado y domingo) y feriados. Solo en este horario se recepcionará las muestras de suero.
- Cada muestra de suero debe de estar con su ficha epidemiológica correspondiente.

IV.2.3.1. Técnicas asépticas

Las técnicas asépticas, definidas como "un conjunto de prácticas y procedimientos específicos realizados bajo condiciones cuidadosamente controladas con el objetivo de minimizar la contaminación por patógenos" deben ser seguidas durante todo el proceso pre-analítico y analítico de las muestras, su conservación y envío (45).

Por ello, R. Sanders (45) menciona las siguientes pautas:

- Disponer y acondicionar un espacio estéril para el trabajo.
- Verificar la esterilidad y manipulación correcta de todos los instrumentos a utilizar.
- Ajustar y leer con precisión los instrumentos de medición.

IV.2.3.2. Precauciones universales

Al mantener contacto con muestras biológica limpie la superficie a ser utilizada en la recepción, análisis y envío de muestras con una solución de lejía al 10% o etanol al 70% antes y después:

- De la recepción de todas las muestras por el Laboratorio Intermedio.
- De la ejecución del ELISA NS1
- Y de la preparación del envío de las muestras de suero

Nota: Tanto el 70% de etanol como el 10% de cloro (hipoclorito de sodio) son desinfectantes eficaces. Al desinfectar con lejía, espere 10 minutos antes de proceder, 70% de etanol es de acción rápida y es muy eficaz contra los microorganismos.

IV.2.4. Definiciones

- ° C : (grados) Celsius
- ul : microlitro
- ml : mililitro
- EPP: Equipo de protección personal
- POE: Protocolo Operativo Estándar
- SE : Semana Epidemiológica

IV.2.5. Responsabilidades del personal del Laboratorio Intermedio

El personal del área de metaxénica debe tener el nivel requerido y los conocimientos en función a los procedimientos Pre-analíticos, analíticos y post-analíticos del diagnóstico de dengue mediante el ensayo de ELISA NS1. Así cómo, las capacitaciones pertinentes.

Además, será responsable de:

- Rellenar el inventario de materiales y reactivos competentes con el ensayo de ELISA NS1.
- Verificación del funcionamiento de equipos para la ejecución del ensayo ELISA NS1.
- Ser el segundo filtro de verificación de Fichas epidemiológicas y muestras de suero.
- Ejecución del ensayo ELISA NS1.
- Emisión de resultados y reportes por semana epidemiológica del ensayo ELISA NS1.
- Envío de muestras de suero al Laboratorio Referencial de Junín.

IV.2.6. Materiales y equipos

La Red de Salud Satipo proporcionará a cada Microred los materiales para el ensayo ELISA NS1 de dengue que incluye la recepción y conservación de suero, realización del ELISA y emisión de resultados en el Laboratorio Intermedio, y envío de sueros al Laboratorio Referencial de Junín (53). El encargado del

establecimiento debe solicitar el suministro de los materiales periódicamente realizando la revisión de su inventario. Todos los materiales se utilizan dentro de su fecha de vencimiento y se almacenan según las instrucciones del fabricante.

Los siguientes materiales que son necesarios para cada procedimiento se muestran en la tabla 11.

EQUIPO DE PROTECCION PERSONAL (EPP)	RECEPCION DE MUESTRAS	CONSERVACION DE MUESTRAS Y REACTIVOS	EJECUCION DEL ENSAYO ELISA NS1	EMISION DE RESULTADOS Y REPORTES POR S.E.	ENVIO DE MUESTRAS AL LRR JUNIN
Mandil o bata de laboratorio. Guantes de látex o nitrilo. Gafas o lentes de laboratorio Mascarilla o respirador NK95	Cuaderno de recepción Lapiceros Portacrioviales Sello de recepción conforme	Portacrioviales Refrigeradora Congeladora Termómetro	Reactivo BioRad NS1 Micropipetas Tips azules y amarillos Crioviales Portacrioviales Incubadora Lector de ELISA Lavadora de ELISA Papel toalla	Equipo de computo Formato de emisión de resultados y reporte S.E. Fichas epide. Lapiceros Sello del responsable de ejecutor de ELISA	Caja de tecnopor Parafilm Portacrioviales Papel bond A4 Sobre manila A4 Impresora Equipo de cómputo.

Tabla 11. Materiales para cada procedimiento del POE.
Adaptado según la necesidad del Laboratorio Intermedio.

IV.2.7. Procedimiento

IV.2.7.1. Verificación del estado de las muestras de suero (5)

El responsable de la recepción de muestra ejecutará el proceso de apertura del empaque o cooler o caja térmica que contenga las muestra, bajo los estándares de bioseguridad establecidos en las Normas de bioseguridad y manejo de muestras biológicas, material, equipo y procedimientos (54), Verificará el estado de cada muestra:

- No debe haber derrames y debe estar con bajo la temperatura por debajo de 8°C (5).
- La muestra de suero de cada paciente NO debe estar hemolizada (5).
- La muestra se suero de cada paciente NO debe contener coágulos de fibrina (5).
- La muestra de suero debe contener de 1.5 mL a 2mL en adultos, en un criovial con tapa hermética. Excepciones (pediátricos y adultos mayores) se aceptará de 1mL a 2mL (5).
- Cada muestra debe estar rotulada adecuadamente con marcador indeleble: APELLIDOS Y NOMBRES, esto debe coincidir con los datos de su ficha epidemiológica correspondiente.

IV.2.7.2. Verificación de la ficha epidemiológica

El personal responsable de la recepción de muestras también verificará el estado de las fichas epidemiológicas de cada paciente.

- La ficha epidemiológica debe estar correctamente llenada, según la “Norma Técnica de salud para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue, chikungunya, Zika y otras arbovirosis” (5).

- La ficha epidemiológica debe contar con todos los sellos correspondientes: sello del encargado de la captación del febril y sello del responsable de Epidemiología de la Microred correspondiente u Hospital, donde se ha captado al paciente febril (5).
- La ficha epidemiológica debe tener tres copias extras (total cuatro hojas): La ficha blanca, azul y amarilla se quedarán en el Laboratorio Intermedio; mientras que la ficha verde se entregará al responsable del traslado de las muestras, a modo de CARGO, para finalmente pueda adjuntarlo en la Historia clínica del paciente.

IV.2.7.3. Registro de la recepción

Si las muestras y fichas epidemiológicas cumplen con todo lo antes mencionado, el encargado de la recepción firmará el CARGO (sello, firma, fecha y hora de recepción) y se hará el registro en el “Cuaderno de registro de recepción de muestras de dengue”.

Recibidas conforme las muestras, el responsable de la recepción procede a darles entrada al Laboratorio Intermedio, pudiendo procesarse inmediatamente o conservarlas, según corresponda.

IV.2.7.4. Disconformidad en la recepción

IV.2.7.4.1. De la muestra de suero

Si la muestra está derramada, hemolizada, contiene menos de 1.5ml (1ml en infantes y adultos mayores) u otra índole que comprometa el análisis adecuado de la muestra, se registrará las causas del rechazo de muestra en el “Cuaderno de registro de recepción de muestras de dengue” y al momento de la emisión de resultados se pondrá en observación como MUESTRA seguido de la causa (ejemplo: hemolizada, derramada, etc). También se realizará un informe al establecimiento, dando conocimiento de lo ocurrido.

IV.2.7.4.2. De la ficha epidemiológica

Si se presenta un error en la documentación, no se firmará el cargo y se procederá a comunicar al responsable de laboratorio del establecimiento para coordinar la regularización de los documentos. Se anotará en el “Cuaderno de registro de recepción de muestras de dengue” cómo PENDIENTE A CORRECCIÓN/REGULARIZACIÓN.

IV.2.7.5. Conservación de la muestra de suero

Después de recepcionar las muestras, se conservarán bajo congelación hasta su análisis.

Tener en cuenta que:

- La muestra debe estar por debajo de los 8°C y en un recipiente cerrado (criovial de 2 ml) (5).
- Verificar el funcionamiento correcto del refrigerador (encendido o apagado).
- Control y registro diario de la temperatura mediante la “Hoja de Control y Registro de temperatura de refrigeración” (Anexo 4).

IV.2.7.6. Selección de tipo de análisis

ELISA NS1 dengue se realizará en pacientes con tiempo de enfermedad de 1 a 5 días (5).

ELISA IgM dengue se realizará en pacientes con tiempo de enfermedad de 6 a 15 días de enfermedad (5).

Se realizará tanto NS1 e IgM, independiente de los días de enfermedad a pacientes hospitalizados y/o en emergencia (dengue con signos de alarma y grave), gestantes, infantes y adultos mayores.

IV.2.7.7. Análisis del ensayo ELISA NS1 dengue

Se utilizará el Kit de Platelia™ Dengue NS1 Ag. Este kit contiene todos los reactivos para la ejecución del ensayo de ELISA NS1 (32).

Este es un ELISA de tipo sándwich, donde se realiza el proceso en microplacas y el tipo de análisis es cualitativo y cuantitativo. Detecta el antígeno NS1 presente en el suero o plasma del paciente (32).

IV.2.7.7.1. Cantidad de sueros

El kit de Platelia™ Dengue NS1 Ag consta de 12 tiras, cada uno de 8 pocillos, los cuales no se pueden dividir (32). Por ello, el análisis se procesará a partir de 04, 12, 20,..., sueros, secuencialmente; a excepción de las emergencias, neonatos, gestantes, adultos mayores (≥ 60), infantes (0 - 12 años), dengue con signos de alarma y graves en los que se realizará el ensayo de forma inmediata sin esperar un acumulado mínimo de muestras.

IV.2.7.7.2. Procedimiento

El Kit de Platelia™ Dengue NS1 Ag tiene su inserto, que es una guía muy detallada sobre el procedimiento del ensayo ELISA NS1 (32).

Aquí se muestra el flujograma (Figura 21) y se hace mención de forma resumida el procedimiento adjuntando el manejo del equipo de Lavado y Lector de ELISA presente en el laboratorio Intermedio.

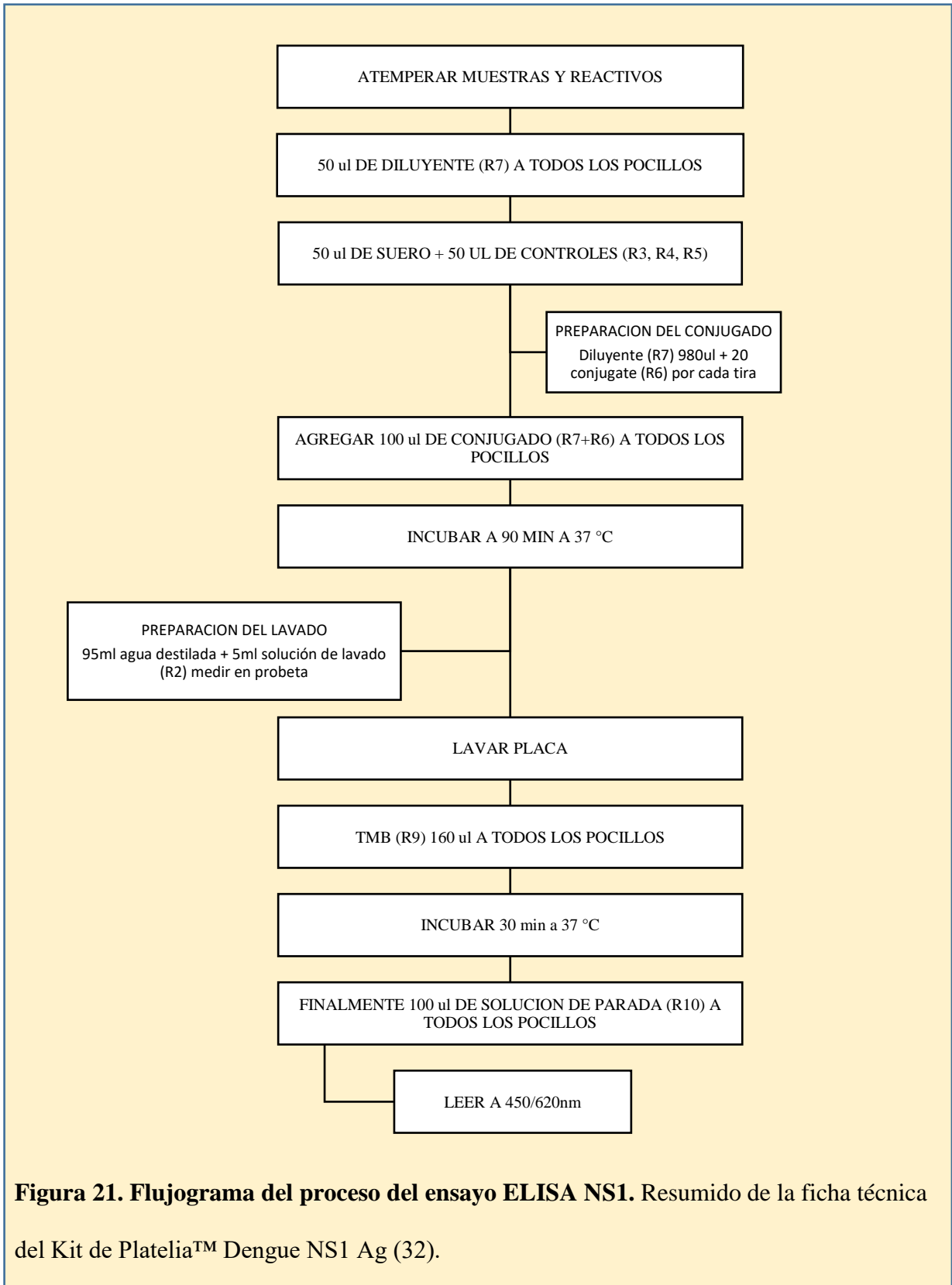


Figura 21. Flujograma del proceso del ensayo ELISA NS1. Resumido de la ficha técnica del Kit de Platelia™ Dengue NS1 Ag (32).

Antes de su uso, dejar que los reactivos del kit se atemperan por 30 minutos, y las muestras alcancen la temperatura ambiente (+18-30°C). Sacar el número de tiras necesarias a utilizar y realizar la distribución de los controles y muestras de acuerdo a la tabla 12.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R3	S5										
B	R4	S6										
C	R4	S7										
D	R5	S8										
E	S1	S9										
F	S2	S10										
G	S3	S11										
H	S4	S12										

Tabla 12. Distribución de controles y muestras en una placa de ELISA. Donde: R3 es el control negativo, R4 el calibrador, R5 el control positivo y S(x) la muestra de suero. Tomado de la ficha técnica del Kit de Platelia™ Dengue NS1 Ag (32).

- Agregar 50µL de diluyente (R7) a todos los pocillos.
- Agregar 50µL de control negativo (R3), calibrador (R4), control positivo (R5) y muestras (S(X)), en los pocillos correspondientes.
- Luego, preparar el conjugado diluido 1:50. Para una tira de 8 pocillos medir: 980 µL de diluyente + 20 µL de conjugado.

- Añadir 100 μ L de conjugado diluido a todos los pocillos.
- Cubrir la superficie de la microplaca con Parafilm o una pegatina transparente e incubar durante 90 ± 5 minutos a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Mientras las muestras estén incubando, preparar la solución de lavado diluida: En una probeta de 100mL poner 95mL de agua destilada + 5mL de solución de lavado (20x). Luego poner en el recipiente marcado como “NS1” del lavador de microplacas.
- También, guardar las muestras de suero en el congelador hasta su envío respectivo al Laboratorio Referencial.
- Al finalizar la incubación, quitar el Parafilm o pegatina y eliminar el contenido; ya sea manual o con ayuda del lavador, en un recipiente que contengan hipoclorito sódico.
- Luego, poner la microplaca en la Lavadora de microplacas para lavar los pocillos 6 veces con la solución de lavado diluida. Previo a esto la lavadora debe estar programada por el distribuidor. Modo correcto del uso de la lavadora en la figura 22.



Figura 22. Lavadora de microplacas automática Erba

ELISA (a). Este modelo Erba LisaWash - microplate Washer es el que actualmente se tiene en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo. Para realizar el lavado de ELISA NS1 encender el equipo, luego (b) seleccionar CORRER, (c) seleccionar PLACA, (d) seleccionar LIQUIDO A, (e) poner programa 01, luego seleccionar CORRECTO, (f) poner el número de tiras con incr. o decr. y seleccionar CORRECTO; finalmente, (g) seleccionar PAUSA si hay problemas con el lavado. Tomado del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

- Terminado el lavado, retirar la microplaca y de manera rápida e invertida la placa, dar golpes sobre una hoja de papel absorbente hasta eliminar el exceso de lavado. IMPORTANTE: Es importante evitar las salpicaduras de reactivos durante las etapas de aspiración, lavado y secado de las microplacas.
- Añadir 160 μ L del cromógeno en todos los pocillos.
- Incubar a oscuras por 30 ± 5 minutos a temperatura ambiente (+18 a 30°C). No cubrir la microplaca.
- Añadir 100 μ L de solución de parada en cada pocillo.
- Inmediatamente, poner la microplaca en el lector de ELISA y leer a 450/620 nm, antes de los 30 minutos. Previo a esto el lector debe estar programado por el distribuidor. Modo correcto del uso del lector en la figura 23.



Figura 23. Lector de microplacas Erba ELISA (a). Este modelo Erba LisaScan II^{MT} - microplate Reader es el que actualmente se tiene en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo. Para realizar la lectura de ELISA NS1 encender el equipo por la parte posterior del lector, luego (b) seleccione medición rápida, (c) seleccione ond. Prin. y longitud 450nm, (d) seleccione ond sec. y longitud de onda de 620nm, (e) se observa la ond. Principal 450nm y la ond. Sec. 620 y seleccione OK; empezará a lecturar. (f) Los resultados de las densidades se muestran en la pantalla. Tomado del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

- Verificar que las densidades emitidas por el lector tengan concordancia con el resultado cualitativo y sobre todo, cumpla con el control de calidad.

IV.2.7.8. Control de calidad de la ficha técnica del reactivo

Para acreditar la correcta ejecución de ELISA NS1, deberán cumplirse los siguientes criterios:

- Valor Umbral (CO): es el promedio de los calibradores, este debe ser mayor a 0,200. $CO > 0.200$
- Relaciones:
 - La relación de la densidad óptica del control negativo (R3) y el CO debe ser menor a 0,40 (32).
 $Relación R3 < 0,40 \quad (Relación R3 = DOR3 / CO)$
 - La relación de la densidad óptica del control positivo (R5) y el CO debe ser mayor a 1,50 (32).
 $Relación R5 > 1,50 \quad (Relación R5 = DOR5 / CO)$

Si no se cumplen estos criterios se procede a reiniciar la ejecución del ensayo ELISA NS1.

IV.2.7.9. Interpretación de resultados

Se presenta la Tabla 13 para interpretar el resultado en base a la relación de la densidad óptica de la muestra con el CO.

Relación	Resultado	Interpretación
Relación < 0.50	Negativo	La muestra es considerada no reactiva para el antígeno NS1 del virus del dengue
$0,50 \leq$ Relación < 1.00	Equívoco	La muestra es considerada dudosa para el antígeno NS1 del virus del dengue
Relación \geq 1,00	Positivo	La muestra es considerada reactiva para el antígeno NS1 del virus del dengue

Tabla 13. Interpretación de los resultados de ELISA NS1. Tomado del inserto de Kit de Platelia™ Dengue NS1 Ag (32).

IV.2.8. Emisión de resultados del ensayo ELISA NS1

Para la emisión de resultados se digitalizarán los datos de cada paciente en el Excel de Monitoreo Dengue (Tabla 14). Para esto, el personal se ayudará de la ficha epidemiológica, y en la medida de lo posible se debe corroborar que el número de DNI pertenezca al paciente que se indica.

		MONITOREO DENGUE - 2022																										
SE	NR	Nombres y Apellidos	DNI	EESS	Lugar probable de la infección	Fecha Nac.	Edad	Fecha Inicio Sintomas	Fecha Obtencion Muestra	Fecha Recepcion Mx	Fecha corrida Mx LIRSS	Tipo de Muestra	Fecha de Proceso LIRSS	ELISA						Respon. de Corrida	Fecha Envio al LRR	Observaciones						
														< 5 días		> 5días												
														NS1	Cualit.	IgM	Cualit.	IgG	PCR									

Tabla 14. Formato Excel de registro de resultados del ensayo de ELISA NS1. Tomado del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

Luego, se digitará, solo los datos que correspondan, en el cuadro de “Determinación de Antígeno NS1” (Formato Excel) (Tabla 15). Para, finalmente enviar el resultado cuantitativo y cualitativo en formato PDF al grupo de WhatsApp “METAXÉNICAS SATIPO”.

Nº	APELLIDOS Y NOMBRES	DNI	PROCEDENCIA	LUGAR PROBABLE DE INFECCIÓN	DENSIDAD OPTICA	RELACIÓN MUESTRA	RESULTADO
1	PACIENTE 01	XXXXXXXX	ESTABLAMIENTO		0.013	0.0245	NEGATIVO
2	PACIENTE 02	XXXXXXXX	ESTABLAMIENTO		2.170	4.0866	POSITIVO
3	PACIENTE 03	XXXXXXXX	ESTABLAMIENTO		0.057	0.1073	NEGATIVO
4	PACIENTE 04	XXXXXXXX	ESTABLAMIENTO		2.202	4.1469	POSITIVO
	NEGATIVO		0.014		0.0264	< 0,4	<0,5
	CALIBRADOR 1		0.544				<1,0
	CALIBRADOR 2		0.518		0.531		>=1
	POSITIVO		1.555		2.928	> 1,5	

FECHA DE CORRIDA: 01/02/22 HORA: 13:00	BIORAD PLATELA DENGUE NS1 Ag	FV 2022/04/19
BACH. B.LGA. LLANTOY QUSPE YESSNIA EDH	3610520005538	

Tabla 15. Formato de determinación de antígeno NS1. Tomado del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

En casos POSITIVOS se enviará una foto de la ficha epidemiológica con el resultado, fecha de corrida y sello del responsable del análisis.

IV.2.9. Envío de información y sueros del Laboratorio Intermedio al Laboratorio Referencial de Junín

IV.2.9.1. Reporte de la semana epidemiológica

Se envía el reporte por S.E. al Responsable del área de metaxénicas del laboratorio Referencial de Junín. Todo en formato Excel, que contenga dos hojas: “Semana

Epidemiológica” (Tabla 16) y “Reporte resumido” (Tabla 17).

SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 01					SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 02				
EE.SS.	Ns1		IgM		EE.SS.	Ns1		IgM	
	Ms	Posit	Ms	Posit		Ms	Posit	Ms	Posit
C.S. RIO NEGRO	13	8	0	0	C.S. RIO NEGRO	14	14	1	0
HOSPITAL SATIPO	41	13	6	0	C.S. VALLE ESMERALDA	65	3	11	3
P. S. SAN CRISTOBAL	5	3	0	0	HOSPITAL SATIPO	64	26	9	4
P.S. CAPIRUSHARI	3	2	0	0	P. S. HERMOSA PAMPA	1	0	1	0
C. S. MAZAMARI	17	6	2	0	P. S. SAN CRISTOBAL	2	5	0	0
C. S. COVIRIALI	19	5	0	0	P.S. CAPIRUSHARI	1	2	1	0
P.S. BELÉN	1	0	0	0	C. S. MAZAMARI	15	11	3	0
C. S. LLAYLLA	2	2	0	0	C. S. LLAYLLA	1	5	0	0
C.S.TZIRIARI	1	1	0	0	C.S.TZIRIARI	1	0	0	0
TOTAL	102	40	8	0	P.S.PAURIALI	3	3	0	0
		39.22%		0.00%	TOTAL	167	69	26	7
							41.32%		26.92%

SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 03					SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 04				
EE.SS.	Ns1		IgM		EE.SS.	Ns1		IgM	
	Ms	Posit	Ms	Posit		Ms	Posit	Ms	Posit
C.S. RIO NEGRO	14	5	1	0	C.S. RIO NEGRO	1	1	0	0
HOSPITAL SATIPO	31	8	9	3	HOSPITAL SATIPO	23	5	4	0
P. S. SAN CRISTOBAL	1	1	0	0	HOSPITAL I RIO NEGRO	10	8	2	1
P.S. CAPIRUSHARI	3	3	0	0	C. S. MAZAMARI	25	7	4	0
HOSPITAL I RIO NEGRO	4	2	0	0	C. S. COVIRIALI	5	1	0	0
C. S. MAZAMARI	8	5	2	0	C.S.TZIRIARI	1	0	1	0
C. S. COVIRIALI	6	1	1	0	P. S. GLORIA BAMBA	1	0	0	0
C. S. LLAYLLA	1	0	1	0	TOTAL	66	22	11	1
C.S.UNIÓN CAPIRI	2	1	0	0			33.33%		9.09%
C. S. PUERTO OCOPA	4	3	0	0					
TOTAL	74	29	14	3					
		39.19%		21.43%					

SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 05					SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 06				
EE.SS.	Ns1		IgM		EE.SS.	Ns1		IgM	
	Ms	Posit	Ms	Posit		Ms	Posit	Ms	Posit
HOSPITAL SATIPO	22	6	6	0	C.S.COVIARI	13	2	0	0
HOSPITAL I RIO NEGRO	6	4	2	1	C.S.LLAYLLA	1	0	0	0
C.S. RIO NEGRO	1	1	0	0	C. S. MAZAMARI	10	6	0	0
C.S.COVIARI	3	2	0	0	C. S. PUERTO OCOPA	2	2	0	0
C. S. MAZAMARI	8	5	0	0	C.S. RIO NEGRO	3	3	0	0
C.S.LLAYLLA	1	1	0	0	HOSPITAL SATIPO	16	6	1	0
P. S. CAPIRUSHARI	1	0	0	0	C.S.MICAELA BASTIDAS	13	8	0	0
P.S. PAURIALI	1	0	0	0	P.S. SAN CRISTÓBAL	1	0	0	0
TOTAL	43	19	8	4	P.S.BELÉN	1	1	0	0
		44.18%		50.00%	P. S. CAPIRUSHARI	0	0	1	0
					TOTAL	60	28	2	0
							46.60%		0.00%

Tabla 16. Hoja de Semana Epidemiológica. Contiene el número total muestras procesadas y el total de muestras positivas de NS1 e IgM por establecimiento de salud por semana epidemiológica. Tomado del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

SE	PRUEBAS SEROLÓGICAS DE DENGUE PROCESADAS SEGUN NS1 e IGM	ELISA DENGUE NS1			ELISA DENGUE IGM			% de positivos de NS1	% de positivos de IGM	Stock NS1	Stock IGM	PROCEDENCIA/Ingresos		
		MUESTRAS PROCESADAS	POSITIVO	NEGATIVO	INDETERMINADOS	MUESTRAS PROCESADAS	POSITIVO						NEGATIVO	INDETERMINADOS
1	110	102	40	62	0	8	0	0	0	39,21568627	0	6 cajas + 11 tiras	1 caja + 10 tiras + 4 pocillos	
2	193	167	69	98	0	26	7	19	0	41,31736527	26,92307692	4 cajas + 8 tiras	1 caja + 5 tiras + 2 pocillos	
3	88	74	29	45	0	14	3	11	0	39,18918919	21,42857143	3 cajas + 7 tiras	1 caja + 7 pocillos	
4	77	56	22	44	0	11	1	10	0	33,33333333	9,09090909	2 cajas + 4 tiras	3 tiras + 4 pocillos	
5	51	43	19	24	0	5	4	4	0	44,18604651	50	5 cajas + 6 tiras	6 cajas + 7 tiras	SENARES 5 cajas NS1, 6 cajas IGM
6	62	60	28	22	0	2	0	2	0	46,66666667	0	5 cajas + 6 tiras	6 cajas + 6 tiras + 2 pocillos	
7	84	68	15	53	0	16	5	11	0	22,05882353	31,25	4 cajas + 4 tiras	6 cajas + 1 tira + 5 pocillos	
8	54	46	11	35	0	8	0	8	0	33,91304348	0	3 cajas + 6 tiras	6 cajas + 1 pocillo	
9	69	59	19	39	1	10	4	6	0	32,20338983	40	2 cajas + 7 tiras	6 cajas + 9 tiras + 3 pocillos	
10	40	32	13	19	0	8	1	5	2	40,625	12,5	12 cajas	11 cajas + 7 tiras + 3 pocillos	SENARES 10 cajas de NS1, 5 cajas de IGM
11	47	45	17	26	0	4	1	3	0	39,53488372	25	11 cajas + 4 tiras	11 cajas + 6 tiras + 3 pocillos	
12	58	50	18	31	1	8	2	6	0	36	25	10 cajas + 7 tiras	11 cajas + 8 tiras + 3 pocillos	
13	76	61	19	41	1	15	4	11	0	31,14754098	26,66666667	9 cajas + 7 tiras	11 cajas + 1 tira + 4 pocillos	
14	62	50	21	28	1	12	2	10	0	42	16,66666667	8 cajas + 9 tiras	10 cajas + 11 tiras	
15	47	39	15	24	0	8	2	6	0	38,46153846	25	8 cajas	10 cajas + 9 tiras + 4 pocillos	
16	55	55	29	26	0	0	0	0	0	52,72727273	0	7 cajas + 2 tiras	10 cajas + 9 tiras + 4 pocillos	
17	51	31	12	18	1	20	7	13	0	38,70967742	35	6 cajas + 8 tiras	10 cajas + 5 tiras + 4 pocillos	
18	59	52	22	30	0	7	3	4	0	42,30769231	42,85714286	5 cajas + 10 tiras	10 cajas + 4 tiras + 1 pocillo	
19	35	19	7	12	0	19	1	18	0	36,04105265	5,263157895	5 cajas + 6 tiras	10 cajas + 7 pocillos	
20	92	59	29	30	0	33	4	28	1	49,15354232	12,12121212	4 cajas + 8 tiras	9 cajas + 9 tiras + 4 pocillos	
21	34	31	12	19	0	3	1	1	1	38,70967742	33,33333333	33 cajas + 11 tiras	9 cajas + 5 tiras + 7 pocillos	
22	32	22	4	18	0	10	1	8	1	18,18181818	10	28 cajas + 06 tiras	9 cajas + 2 tiras + 7 pocillos	ESTRATEGIA (RED DE SALUD SATIPO) 25 cajas de NS1
23	78	51	17	34	0	27	1	26	0	33,33333333	33,703703704	17 cajas + 7 tiras	8 cajas + 10 tiras	

Tabla 17. Reporte resumido de resultados del ensayo ELISA dengue. Contiene el resumen semanal de muestras procesadas, la seropositividad y el stock de los kits de ELISAS de NS1 e IGM. Tomado del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

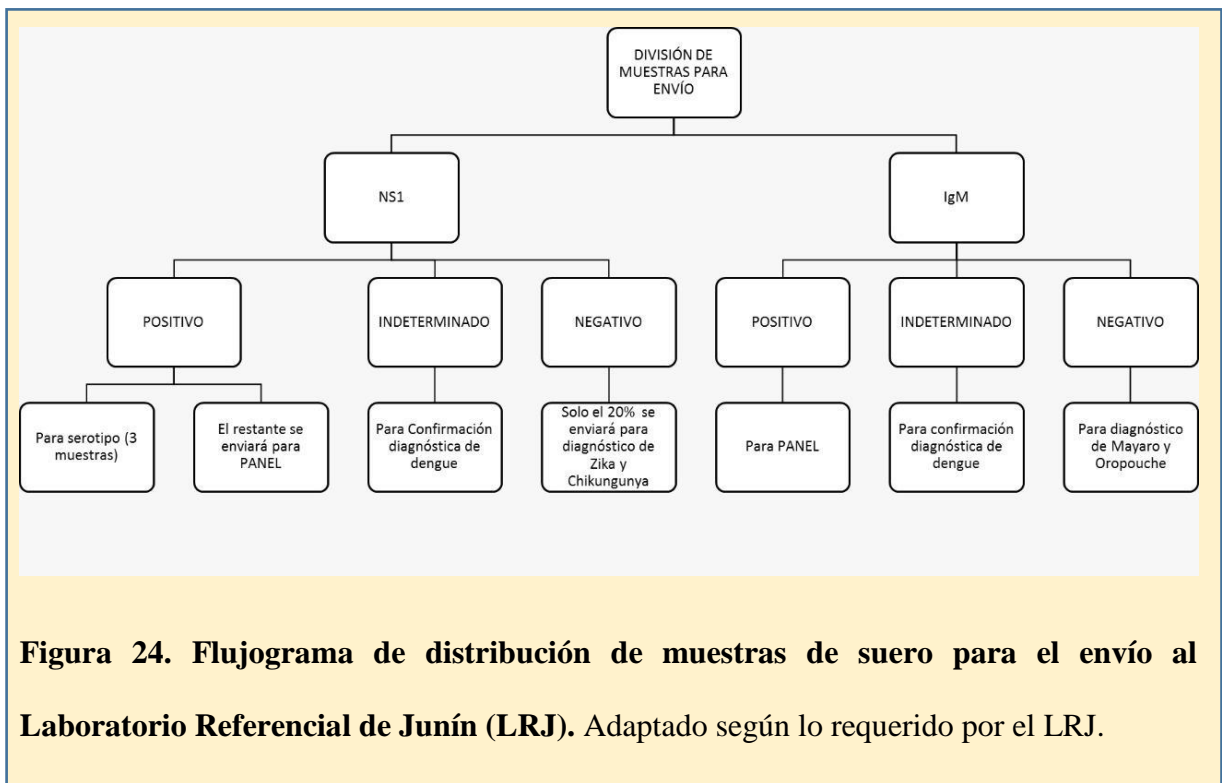
IV.2.9.2. Envío de muestras de sueros al Laboratorio

Referencial de Junín.

- El Laboratorio Intermedio enviará las muestras de suero al Laboratorio Referencial todos los lunes de cada semana. Excepto feriados.
- El envío se realizará de la corrida de ELISA NS1 de la anterior SE. Ejemplo: lunes 23 (SE 26), se enviarán los sueros de la semana anterior, que es la SE 25.
- Verificar la disponibilidad del currier y otros inconvenientes cómo desastres naturales (derrumbe, huaycos, etc).

IV.2.9.2.1. Especificaciones

Los sueros serán clasificados según los resultados del ELISA (Figura 24).



- De los NS1 positivos para serotipo, se enviarán 3 sueros. Las muestras deben corresponder a pacientes ambulatorios y pacientes hospitalizados graves, embarazadas y otros grupos de riesgo.
- De los NS1 negativos se enviarán el 20% del total para evaluación diagnóstica de Zika y Chikungunya.
- Los NS1 indeterminados se enviarán todos para confirmación diagnóstica de dengue

IV.2.9.2.2. Procedimiento de empaquetamiento

El envío de muestras se debe de realizar dentro de tres capas de embalajes/envases (52) (Tabla 7).

- Sacar las muestras del congelador.

- Verificar el estado de las muestras; asegurar que no hayan sufrido derrames y que los viales no estén rotos ni destapados.
- Verificar el rótulo de los viales. A veces, la tinta se borra, en caso de que así fuera, rotular el criovial adecuadamente o disponer de un nuevo criovial.
- Parafinar cada criovial.
- Colocar los crioviales en un portaviales o una gradilla de forma vertical con el fin de evitar derrames, y distribuir correctamente (Figura 25).

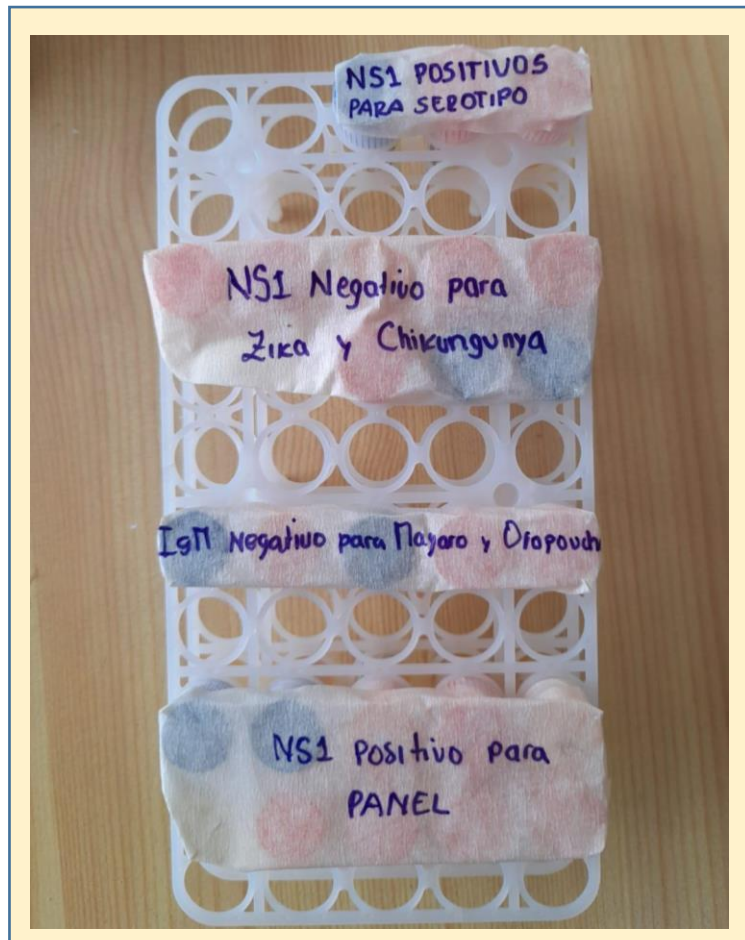


Figura 25. Ejemplo de correcta distribución de las muestras de sueros para envío al LRJ. Tomada del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

- Colocar el portaviales o gradilla en un cooler o caja de poliestireno agregando las bloquetas de hielo con fin de mantener la cadena de frío (2°C a 8°C).
- Cerrar el cooler o caja de poliestireno y agregar símbolos de bioseguridad.
- Entregar el “cuaderno de recepción de muestras” y el paquete de muestras (Figura 26) al designado (ambulancia o transporte particular).



Figura 26. Paquete completo del envío de muestras de dengue al LRJ. Tomada del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

- Realizar el seguimiento de las muestras enviadas.

IV.2.9.2.3. Redacción de la documentación del envío

- Cada envío deberá ir con un Reporte.
- El reporte debe estar dirigido al Laboratorio Referencial de Junín.
- El reporte debe contener una tabla donde se indica la cantidad de muestras enviadas, apellidos y nombres, DNI, procedencia, edad, diagnóstico y la evaluación diagnóstica de cada suero.
- El reporte se imprimirá por duplicado: El original y el cargo.
- El original se enviará dentro de un sobre con las fichas epidemiológicas más las muestras (Figura 26).
- El cargo quedará como evidencia del envío en el cual la responsable del recojo y envío de muestras firmará la recepción y pondrá la fecha de recojo.
- Cada copia tendrá el sello y firma de la responsable del laboratorio intermedio.

IV.2.10. Seguridad

IV.2.10.1. Derrame se restos biológicos

Además del EPP, se aconseja tomar todas las precauciones de seguridad

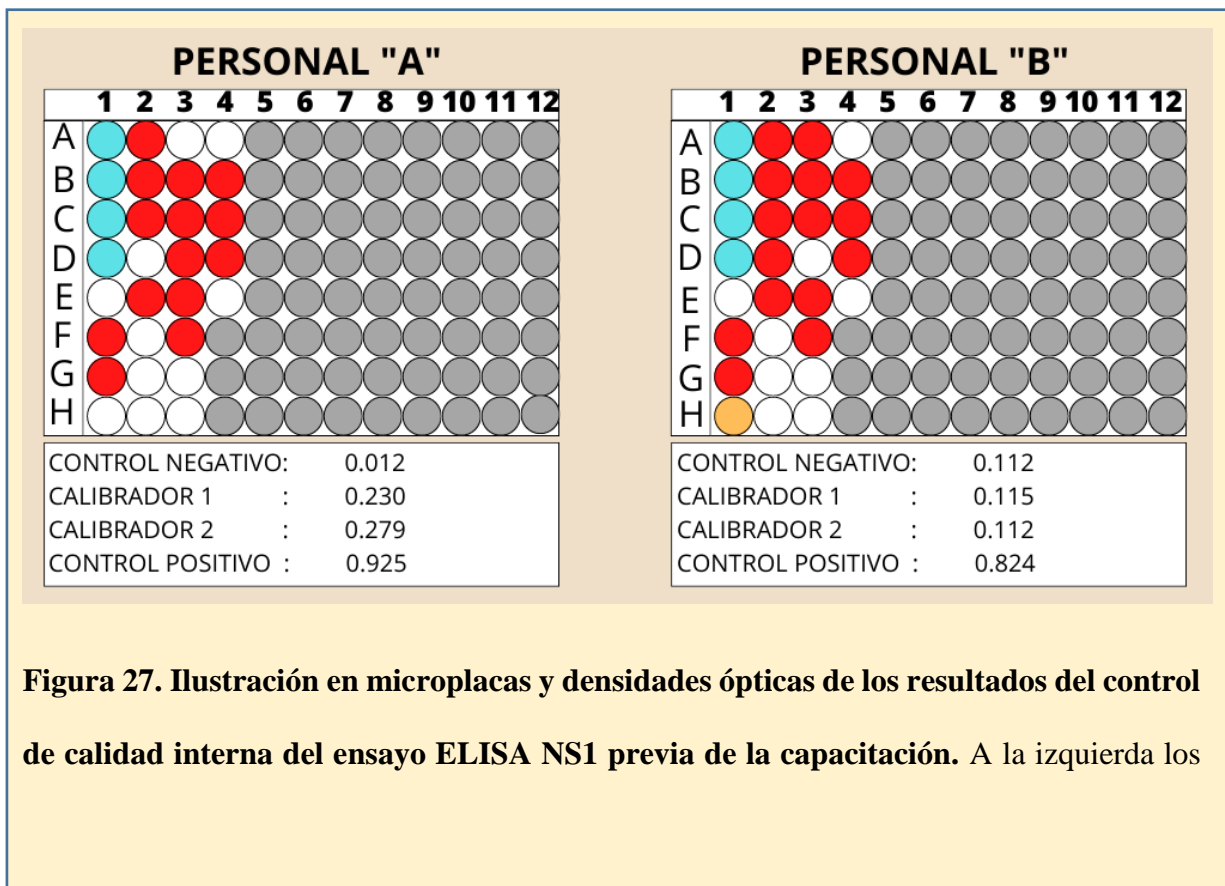
- Cubra el derrame con lejía al 10% durante 10 minutos.

- Cubra el área con papel absorbente (papel toalla).
- Usando EPP, limpie el derrame y el papel absorbente y colóquelos en la bolsa roja de desechos peligrosos.

IV.3. Calidad interna del ensayo de ELISA NS1 en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

IV.3.1. Calidad interna del ensayo ELISA NS1, previa capacitación.

Esto se ejecutó en setiembre del 2021, cuando el Laboratorio Intermedio operaba dentro de las instalaciones del Laboratorio del Hospital Manuel A. Higa Arakaki de Satipo (Figura 27). Se procesaron un total de 25 muestras codificadas.



resultados del personal A y a la derecha, lo del personal B. Los círculos celestes son los controles; círculos rojos, positivos; ámbar, indeterminados; los blancos, negativos; y los plomos, pocillos sin muestras.

El *personal A*, obtuvo densidades ópticas (D.O.) de los calibradores iguales a 0.230 y 0.279, dando como resultado el Valor umbral (CO) igual a 0.255, cumpliendo con el criterio $CO > 0.200$, mientras que la D.O. del control negativo fue 0.012, siendo la Relación $R3 = 0.012 / 0.255 = 0.0472$, cumpliendo con el criterio de $Relación R3 < 0,40$ ($Relación R3 = DOR3 / CO$). Así mismo, la D.O. control positivo fue 0.925, siendo la Relación $R5 = 0.925 / 0.255 = 3.635$, cumpliendo con el criterio de $Relación R5 > 1,50$ ($Relación R5 = DOR5 / CO$).

El *personal B*, obtuvo densidades ópticas (D.O.) de los calibradores 0.115 y 0.112, dando como resultado el “Valor Umbral” igual a 0.114, NO cumpliendo con el criterio $CO > 0.200$; mientras que, la D.O. del control negativo fue 0.012, siendo la Relación $R3 = 0.012 / 0.114 = 0.9868$, NO cumpliendo con el criterio de $Relación R3 < 0,40$ ($Relación R3 = DOR3 / CO$). Así también, la D.O. del control positivo fue D.O. 0.824, siendo la Relación $R3 = 0.824 / 0.114 = 7.260$, “cumpliendo” con el criterio de

Relación $R5 > 1,50$ (Relación $R5 = DOR5 / CO$), pero este último resultado depende del CO que en un inicio no cumple con el criterio de calidad.

En suma, el Personal (A) emitió un resultado cumpliendo todos los criterios de calidad; mientras que el Personal (B) emitió resultados sin cumplir los criterios establecidos en la ficha técnica de kit PLATELIA™ DENGUE NS1 Ag – BIORAD.

IV.3.2. Calidad interna del ensayo ELISA NS1, después de capacitación.

Esto se ejecutó en diciembre del 2022, en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo, ubicado en el Modulo de Familia José Olaya. (Figura 28). Se procesaron 36 muestras de sueros codificadas, con los mismos personales de metaxénicas que realizaron el control de calidad interna previa capacitación.

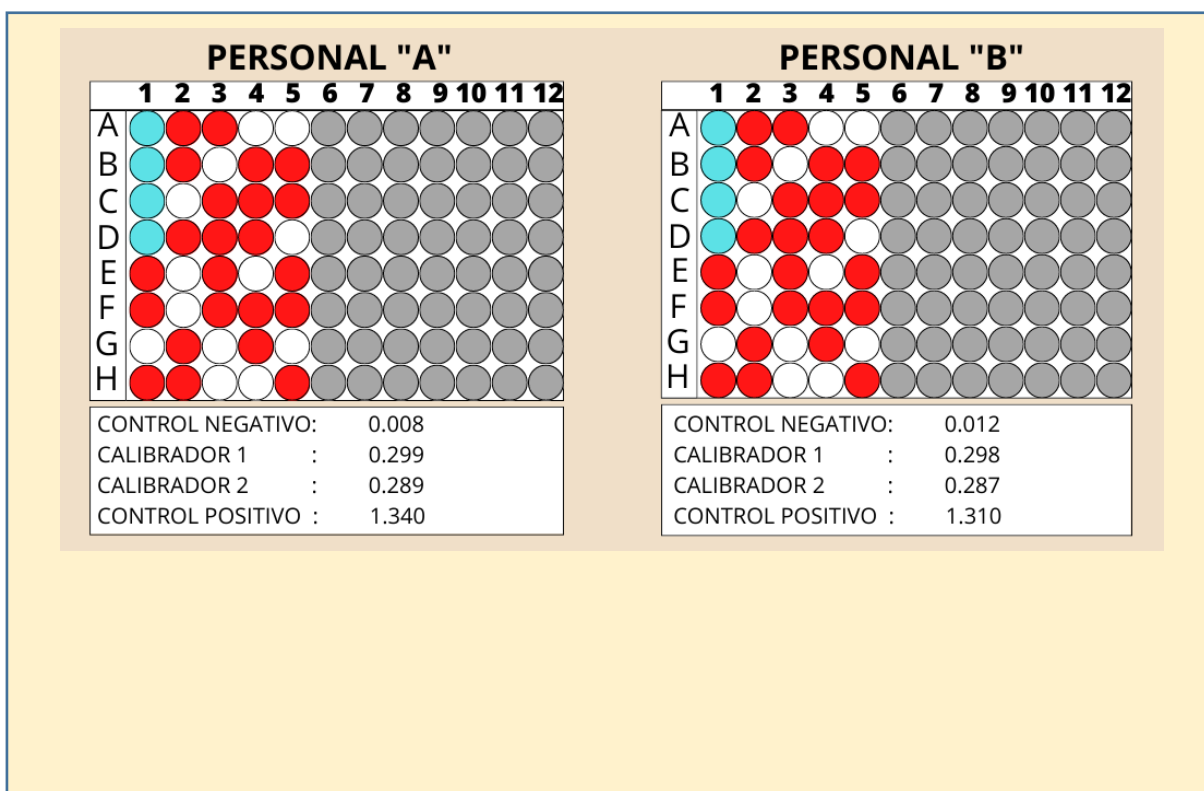


Figura 28. Ilustración en microplacas de los resultados del control de calidad interna del ensayo ELISA NS1 después de la capacitación. A la izquierda los resultados del personal A y a la derecha, lo del personal B. Los círculos celestes son los controles; círculos rojos, positivos; ámbar, indeterminados; los blancos, negativos; y los plomos, pocillos sin muestras.

El *personal A*, obtuvo densidades ópticas (D.O.) de calibradores igual a 0.299 y 0.289, dando como resultado el Valor Umbral (C.O.) igual a 0.294, cumpliendo con el criterio $CO > 0.200$; mientras que, la densidad óptica del control negativo fue 0.008, siendo la Relación $R3=0.008/0.294= 0.0272$, cumpliendo con el criterio de $Relación R3 < 0,40$ ($Relación R3 = DOR3 / CO$) . Así también, la densidad óptica del control positivo fue 1.340, siendo $Relación R5=1.340/0.294= 4.558$, cumpliendo con el criterio de $Relación R5 > 1,50$ ($Relación R5 = DOR5 / CO$) .

El *personal B*, obtuvo densidades ópticas (D.O.) de los calibradores igual a 0.298 y 0.287, dando como resultado el Valor Umbral (C.O.) igual a 0.293, cumpliendo con el criterio $CO > 0.200$, mientras que la densidad óptica del control negativo fue 0.012, siendo la $Relación R3=0.012/0.293= 0.0410$, cumpliendo con el criterio de $Relación R3 < 0,40$ ($Relación R3 = DOR3 / CO$) . Así mismo, la densidad óptica del control positivo fue 1.310, siendo la

Relación $R5 = 1.310/0.293 = 4.479$, cumpliendo con el criterio de
Relación $R5 > 1,50$ (Relación $R5 = DOR5 / CO$).

En suma, ambos personales, tanto A como B emitieron resultados cumpliendo los criterios establecidos en la ficha técnica de kit PLATELIA™ DENGUE NS1 Ag – BIORAD.

IV.3.3. Comparación de densidades ópticas, relación muestra y resultado final del ensayo de ELISA NS1 antes y después de la capacitación.

Se comparó las densidades ópticas, relación muestra y resultados obtenidos de cada personal del análisis de ELISA NS1 previa capacitación (Tabla 18).

CÓDIGO DE MUESTRA	DENSIDAD ÓPTICA		RELACIÓN MUESTRA		RESULTADO	
	PERSONAL A	PERSONAL B	PERSONAL A	PERSONAL B	PERSONAL A	PERSONAL B
01NS12021	0.01	0.012	0.04	0.11	NEGATIVO	NEGATIVO
02NS12021	4.523	3.54	17.77	31.19	POSITIVO	POSITIVO
03NS12021	2.211	4.647	8.69	40.94	POSITIVO	POSITIVO
04NS12021	0.012	0.066	0.05	0.58	NEGATIVO	INDETERMINADO
05NS12021	4.602	3.395	18.08	29.91	POSITIVO	POSITIVO
06NS12021	3.159	4.542	12.41	40.02	POSITIVO	POSITIVO
07NS12021	4.489	4.616	17.64	40.67	POSITIVO	POSITIVO
08NS12021	0.104	0.133	0.41	1.17	NEGATIVO	POSITIVO
09NS12021	0.472	0.492	1.85	4.33	POSITIVO	POSITIVO
10NS12021	0.020	0.014	0.08	0.12	NEGATIVO	NEGATIVO
11NS12021	0.010	0.000	0.04	0.00	NEGATIVO	NEGATIVO
12NS12021	0.040	0.022	0.16	0.19	NEGATIVO	NEGATIVO
13NS12021	0.000	2.813	0.00	24.78	NEGATIVO	POSITIVO
14NS12021	2.260	2.002	8.88	17.64	POSITIVO	POSITIVO
15NS12021	4.436	4.647	17.43	40.94	POSITIVO	POSITIVO
16NS12021	3.790	-0.001	14.89	-0.01	POSITIVO	NEGATIVO
17NS12021	4.100	4.601	16.11	40.54	POSITIVO	POSITIVO
18NS12021	2.709	4.604	10.64	40.56	POSITIVO	POSITIVO
19NS12021	0.014	0.014	0.06	0.12	NEGATIVO	NEGATIVO
20NS12021	0.019	0.016	0.07	0.14	NEGATIVO	NEGATIVO
21NS12021	0.009	0.022	0.04	0.19	NEGATIVO	NEGATIVO
22NS12021	2.145	2.813	8.43	24.78	POSITIVO	POSITIVO
23NS12021	4.578	4.639	17.99	40.87	POSITIVO	POSITIVO
24NS12021	4.678	4.729	18.38	41.67	POSITIVO	POSITIVO
25NS12021	0.000	0.007	0.00	0.06	NEGATIVO	NEGATIVO

Tabla 18. Comparación de densidades ópticas (D.O.), relación muestra y resultado del ensayo de ELISA NS1 previa capacitación. En la columna de densidad óptica el fondo **amarillo** representa DO fuera de rango. En la columna de resultados el fondo **rojo** representa los positivos; **ámbar**, indeterminados; y los **blancos**, negativos. Tomado del reporte de resultados del control de calidad interna del ensayo ELISA NS1 (Anexo 6 y 7).

Se observa que previa capacitación no hay concordancia con los resultados entre ambos personales, en las muestra 4, 8, 13 y 16.

Por otro lado, el *personal A*, en el resultado de las DO de las muestras 13NS12021 y 25NS12021 fueron 0.000, un valor que no está admitido. Mientras que el personal B, en el resultado de la DO de la muestra 11NS12021 y 16NS12021, fue 0.000 y -0.001

respectivamente; ambos valores no son admitidos, el primero por ser nulo y el siguiente porque no existe un valor negativo de DO.

	PERSONAL "A"	PERSONAL "B"
POSITIVO	14	15
INDETERMINADO	0	1
NEGATIVO	11	9

Tabla 19. Cantidad de positivos, indeterminados y negativos del ensayo NS1, antes de la capacitación.

En resumen, previa capacitación se analizaron 25 muestras de sueros codificadas. El personal A, emitió el resultado de 14 positivos y 11 negativos. Mientras que, el personal B, dio como resultado 14 positivos y 11 negativos (Tabla 19).

De igual forma, se comparó las densidades ópticas, relación muestra y resultados obtenidos de cada personal del análisis de ELISA NS1 después de la capacitación (Tabla 20).

CÓDIGO DE MUESTRA	DENSIDAD ÓPTICA		RELACIÓN MUESTRA		RESULTADO	
	PERSONAL A	PERSONAL B	PERSONAL A	PERSONAL B	PERSONAL A	PERSONAL B
01NS12021	4.542	4.551	15.48	15.53	POSITIVO	POSITIVO
02NS12021	4.452	4.464	15.18	15.22	POSITIVO	POSITIVO
03NS12021	0.011	0.009	0.03	0.04	NEGATIVO	NEGATIVO
04NS12021	4.459	4.465	15.19	15.24	POSITIVO	POSITIVO
05NS12021	4.433	4.445	15.12	15.16	POSITIVO	POSITIVO
06NS12021	0.412	0.408	1.39	1.41	POSITIVO	POSITIVO
07NS12021	0.029	0.024	0.08	0.10	NEGATIVO	NEGATIVO
08NS12021	4.416	4.419	15.03	15.10	POSITIVO	POSITIVO
09NS12021	0.053	0.049	0.17	0.18	NEGATIVO	NEGATIVO
10NS12021	0.036	0.036	0.12	0.12	NEGATIVO	NEGATIVO
11NS12021	4.567	4.575	15.56	15.61	POSITIVO	POSITIVO
12NS12021	4.457	4.467	15.19	15.24	POSITIVO	POSITIVO
13NS12021	4.465	4.475	15.22	15.27	POSITIVO	POSITIVO
14NS12021	0.031	0.030	0.10	0.12	NEGATIVO	NEGATIVO
15NS12021	4.479	4.484	15.25	15.31	POSITIVO	POSITIVO
16NS12021	4.325	4.323	14.70	14.79	POSITIVO	POSITIVO
17NS12021	4.417	4.427	15.06	15.10	POSITIVO	POSITIVO
18NS12021	4.498	4.504	15.32	15.38	POSITIVO	POSITIVO
19NS12021	0.018	0.016	0.05	0.06	NEGATIVO	NEGATIVO
20NS12021	0.029	0.023	0.08	0.10	NEGATIVO	NEGATIVO
21NS12021	0.011	0.009	0.03	0.04	NEGATIVO	NEGATIVO
22NS12021	4.497	4.499	15.30	15.37	POSITIVO	POSITIVO
23NS12021	4.576	4.584	15.59	15.64	POSITIVO	POSITIVO
24NS12021	1.998	2.282	7.76	6.83	POSITIVO	POSITIVO
25NS12021	0.040	0.038	0.13	0.14	NEGATIVO	NEGATIVO
26NS12021	0.322	0.323	1.10	1.10	POSITIVO	POSITIVO
27NS12021	4.543	4.549	15.47	15.53	POSITIVO	POSITIVO
28NS12021	0.024	0.022	0.07	0.08	NEGATIVO	NEGATIVO
29NS12021	0.022	0.014	0.05	0.08	NEGATIVO	NEGATIVO
30NS12021	2.361	3.567	12.13	8.07	POSITIVO	POSITIVO
31NS12021	4.561	4.562	15.52	15.59	POSITIVO	POSITIVO
32NS12021	0.046	0.041	0.14	0.16	NEGATIVO	NEGATIVO
33NS12021	2.073	2.062	7.01	7.09	POSITIVO	POSITIVO
34NS12021	4.427	4.424	15.05	15.14	POSITIVO	POSITIVO
35NS12021	0.017	0.017	0.06	0.06	NEGATIVO	NEGATIVO
36NS12021	2.815	2.570	8.74	9.62	POSITIVO	POSITIVO

Tabla 20. Comparación de densidades ópticas (D.O.), relación muestra y resultado del ensayo de ELISA NS1 después de la capacitación. En la columna de resultados el fondo rojo representa los positivos y los blancos, negativos. Tomado del reporte de resultados del control de calidad interna del ensayo ELISA NS1 (Anexo 8 y 9).

La tabla 20 evidencia que después de la capacitación, hay un 100% de concordancia en los resultados entre ambos personal.

En resumen, después de la capacitación se analizaron 36 muestras de sueros codificadas, con los mismos personales de metaxénicas

que realizaron la calidad interna en el 2021. Ambos personales, tanto (A) y (B), emitieron resultados de 23 positivos y 13 negativos, concordantes entre muestras (Tabla 21).

	PERSONAL "A"	PERSONAL "B"
POSITIVO	23	23
INDETERMINADO	0	0
NEGATIVO	13	13

Tabla 21. Cantidad de positivos, indeterminados y negativos del ensayo NS1, después de la capacitación.

IV.4. Eficacia de la implementación de los POEs medida a través del tiempo de emisión de resultados del ensayo de ELISA NS1 y del número de hospitalizaciones.

Se evidenció una disminución en el tiempo de emisión de resultados a nivel de la provincia (gráfico 4A), distrito (gráfico 4B) y periferia (gráfico 4C) de Satipo. Antes del inicio de mi labor, la emisión de resultados tiene fluctuaciones grandes, alcanzando un máximo de 40 días. Mientras que, a partir del comienzo de mi labor (agosto 2022 en adelante), se observa que el tiempo de emisión de resultados disminuye, variando desde 0 días hasta un máximo de 4 días. Los máximos días que se observan, *después del inicio de trabajo*, corresponden a las muestras recepcionadas los fines de semana; recordar que el Laboratorio Intermedio tiene un horario administrativo, por el cual no labora ni sábado ni domingos.

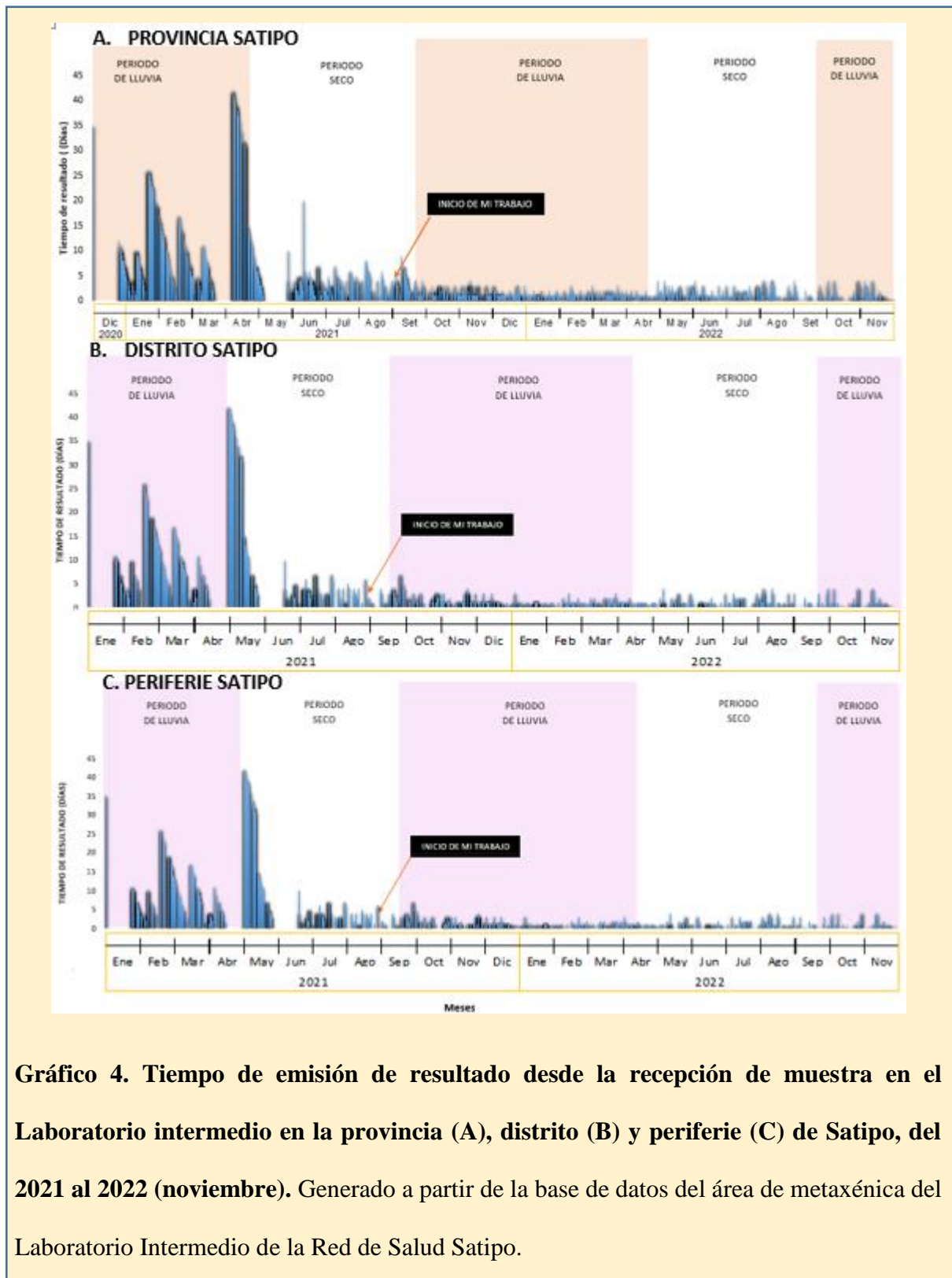


Gráfico 4. Tiempo de emisión de resultado desde la recepción de muestra en el Laboratorio intermedio en la provincia (A), distrito (B) y periferie (C) de Satipo, del 2021 al 2022 (noviembre). Generado a partir de la base de datos del área de metaxénica del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo.

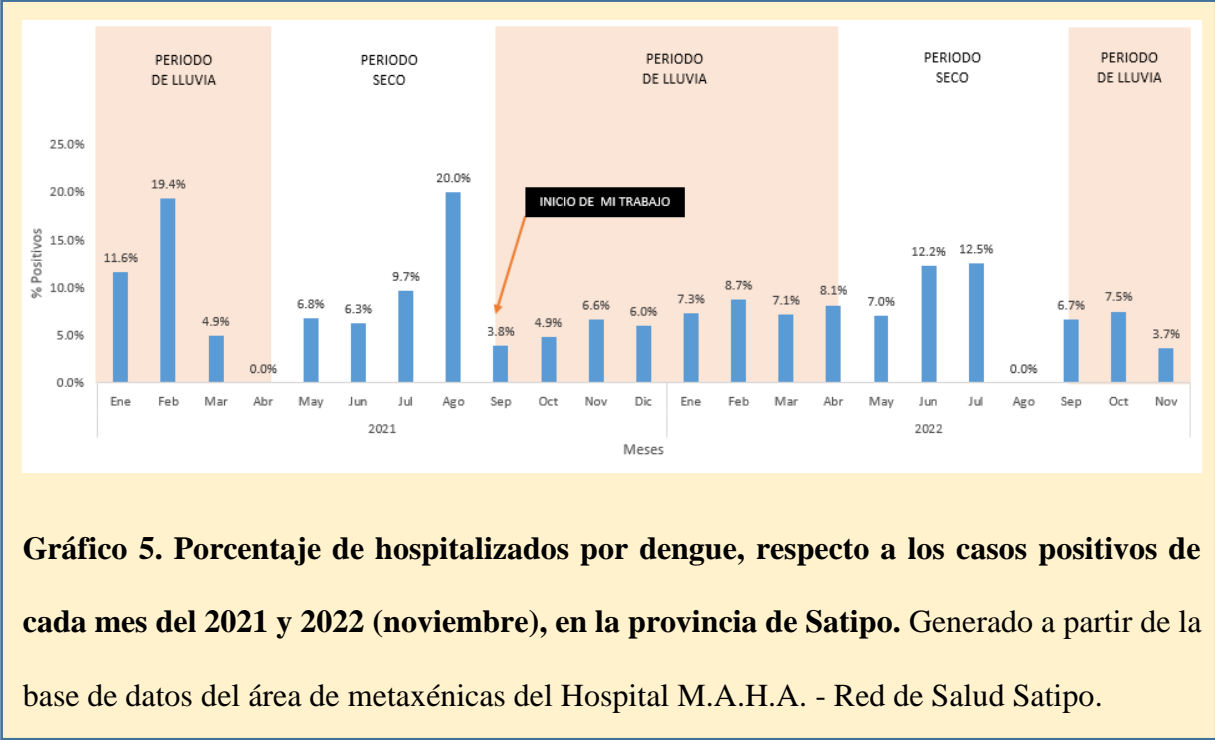


Gráfico 5. Porcentaje de hospitalizados por dengue, respecto a los casos positivos de cada mes del 2021 y 2022 (noviembre), en la provincia de Satipo. Generado a partir de la base de datos del área de metaxénicas del Hospital M.A.H.A. - Red de Salud Satipo.

Las hospitalizaciones en toda la provincia de Satipo, se realizan solo en el Hospital Manuel A. Higa Arakaki. En el gráfico 5 se observa que los meses con mayor porcentaje de hospitalizaciones son febrero y agosto del 2021, antes de iniciar a laborar para la Red de Salud Satipo. Resaltar que el mes de abril del 2021, el porcentaje 0.00% es porque ese mes no se realizó ningún análisis de ELISA NS1.

A partir del inicio de mi trabajo, se observa un promedio de porcentaje de hospitalizaciones más homogéneo, teniendo un máximo de 12.5% de hospitalizados en el mes de julio, y un mínimo en agosto con 0.00% de hospitalizados.

	PROMEDIO DE % HOSPITALIZADO 2021	PROMEDIO DE % HOSPITALIZADO 2022
PERIODO DE LLUVIA (Ene-Abr)	11.97%	7.83%
PERIODO SECO (May-Ago)	10.68%	7.95%
PERIODO DE LLUVIA (Sep-Dic)	5.33%	*5.93%

* Solo hasta noviembre

Tabla 22. Promedio de porcentaje de hospitalizaciones del 2021 – 2022, por periodo de lluvia y seco. Lo sombreado en azul pertenece al periodo antes del inicio de trabajo. Generado a partir de la base de datos del área de metaxénicas del Hospital M.A.H.A. - Red de Salud Satipo.

Antes del inicio de trabajo, el promedio de las hospitalizaciones eran mayores que *después del inicio de trabajo*. Comparando los periodos, se observa que, para el periodo de lluvia (Ene-Abr), hubo una disminución del porcentaje de hospitalizaciones después del inicio de trabajo; esta misma situación pasa con el periodo seco (May-Ago). Por otro lado, en el periodo de lluvia (Sep-Dic), los porcentajes de hospitalización son similares tanto en el 2021 como en el 2022 (Tabla 22).

IV.5. Efectividad de la implementación de los POEs medida a través de la relación de la seropositividad por NS1 con el número de cercos epidemiológicos.

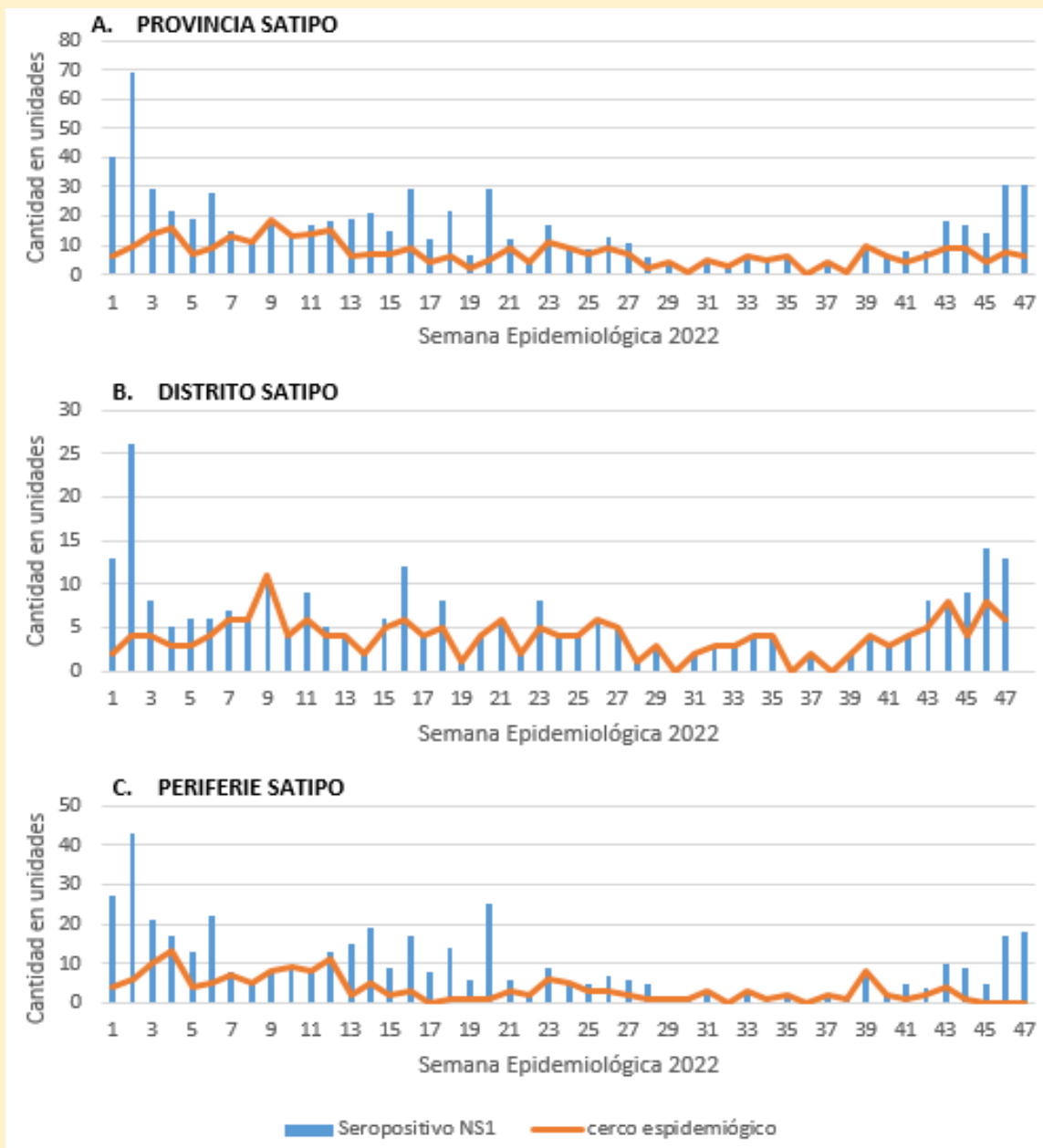


Gráfico 6. Número de seropositivos NS1 y cantidad de cercos epidemiológicos realizados el 2022, por SE en la provincia (A), distrito (B) y periferie (C) de Satipo. Generado a partir de la base de datos del área de metaxénicas del Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo y la coordinación de Control Vectorial de la Red de Salud Satipo.

En el gráfico 6 se observa que el 2022 inició con bajas intervenciones de cercos epidemiológicos; sin embargo, a lo largo de las semanas epidemiológicas se fue realizando proporcional a la cantidad de seropositivos NS1.

A nivel distrital, se observa una mejor proporción del número de cercos epidemiológicos con la cantidad de seropositivos NS1. Generando, ciertas fluctuaciones donde se ve una disminución en la cantidad de seropositivos NS1, por ejemplo de la SE 11 a la SE 14. Esto, también dio como resultado una cantidad nula de seropositivos NS1 en las SE 30, 36 y 38. En la SE 43 se presenta un brote por dengue, pero las intervenciones no son al 100% y se genera un aumento de seropositivos.

A nivel de periferie, se observa que de la SE 01 hasta la SE 20, el número de intervenciones de cercos epidemiológicos no van a la par con la cantidad de seropositivos NS1; sin embargo, posterior a ello se observa una proporcionalidad mejor que genera una disminución en la cantidad de seropositivos NS1 a lo largo de las SEs. Para la SE 43 en adelante, se disminuye las intervenciones, lo que genera un aumento de seropositivos NS1 en periferie.

SATIPO	seropositivos NS1	Cercos epidemiológicos	% Cobertura
Provincia	714	348	48.74%
Distrito	269	186	69.14%
Periferie	445	162	36.40%

Tabla 23. Cantidad de seropositivos NS1 y cercos epidemiológicos en Satipo, a nivel provincial, distrital y periferie, en el 2022 (SE 47).

En la tabla 23, se observa que a nivel distrital, Satipo tuvo una mejor cobertura respecto a la intervención de cercos epidemiológicos con 69.14% del total del seropositivos NS1. Mientras que a nivel periferie, solo se cubrió el 36.4% de la cantidad de seropositivos NS1.

V. DISCUSIÓN

La presente discusión se realizará en cinco (05) partes: comenzando por la importancia de la implementación de POEs en un laboratorio, el POE para los laboratorios locales, POE para el laboratorio intermedio, impacto de los POEs dentro de las hospitalizaciones y, finalmente, el impacto de los cercos epidemiológicos.

V.1. Importancia de la implementación de POEs en un laboratorio

El laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo es una institución que inició de forma operativa en el Laboratorio del Hospital Manuel A. Higa Arakaki que contaba solo con el área de metaxénicas (análisis de ELISAs dengue); y que para el mes de abril del presente año, adquiere su propia infraestructura en el Módulo de Familia José Olaya; donde se viene realizando, hasta la fecha, ambientación y equipamiento de más áreas (TBC, control vectorial, I.T.S., calidad de agua, etc.).

La guía de “Sistema de gestión de la calidad en el laboratorio”, menciona que todo laboratorio debe disponer de calidad; y que, pese a que este sea uno de bajos recursos no hay ninguna limitación al respecto más que tener personal dedicado (55). El sistema de gestión de la calidad es imprescindible para un

laboratorio, ya que comprende la totalidad de los aspectos del funcionamiento, incluidos la estructura organizativa y los procesos y procedimientos, para garantizar la calidad de resultados en todo el ciclo de análisis (pre-analítico, analítico y post-analítico) (55). Todo esto es designado como itinerario del flujo de trabajo, que comienza primero por el paciente, fase pre-analítica (selección de análisis, recogida de muestra y transporte de la muestra), fase analítica (prueba de análisis), fase post analítica (emisión de resultados, ordenamiento de informes, transporte de informes y notificación) e interpretación del resultado (55).

Es por ello, que cada área, debe establecer Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs) para su correcto funcionamiento en cuanto a los procesos y/o análisis que se realizaran (56).

La OMS menciona que un POE tiene como finalidad uniformizar procesos detallándolos paso a paso, disminuyendo o eliminando desviaciones o errores y riesgos en estos, sirviendo como guía al personal con o sin capacitación al estandarizar los procesos para dar resultados de calidad, conteniendo, también información sobre los peligros potenciales y mencionando cómo mitigar estos (56). Sin embargo, este tienen criterios para su redacción, como tener consideración las fuentes bibliográficas confiables para su redacción, para poder describir quién lo hace, qué hace, con qué frecuencia se hace, cómo lo hace y establecer las medidas correctivas y preventivas de forma correcta y basado en evidencia (56).

La finalidad y el aporte que da este trabajo de suficiencia profesional, fue generar dos POEs para el área de metaxénicas-dengue, uno para los EESS de

salud de toda la provincia Satipo, y otro POE para el Laboratorio Intermedio, para brindar una mejor ejecución del ensayo ELISA NS1 y tener resultados fiables para los pacientes febriles. Esto a fin de mitigar que el personal tenga falencias en elegir diferente literatura y pueda tomar criterios personales y subjetivos sobre el procedimiento a realizar.

V.2. POE para los establecimientos de salud de la provincia de Satipo

El “Procedimiento Operativo Estándar para los establecimientos de salud de Satipo sobre la recolección, conservación y envío de muestras de suero al Laboratorio Intermedio”, es una guía de cómo realizar adecuadamente la obtención de una adecuada muestra de suero y la toma de decisiones que hay que optar en cada paso, según lo requerido.

Dentro de un laboratorio se identifican tres fases, la pre-analítica, analítica y post-analítica, y en cada una se producen diferentes errores; sin embargo los errores analíticos son pocos debido a la automatización del procedimiento, siendo más difícil de controlar los errores pre y post-analíticos, debido a la variación de la metodología que maneje cada personal o al criterio individual para la interpretación de resultados (57).

Este primer POE aborda la parte pre-analítica del ensayo de ELISA NS1, teniendo la finalidad de disminuir los errores en esta fase. Para el caso de los ELISAs, la muestra serológica es el objeto a ser evaluado, y su proceso para obtenerlo es rutinario dentro de los laboratorios; sin embargo, el tecnicismo y la confianza de saber cómo obtener, separar, conservar y enviar el suero son pasos que deben manejarse con sumo cuidado.

En este trabajo se pueden absolver varios puntos críticos, empezando por la identificación del correcto llenado de la “*Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis*” por parte de la estrategia de metaxénicas. Siendo la “*Norma Técnica de Salud para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue, chikungunya, Zika y otras arbovirosis en el Perú*” una guía base para esto (5).

También se incluye la obtención de sangre por el método de venopunción detallado de forma simplificada a partir del protocolo de la OMS (48). Sin embargo, existen otros documentos internacionales como el CLSI H3-A69 “*Procedure for the collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture*» de “*Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)*”, que menciona detalladamente cada paso a seguir para una correcta recolección de la muestra (58). En cada una de estas, el sistema con Vacutainer es más óptimo, porque disminuye la exposición con la sangre del paciente; sin embargo, en áreas de bajos recursos y lejanos como lo son los establecimientos fronterizos, en especial la parte del Valle del Río Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM) de Junín, presentan una falta de insumos básicos por el difícil acceso, imposibilitando la toma de muestra por el sistema de Vacutainer; es así que se menciona el sistema por aguja libre, teniendo la consideración de optar por este siempre y cuando no se cuente con lo mínimo indispensable para el otro sistema.

Para la colecta y conservación de suero se presenta según la Norma Peruana de arbovirosis (5) la cual consiste en centrifugar el tubo de sangre a 3500

RPM por 5 minutos, separa el suero en un criovial de 2mL y conservarlo bajo congelación de menos 10-20°C. Respecto a la organización de los sueros para su conservación se plasmó de acuerdo al conocimiento adquirido en la institución.

En el caso de transporte, el suero debe mantener una cadena de frío de -8 °C, empleando gel packs provistos por el almacén de la red y bajo ningún motivo realizar envíos con bolsas de hielo. Y de preferencia la movilidad debe ser del establecimiento (ambulancia) para poder realizar un seguimiento de la muestra.

Como dato adicional, se resalta la necesidad de capacitar al personal de salud en puestos lejanos sobre la adecuada recolección de muestras. Esto es evidenciado no solo por las incidencias reportadas en las muestras recepcionadas en el Laboratorio de Satipo, sino además porque en situaciones de epidemias, los pacientes recurren a los establecimientos de salud más cercanos del departamento adyacente a Junín que cuenta con personal más calificado.

V.3. POE para el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo

El “Procedimiento Operativo Estándar para el ensayo de ELISA NS1 de dengue que incluye la recepción y conservación de suero, realización del ELISA y emisión de resultados en el Laboratorio Intermedio, y envío de sueros al Laboratorio Referencial de Junín”, es una guía que contiene parte de la fase pre-analítica, y más a fondo, la fase analítica y post-analítica.

Dentro de la fase pre-analítica se realiza un control de calidad en la recepción de muestras y formatos, siendo el laboratorio intermedio un segundo filtro. En esta sección, se toman decisiones de acuerdo a la Norma técnica de arbovirosis del Perú (5) y el inserto del kit PLATELIA™ DENGUE NS1 Ag – BIORAD (32), la primera para recepción de muestra y documentación y la segunda para ejecución del ELISA NS1.

Una vez recepcionado la muestra, se procede a realizar el ensayo ELISA o a conservar la muestra, dependiendo de la situación. Para evitar errores analíticos en el ensayo es importante tener en cuenta no solo el seguimiento correcto de los pasos del inserto del kit para ELISA NS1 (BIORAD Platelia) (32), sino también la forma adecuada de conservación, que debe ser de -10°C a -20°C (5), para evitar modificaciones de los metabolitos y enzimas (59), y la correcta manipulación de las muestras, porque podrían ser altamente peligrosas.

Se toma la decisión de realizar ELISA NS1 porque esta proteína está presente en la fase inicial de la enfermedad (24). Esto ayuda a confirmar la infección por DENV en la fase febril y brindar un resultado oportuno al paciente para el manejo adecuado del caso por parte del médico tratante.

En la sección de emisión de resultados y envíos de las muestras al Laboratorio Referencial de Junín, se basan en acuerdos tomados en conjunto con el área de metaxénicas, donde se menciona que antes de emitir un resultado se debe cerciorar que los controles y calibradores cumplan con el control de calidad del inserto del kit (32). Por otro lado, los envíos de muestras al LRR Junín se

deben de realizar minuciosamente, y bien empaquetados, siguiendo los pasos de la guía OMS (52) y coordinación previa con el LRRJ.

V.4. Calidad interna del ensayo de ELISA NS1 en el Laboratorio Intermedio de la Red de Salud Satipo

La calidad interna del ensayo ELISA NS1, por medio de la reproducibilidad dio un resultado del 100% concordante, después de la capacitación. Esto porque el personal viene uniformizando el proceso pre-analítico, analítico y post-analítico, a lo largo del tiempo laborado, teniendo como resultado del curso TSP, la redacción de dos POEs que servirán como guías para uniformizar cada procedimiento del ELISA NS1 (56) y brindar un formato de fácil envío al personal de salud involucrado.

La capacitación para el personal de salud debe ir dirigido a la necesidad y al compromiso de cada institución, estos deben ser didácticos, factibles, y tener un flujo metodológico según el tema que se aborda, de esta forma el personal podrá ser potenciado y actualizado en conocimientos y habilidades para un mejor resultado en la atención al paciente.

El análisis por ELISA, es una técnica parcialmente fácil de realizar, porque opera con pocos equipos, la sensibilidad y susceptibilidad son buenas, así como la gran variedad de kits para capturar diferentes marcadores, entre ellos el NS1 del DENV. Sin embargo, al ser una ejecución semi-automatizada, donde interviene bastante el factor humano, se requiere de un buen entendimiento del principio, procedimiento y controles de calidad, a fin de emitir un resultado confiable, por ello es indispensable que el personal de

laboratorio esté capacitado, y que esta capacitación esté apoyado de un protocolo operativo estandarizado.

Todo lo mencionado antes, se observa en los resultados donde *antes de la capacitación* se evidencia resultados no concordantes, es decir falsos positivos y falsos negativos. A diferencia *después de la capacitación*, donde los resultados son concordantes entre ambos personales y cada una cumple con los criterios de control de calidad del inserto. Esto es importante, porque un falso positivo o un falso negativo, repercute en el adecuado diagnóstico pudiendo generar un mal manejo del paciente; en caso del dengue, el personal médico, a parte del diagnóstico por laboratorio, debe de conocer la evolución sintomatológica de la infección; sin embargo, en la provincia Satipo al ser una zona endémica de enfermedades arbovirales donde algunas tienen sintomatología similar, la experiencia frente a estos casos y capacitación del médico también serán un factor importante para el diagnóstico.

Cada muestra serológica debe ser manipulada cuidadosa y adecuadamente para luego poder remitirla al Laboratorio Referencial de Junín para su respectivo control de calidad y vigilancia otras enfermedades arbovirales.

V.5. La implementación de los POEs redujo el tiempo de emisión de resultados del ensayo de ELISA NS1 y el porcentaje número de hospitalizaciones.

Los resultados muestran que el tiempo de emisión de resultados disminuyó desde el ingreso del personal teniendo repercusión a nivel provincial, distrital y periferia de Satipo. Debido a que parte importante de la labor fue coordinar

con las microredes y Hospital MAHA en el envío de muestras en el menor tiempo posible y remitirlas de forma adecuada, teniendo como aviso, la generación de un informe en el caso que no se cumplieran los criterios de recepción.

Inicialmente los criterios de recepción fueron: entrega de la muestra de suero junto con su ficha epidemiológica correspondiente; sin embargo, con el tiempo se evidenció que las muestras llegaban hemolizadas, escasas y las fichas eran mal rellenas. Es así, que se implementaron más criterios para la aceptación de las muestras, como muestras No hemolizada, suero no menor de 1.5 ml -2ml, no lipémicas y fichas epidemiológicas correctamente rellenas y con los sellos correspondientes. Esto ayudó a disminuir la cantidad de muestras rechazadas, por ende el proceso de ejecución de ELISA se realizaba en el menor tiempo posible.

El criterio de tener una buena muestra y la documentación adecuada minimiza los errores y genera datos confiables en la ejecución y reporte de resultados del ELISA NS1 (60). Caso contrario, si hay un rechazo se tiene que subsanar los errores, lo que conlleva a tardar más tiempo en la realización de los análisis.

En un área endémica y de bajo recursos como lo es la provincia de Satipo, y donde la capacidad hospitalaria existente es reducida, la disminución del tiempo de emisión de resultados tiene un impacto en la reducción en el número de hospitalizaciones, especialmente en momentos de epidemias de dengue, pudiendo evitar de esta forma saturar la atención hospitalaria por casos que no requieran hospitalización.

Los resultados mostrados en la tabla 21, mencionan que en el periodo de lluvia, antes del inicio de mi labor en la Red de Salud Satipo (2021), el promedio de porcentaje de hospitalizaciones era 11.97% en comparación a cuando ya estaba trabajando (2022), que fue de 7.83%. Lo mismo pasó en el periodo seco, que paso de 10.68% en el 2021 a 7.95% en el 2022.

Uno de factores importantes para correcto manejo de los casos de dengue es un diagnóstico oportuno, el cual genera una atención/vigilancia inmediata del paciente. Por otro lado, también ayuda a mantener una vigilancia de la seropositividad y diagnóstico de los genotipos en el país; porque toda muestra positiva se envía al Laboratorio de Referencia Nacional para análisis con técnicas de aislamiento viral, serotipificación de dengue por técnicas moleculares, secuenciación para genotipificar las cepas de dengue que circulan en el país, así como el diagnóstico de otros flavovirus que podrían estar co-circulando en las regiones endémicas en el Perú (61).

V.6. El diagnóstico oportuno de dengue a través de la implementación del ELISA NS1 permitió una oportuna implementación de cercos epidemiológicos.

Se evidenció que un diagnóstico oportuno y una buena coordinación con el área de control vectorial generaron la apertura y oportuna intervención de cercos epidemiológicos dentro la provincia, distrito y periferia de Satipo, realizando una buena captación de febriles con el fin disminuir el número de casos en las semanas epidemiológicas siguientes.

La seropositividad tuvo relación directa con el número de cercos epidemiológicos realizados, porque estos últimos se generaron oportunamente. La Coordinación de estos siguió de la siguiente manera: Laboratorio Intermedio realiza el análisis y emite el resultado, en caso de positivos se envía la ficha epidemiológica en formato de jpg al coordinador de control vectorial de red para que a su vez, dependiendo de la ubicación del paciente, si es Distrito Satipo se comunique con Hospital MAHA y si es de la Periferie Satipo se comunique con el EESS de la microred para programar la intervención domiciliaria del paciente, generando un cerco epidemiológico y realizando la vigilancia al estado del paciente y sus familiares, evitando la aparición de nuevos casos adyacentes al lugar, dado que el vector del dengue se encuentra principalmente en las viviendas, por ello se tiene que realizar la vigilancia y control de criaderos intra y peridomiciliar a fin de garantizar que no aumente la seropositividad (61).

Otro punto a favor son las nebulizaciones que la Red de Salud realiza en toda la provincia de Satipo periódicamente que ayuda a la eliminación de criaderos, y el vector, facilitando de tal manera la disminución de casos en la provincia, distrito y periferie de Satipo.

La literatura manifiesta que la disminución de la seropositividad por dengue se da por la oportuna intervención y realización de cercos epidemiológicos en las viviendas de los pacientes (5,8).

VI. CONCLUSIONES

- VI.1. La aplicación de los POEs descritos en este trabajo contribuyeron en una mejor ejecución del diagnóstico de dengue por el método de ELISA NS1, repercutiendo en el número de hospitalizaciones, cercos epidemiológicos y la seropositividad del dengue. Estos servirán de guía tanto para los establecimientos de las microredes así como para el laboratorio intermedio, y como modelo para la realización de un POE para los Laboratorios Referenciales del Perú.
- VI.2. El diagnóstico oportuno ayudo a disminuir los procesos hospitalarios, esto porque el tiempo de emisión se redujo dando como resultado la vigilancia oportuna del paciente, repercutiendo en la disminución de complicaciones por el tipo de dengue (con y sin signos de alarma) o por las comorbilidades que podrían presentar, además de evitar hospitalizaciones innecesarias de pacientes febriles con sintomatología similar a dengue.
- VI.3. Un diagnóstico oportuno ayudo a las visitas domiciliarias e implementación oportuna de los cercos epidemiológicos repercutiendo a nivel de la provincia, distrito y periferie de Satipo en la cantidad de seropositividad NS1, este trabajo se realizó coordinadamente con el área de Control Vectorial.
- VI.4. La implementación del control de calidad en un laboratorio de bajos recursos permitieron la reducción de incidencias respecto a la calidad de la muestra de suero obtenida y la ficha epidemiológica; así como detectar deficiencias pre-analíticas, analíticas y post-analíticas disminuyendo los errores y generando resultados confiables.

VII. RECOMENDACIONES

- VII.1. Este Trabajo de Suficiencia Profesional evidenció que la redacción y aplicación de POEs para diagnóstico de dengue por ELISA NS1 genera resultados óptimos en la salud de la población. Recomendando escalar esto a otras regiones endémicas en dengue.
- VII.2. Dentro de las capacitaciones que brinda el ministerio de salud se debería capacitar respecto al aseguramiento de calidad que no solo va de la parte técnica sino también acompañado con la documentación debida.
- VII.3. Cada establecimiento debe realizar su requerimiento de insumos y materiales para la toma de muestra de sueros para análisis de ELISA dengue.
- VII.4. Coordinar con en Laboratorio Referencial para el requerimiento y abastecimiento de KIT de ELISA NS1.
- VII.5. Realizar distribución adecuada de los insumos y reactivos a los establecimientos más alejados.
- VII.6. Generar una mejor coordinación con los establecimientos de las microredes de Satipo.
- VII.7. Dar el alcance y capacitación de los POEs al personal nuevo de cada establecimiento.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). Vacuna contra el dengue [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 12]. p. 1. Available from: <https://www.cdc.gov/dengue/es/vaccine/index.html>
2. Ruiz LG, Gil DCQ, Gutiérrez MM. Actualización en diagnóstico del dengue: evolución de las técnicas y su aplicación real en la clínica. *Med Lab.* 2020;18(09-10):411–41.
3. Falconi Agapito F. Assessing the antibody responses against dengue virus in the context of emerging arboviruses. From basic immunology to new diagnostics. Universiteit Antwerpen; 2022.
4. Instituto Nacional de Salud. Sistema de la Red Nacional de Laboratorios de Referencia en Salud Pública [Internet]. [cited 2022 Oct 29]. Available from: <https://rlsp.ins.gob.pe/>
5. Ministerio de Salud del Perú. Norma Técnica de Salud para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio de dengue, chikungunya, zika y otras arbovirosis en el Perú [Internet]. 2019. 1-52 p. Available from: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/tools/dengue/RM982-2016-MINSA.pdf>
6. World Health Organization. Launch of the Global Arbovirus Initiative [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 12]. p. 1. Available from: <https://www.who.int/news->

room/events/detail/2022/03/31/default-calendar/global-arbovirus-initiative

7. Ministerio de Salud. Alertas epidemiológicas y documentos normativos [Internet]. [cited 2022 Nov 12]. Available from:
<https://www.dge.gob.pe/portalnuevo/vigilancia-epidemiologica/subsistema-de-vigilancia/dengue/alertas-epidemiologicas-y-documentos-normativos-dengue/>
8. MINSA/DIGESA. Norma Técnica de Salud para la Implementación de la Vigilancia y Control del Aedes Aegypti , Vector del Dengue d la Fiebre de Chikungunya y la Prevencion del Ingreso del Aedes Albopictus. MINSA. 2015;116(1):1–57.
9. Organización Mundial de la Salud (OMS), TDR. Dengue: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. Vol. 1, Organización Mundial de la Salud. La Paz - Bolivia; 2009. 1-170 p.
10. Mata BG, Redondo HS, López GR. Actualización de la fiebre del dengue. Rev Medica Sinerg. 2020;5(1):10.
11. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Dengue OPS/OMS [Internet]. [cited 2022 Oct 10]. Available from:
<https://www.paho.org/es/temas/dengue>
12. Torres EM. Dengue. Estud Avancados. 2008;22(64):33–52.
13. Velandia ML, Castellanos JE. Virus del dengue: estructura y ciclo viral. Infectio. 2011;15(1):33–43.
14. MAGUIÑA VARGAS C, OSORES PLENGE F, SUÁREZ OGNIO L, SOTO ARQUIÑIGO L, PARDO RUIZ K. Dengue clásico y hemorrágico: Una enfermedad

- reemergente y emergente en el Perú. *Rev Medica Hered.* 2013;16(2):120.
15. César C, Fiestas V, García-mendoza M, Palomino M, Mamani E. Dengue en el Perú: A un cuarto de siglo de su reemergencia. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2015;32(2):146–56.
 16. Agüero Vega AB, Ramos Pando W. El conocimiento sobre dengue, características de la vivienda e indicadores entomológicos, están asociados a casos de dengue en los distritos de Luyando y Rupa Rupa - provincia de Leoncio Prado - departamento de Huánuco; desde enero a noviembre durante el [Internet]. Repositorio Universidad Nacional Hermilio Valdizán Medrano. 2018. Available from: http://forschungsunion.de/pdf/industrie_4_0_umsetzungsempfehlungen.pdf http://www.dfki.de/fileadmin/user_upload/import/9744_171012-KI-Gipfelpapier-online.pdf <https://www.bitkom.org/sites/default/files/pdf/Presse/Anhaenge-an-PIs/2018/180607-Bitkom>
 17. Guzman MG, Gubler DJ, Izquierdo A, Martinez E, Halstead SB. Dengue infection. *Nat Rev Dis Prim.* 2016;2:1–26.
 18. Ooi EE, Gubler DJ. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Trop Infect Dis Princ Pathog Pract.* 2011;11(3):504–10.
 19. Nanaware N, Banerjee A, Bagchi SM, Bagchi P, Mukherjee A. Dengue virus infection: A tale of viral exploitations and host responses. *Viruses.* 2021;13(10).
 20. Kanai R, Kar K, Anthony K, Gould LH, Ledizet M, Fikrig E, et al. Crystal Structure of West Nile Virus Envelope Glycoprotein Reveals Viral Surface Epitopes. *J Virol.* 2006;80(22):11000–8.

21. Glasner DR, Puerta-Guardo H, Beatty PR, Harris E. The good, the bad, and the shocking: The multiple roles of dengue virus nonstructural protein 1 in protection and pathogenesis. *Annu Rev Virol.* 2018;5(1):227–53.
22. Chen HR, Lai YC, Yeh TM. Dengue virus non-structural protein 1: A pathogenic factor, therapeutic target, and vaccine candidate. *J Biomed Sci.* 2018;25(1):1–11.
23. Luis Edmundo MC. Caracterización clínico-epidemiológica del dengue en adolescentes. Tena, 2019-2020. Universidad Nacional de Chimborazo. Universidad Nacional de Chimborazo; 2020.
24. Organización Panamericana de la Salud. Guías para la atención de enfermos en la región de las Américas. 2nd ed. Vol. dos, Catalogación en la Fuente, Biblioteca Sede de la OPS. Washington, D. C.; 2015. 126 p.
25. Centro para el control y la prevención de enfermedades. Cuadro clínico | Dengue [Internet]. CDC. 2019 [cited 2022 Oct 16]. p. 1. Available from: <https://www.cdc.gov/dengue/es/healthcare-providers/clinical-presentation.html>
26. Chaves Lencinas CA. Características clínicas y laboratoriales del shock en pacientes que desarrollaron dengue grave , atendidos en el Hospital de Apoyo Iquitos , durante el brote , en los meses de enero a febrero del 2011. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2011.
27. Rosero HM, García RM, Ospina JJ, Castaño PA. Fiebre por dengue: guías de manejo. *Rev Médica Risaralda.* 2010;16(1).
28. Labrin B. Conocimientos y prácticas sobre medidas preventivas de dengue en moradores del Barrio El Obrero . Sullana 2017. Universidad San Pedro; 2018.

29. George Carrión W, Bell Castillo J, García Céspedes ME, Geoge Bell M de J. Aspectos clínico-epidemiológicos en pacientes con dengue y signos de alarma. *Medisan*. 2018;22(7):540.
30. Garcia Mendoza MP. Curso de Fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica de dengue y otras arbovirosis en Lima metropolitana y Callao [Internet]. Ministerio de Salud de Perú. 2021 [cited 2022 Oct 17]. p. 1–27. Available from: <https://www.dge.gob.pe/portalnuevo/wp-content/uploads/2021/05/DIAGNOSTICO-DENGUE-2021.pdf>
31. Centro de Control y la Prevención de Enfermedades, Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas Zoonóticas y Emergentes. Guía para la realización de pruebas | Dengue [Internet]. CDC. 2019 [cited 2022 Oct 17]. p. 1. Available from: <https://www.cdc.gov/dengue/es/healthcare-providers/testing/testing-guidance.html>
32. BIO-RAD. Platelia™ Dengue Ns1 Ag 96 Ensayos [Internet]. 1st ed. Francia; 2008. 1-18 p. Available from: https://commerce.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/es/72830_881040_ES.pdf
33. Young PR, Hilditch PA, Bletchly C, Halloran W. An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol*. 2000;38(3):1053–7.
34. Dussart P, Petit L, Labeau B, Bremand L, Leduc A, Moua D, et al. Evaluation of two new commercial tests for the diagnosis of acute dengue virus infection using NS1 antigen detection in human serum. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(8).
35. P. Pinheiro F. El dengue en las Américas. 1980-1987. *Organ Panam la Salud*.

1989;10(1):1–2.

36. Organización Panamericana de la Salud. Actualización epidemiológica anual para dengue , chikunguña y zika en 2022. 2022.
37. Ministerio de Salud del Peru (MINSA). Alerta epidemiológica. Riesgo de ocurrencia de brotes de dengue en Lima y Callao. El Peru Comercio. 2021;
38. Mamani E, Garcia P. Informes especiales. Serotipos del virus del dengue circulantes en el Perú. Bol - Inst Nac Salud. 2009;15(3–4):62–3.
39. Mamani E, Álvarez C, García MM, Figueroa D, Gatti M, Guio H, et al. Circulación de un linaje diferente del virus dengue 2 genotipo America/Asia en la región Amazónica de Perú, 2010. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2011;28(1):72–9.
40. Figueroa Romero D. Distribución de serotipos y genotipos de dengue en el Perú 2016 -2020. Lima; 2020.
41. Ministerio de Salud. Sala situacional de Dengue [Internet]. MINSA. 2022 [cited 2022 Oct 16]. Available from: <https://www.dge.gob.pe/sala-situacional-dengue/#grafico01>
42. Minsa/CENARES. Especificaciones técnicas para el kit de dengue ELISA ANTI NS1, en el mercado internacional. Lima; 2020. p. 3.
43. Guzmán MG, Pelegrino JL, Pumariega T, Vázquez S, González L, Kourí G, et al. Control externo de la calidad del diagnóstico serológico del dengue en laboratorios de países de las Américas, 1996–2001. Rev Panam Salud Publica. 2003;14(6):371–6.
44. Reyes Puma N, Zurita Macalupu S, Luna Florez A, Bardalez Sanchez C, Bazan

- Sanchez V. Organización y funciones de la Red de Laboratorios. Vol. 1, Ministerio de Salud. Lima; 2000. 1-18 p.
45. Sanders ER. Aseptic laboratory techniques: Volume transfers with serological pipettes and micropipettors. *J Vis Exp*. 2012;(63):1–12.
 46. Ministerio de Salud. Manual de buenas practicas de almacenamiento de productos farmaceuticos y afines. Lima; 1999. 1-14 p.
 47. Simundic A-M, Bolenius K, Cadamuro J, Church S, Cornes MP, Van Dongen-Lases EC, et al. Recomendaciones conjuntas de la EFLM-COLABIOCLI para la extracción de muestras de sangre venosa. *Eur Fed Clin Chem Lab Med*. 2018;56(12):2015–38.
 48. OMS. POE 05B - Obtención de muestras de sangre por venopunción y preparación de extensiones de sangre a partir de sangre venosa recolectada en tubos con anticoagulante. *Organ Mund la Salud*. 2016;1:1–5.
 49. Zurita S. Procedimientos de Laboratorio. Instituto. Instituto Nacional de Salud. Lima; 2013. 254 p.
 50. Manual MSD versión para profesionales. Cómo hacer una muestra de sangre venosa [Internet]. MSD. [cited 2022 Dec 27]. Available from: <https://www.msmanuals.com/es-pe/professional/cuidados-críticos/cómo-hacer-procedimientos-vasculares-periféricos/cómo-hacer-una-muestra-de-sangre-venosa>
 51. Ministerio de Salud del Peru. Norma Técnica: Procedimiento para el manejo de residuos sólidos hospitalarios. Lima; 2004. 1-59 p.
 52. Organización Mundial de la Salud. Guía sobre la reglamentación relativa al

transporte de sustancias infecciosas 2019-202. Vol. 1, WHO/WHE/CPI/2019.20.

Ginebra; 2019. 1-60 p.

53. Ministerio de Salud del Peru (MINSA). Reglamento de organización y funciones de la dirección de red de salud satipo. Junin: Diresa Junin; 2013. p. 74.
54. Mercedes R, María DL, Luis H, Irma R, Martha O, Guillermo P. Normas de bioseguridad y manejo de muestras biológicas, material, equipo y procedimientos. In: Manual de prácticas de laboratorio de bioquímica [Internet]. 3rd ed. 2014 [cited 2022 Dec 27]. Available from:
<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=100109634&bookid=1496>
55. OMS. Introduction to quality. In: Laboratory Quality Management System Handbook. Francia; 2011. p. 10–8.
56. OMS. Standard operating procedures (SOPs). In: Laboratory Quality Management System. Francia; 2011. p. 187–9.
57. San Miguel Hernández A, de la Fuente Alonso P, Garrote Adrados JA, Lobo Valentin R, Lurueña ML, Eiros Bouza JM. Minimización de errores preanalíticos y su repercusión en el control del laboratorio clínico. Rev del Lab Clínico [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2022 Dec 21];11(1):51–8. Available from:
<https://www.elsevier.es/es-revista-revista-del-laboratorio-clinico-282-articulo-minimizacion-errores-preanaliticos-su-repercusion-S1888400817300314>
58. Arkin C, Bessman JD, Calam R, Ernst D, Parish G, Szamosi D, et al. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture. Clin Lab Stand Inst.

2017;23(32):86.

59. Kamlage B, Neuber S, Bethan B, Maldonado SG, Wagner-Golbs A, Peter E, et al. Impact of prolonged blood incubation and extended serum storage at room temperature on the human serum metabolome. *Metabolites*. 2018;8(1).
60. Rodríguez-Benavides G, Blanco-Sáenz R. Aseguramiento de la calidad analítica y norma ISO 17 025 en laboratorios clínicos y químicos. *Rev Costarric Cienc Med*. 2001;22(1-2):83-97.
61. Organización Panamericana de Salud. Estrategia de Gestión Integrada para la prevención y control del dengue en la Región de las Américas. OPS. Washington, D. C.; 2017. 2-53 p.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Flujograma del Procedimiento Operativo Estándar para los establecimientos de salud de Satipo sobre la recolección, conservación y envío de muestras de suero al Laboratorio Intermedio.

FLUJOGRAMA DE RECOLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE MUESTRA



ESTABLECIMIENTO DE SALUD

CAPTACIÓN DE FEBRILES
 Ficha Epidemiológica bien rellena

EMERGEN
 Solicitud de emergencia al Laboratorio Regularizar la Ficha Epidemiológica

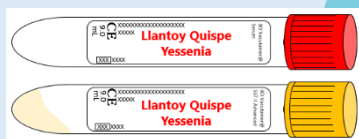
TOMA DE MUESTRA

- NORMAS DE**
- Lavado de manos
 - Emplear el EPP
 - Colocar los residuos en bolsas rojas
 - Evitar contaminar muestras

MÉTODO DE

Sistema Extracción al

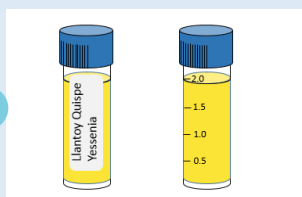
Sistema Aguja



En la desafortunada circunstancia de fracasar en el primer intento de punción de la vía venosa:
 Evitar mover la aguja bruscamente.
 Se recomienda avanzar o retroceder la aguja con cuidado.
 Si el resultado continúa siendo negativo, retirar la aguja y volver a intentarlo con otra aguja, en otra vena.
 Tras dos intentos fallidos, recurrir a un compañero con mayor experiencia.

SEPARACIÓN DE SUERO

- Dejar que los tubos se coagulen durante 5 a 10 minutos (a temperatura ambiente) y luego colocar en la centrífuga para la separación de los componentes sanguíneos durante 5 minutos a 3500 rpm.
- Rotular con marcador indeleble el criovial con los datos de Apellidos y nombres, edad y fecha de obtención de muestra.
- Extraer el tubo de la centrífuga y separar el suero en el criovial. El volumen de suero debe ser de 2mL.



No hemolizada
 No lipémico
 No menor a 2mL

CONSERVACIÓN DE MUESTRA



- Verificar el funcionamiento correcto del refrigerador (encendido o apagado).
- Control y registro diario de la temperatura mediante la "Hoja de Control y Registro de temperatura de refrigeración".
- Poner los crioviales, si lo requiere, esto para prevenir derrames.
- Poner los crioviales en el portavial designado para su análisis.
- Colocar el portavial en la zona de congelación de la refrigeradora.
- Archivar las fichas epidemiológicas o solicitudes de cada muestra.

Envío transporte particular ENVÍO DE MUESTRA Envío con ambulancia

- Adjuntar Ficha Epidemiológica
- Enviar la muestra en cadena de frío
- Conservar a temperatura de 2°C – 8°C
- Llevar cuaderno de recepción

CONDICIONES DE



Anexo 2. Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis.



Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de dengue, chikungunya, zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis

CIE 10: dengue sin signos (A97.0) dengue con signos de alarma(A97.1) dengue grave(A97.2) Chikungunya(A92.0) Chikungunya Grave(A92.1) Zika (U98.3), ver otras especificaciones de Zika en Directiva

I. SUBSISTEMA DE VIGILANCIA (elegir la vigilancia que corresponde)

- a. Definición de casos * (casos que cumplen criterio clínico y epidemiológico)
- b. Vigilancia centinela** (Solo para EESS centinela)
- c. Vigilancia de febriles*** (Toma de muestras frente al incremento de febriles en EESS)

II. DATOS GENERALES:

1. Fecha de investigación:

Día	Mes	Año

2. GERESAD/RESADISA: 3. Red: 4.EESS notificante:

5. Institución de salud: MNSA EsSalud Sanidad PNP Sanidad FA Privados Otro

III. DATOS DEL PACIENTE

6. H.Clinica N°: 7. Teléfono/Celular del paciente: 8. Fecha de Nacimiento:

9. Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombres:

10. DNI/Pasaporte: 11. Edad (años): 12. Género: M F 13. Ocupación:

14. Departamento: 15. Provincia: 16. Distrito: 17. Localidad (AH, Urb, Resid, etc): 18. Dirección:

19. Gestante: Si No 20. Edad gestacional: Semanas

IV. ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS (DATO DE IMPORTANCIA PARA ESTABLECER LUGAR DE INFECCIÓN)

21. ¿Dónde estubo en las últimas dos semanas (14 días) antes de enfermar?

País	Departamento	Provincia	Distrito	Localidad	Dirección	1. Fecha de permanencia
						Desde: / / hasta: / /
						Desde: / / hasta: / /

22. País: 23. Departamento: 24. Provincia: 25. Distrito: 26. Localidad: 27. Dirección:

28. Caso autóctono: Si No 29. Caso importado Nacional:

30. Caso importado Internacional:

31. Tuvo dengue anteriormente: Si No 32. Año:

33. Recibió vacuna anti-malaria: Si No 34. Año de vacunación:

35. Tiene comorbilidad: Si No 36. Cual:

V. DATOS CLÍNICOS

37. Fecha de inicio de síntomas:

Día	Mes	Año

 38. Fecha de toma primera muestra:

Día	Mes	Año

39. Fecha de toma segunda muestra:

Día	Mes	Año

40. Signos y síntomas observados:

<p>Fiebre 1°C: <input type="checkbox"/></p> <p>Artralgias:</p> <p>a. Manos: <input type="checkbox"/></p> <p>b. Pies: <input type="checkbox"/></p> <p>Mialgias: <input type="checkbox"/></p> <p>Cefalea: <input type="checkbox"/></p> <p>Dolor ocular o retroocular: <input type="checkbox"/></p> <p>Dolor lumbar: <input type="checkbox"/></p> <p>Rash: <input type="checkbox"/></p> <p>Conjuntivitis no purulenta (rojo ojo): <input type="checkbox"/></p> <p>Náuseas/vómitos: <input type="checkbox"/></p> <p>Otros: <input type="checkbox"/></p>	<p>Signos de alarma</p> <p>Dolor abdominal intenso y continuo</p> <p>Dolor torácico o disnea</p> <p>Derame seroso al examen clínico y/o por estudio de imágenes (ascitis o derrame pleural o pericárdico)</p> <p>Vómitos persistentes</p> <p>Disminución brusca de la Tª o hipotermia</p> <p>Disminución de la diuresis (disminución del volumen urinario)</p> <p>Hepatomegalia</p> <p>Ictericia</p> <p>Estado mental alterado (sometencia, inquietud, inestabilidad o convulsión)</p> <p>Incremento del hematocrito</p>	<p>Signos de gravedad</p> <p>Pulso débil e indetectable</p> <p>Extremidades frías o cianóticas</p> <p>Diferencial de Presión Arterial < 20 mmHg</p> <p>Compromiso grave de órganos</p> <p>Especifique: <input type="text"/></p> <p>Sangrado grave</p> <p>Especifique: <input type="text"/></p> <p>Escala de Glasgow</p> <p>Apertura ocular: (1-4) <input type="checkbox"/></p> <p>Respuesta motora: (1-4) <input type="checkbox"/></p> <p>Respuesta verbal: (1-5) <input type="checkbox"/></p>
---	---	--

VI. EXAMENES DE LABORATORIO

LEEN POR EL LABORATORIO REFERENCIAL

41. Prueba solicitada	42. Resultado		43. Fecha de resultado
	42. Positivo	43. Negativo	
a. ELISA NS1-Dengue	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
c. Aislamiento viral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
b. qRT-PCR Suero	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
f. qRT-PCR Orina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
d. ELISA IgM (1era muestra)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
e. ELISA IgM (2da muestra)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
g. Otros: <input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
h. Muestra de tejido para inmunohistoquímica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>

VII. EVOLUCIÓN DE CASOS GRAVES Y EGRESO (SOLO PARA CASOS HOSPITALIZADOS)

45. Hospitalizado: Si No 46. Fecha hospitalización:

47. Falleció: 48. Fecha defunción:

49. Fue referido: 49. Fecha referencia:

51. Hospital CS:

VIII. CLASIFICACIÓN

<p>52. Dengue sin signos de alarma: <input type="checkbox"/></p> <p>53. Dengue con signos de alarma: <input type="checkbox"/></p> <p>54. Dengue grave: <input type="checkbox"/></p> <p>55. Chikungunya: <input type="checkbox"/></p> <p>56. Chikungunya grave: <input type="checkbox"/></p> <p>58. Otras arbovirosis: <input type="checkbox"/></p>	<p>57. Zika: Sospechoso <input type="checkbox"/> Confirmado <input type="checkbox"/> Descartado <input type="checkbox"/></p> <p>59. Fiebre amarilla: Síndrome febril Probable <input type="checkbox"/> Confirmado <input type="checkbox"/> Descartado <input type="checkbox"/></p>
--	--

IX. OBSERVACIONES

X. INVESTIGADOR

Nombre de la persona responsable:

Cargo:

Celular:

Firma y Sello:

Anexo 3. Instructivo del correcto relleno de la Ficha de investigación clínico-epidemiológica para la vigilancia de dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y otras arbovirosis.

INSTRUCTIVO DEL ANEXO N° 1

El llenado de la ficha es el inicio de la investigación epidemiológica de cada paciente, por ello es indispensable el adecuado llenado de la totalidad de los ítems según corresponda, recuerde que esta ficha servirá para orientar la investigación de más casos.

I. DATOS GENERALES: Registrar si corresponde a:

I Subsistema de vigilancia al que pertenece:

- a) **Definición de caso:** Marcar con un aspa si el caso cumple con la definición epidemiológica y clínica de la enfermedad Dengue, Chikungunya, Zika, Fiebre Amarilla y otras arbovirosis ver ítems 6.1.33 – 6.1.48 en normativa y ver directiva vigente de fiebre amarilla. La definición de casos de otras arbovirosis como Mayaro y Oropuche serán definidas por el CDC al identificarse el primer caso confirmado.
- b) **Vigilancia centinela:** Marcar con un aspa si el caso corresponde a la notificación de la vigilancia centinela (solo se restringe a los establecimientos centinelas seleccionados).
- c) **Vigilancia de Febriles:** Marcar con un aspa si corresponde a la toma de muestras frente al incremento de febriles en EESS. Ver ítems 7,3

- (1) **Fecha de investigación:** Indicar la fecha de investigación
(2/3/4) **Dirección de Salud (GERESA/DIRESA/DISA) /RED/EESS** notificante:
Consignar datos del EESS notificante
(5) **Institución de salud:** Consignar el tipo de institución que pertenece el EESS notificante pertenece.

II. DATOS DEL PACIENTE:

- (6) **Historia Clínica:** Del paciente
(7) **Teléfono/celular:** Del paciente o de familiar cercano.
(8) **Fecha de nacimiento:** Del paciente
(9) **Nombre del paciente:** Del paciente
(10/11/12/13) **DNI/Edad/Género/Ocupación:** Del paciente
(14/15/16/17/18) **Departamento/Provincia/Distrito/Localidad/Dirección:** Consignar datos del lugar donde vive actualmente el paciente.
(19/20) **Gestante/ semana de gestación:** consignar si el caso es gestante o no; si es gestante colocar la semana de gestación.

V. EXÁMANES DE LABORATORIO:

El responsable del llenado será el Laboratorio Referencial o quien haga sus veces.

- (41) **Prueba solicitada:** Consignar el tipo de prueba a realizar
(42/43) **Resultado:** Consignar si el resultado de laboratorio fue positivo o negativo
(44) **Fecha del resultado:** consignar la fecha del resultado

VI. EVOLUCIÓN DE CASOS GRAVES Y EGRESOS:

Solo llenar las casillas si el paciente esta hospitalizado o estuvo hospitalizado.

- (45) **Hospitalizado / (46) Fecha de hospitalización** Consignar con un aspa si el paciente esta hospitalizado en la actualidad. Llenar la casilla N° 46 con la fecha de hospitalización.
(47) **Falleció/ (48) Fecha de difusión:** Consignar con un aspa si el paciente falleció y la fecha de defunción en la casilla N° 48
(49) **Fue referido / (50) Fecha de referencia:** Consignar con un aspa si el paciente fue referido y la fecha de referencia en la casilla N° 50
(51) **Hospital o Centro de Salud:** Consignar el nombre del establecimiento de salud donde está o estuvo hospitalizado, o el establecimiento donde fallece. Si el caso fue referido escribir también el nombre del EESS a donde fue referido el paciente.

VII. CLASIFICACIÓN FINAL: (52/53/54/55/56/57/58/59)

Considerando la definición de caso descrita en la presente normativa, marcar con un aspa el diagnóstico presuntivo, "se podrá marcar más de una enfermedad siempre y cuando cumpla con los criterios epidemiológicos y clínicos".

IX. OBSEVACIONES: Escribir datos relevantes de la investigación del caso

X. INVESTIGADORES: Escribir el nombre del personal de salud que llena la ficha clínico epidemiológico, el cargo y el número celular.

"Recuerde que la ficha deberá ser visada por el epidemiólogo (a) del EESS o quien haga de sus veces antes de enviar la muestra al Laboratorio Referencial y con el fin de garantizar la notificación solo la copia de la ficha deberá ser enviada al laboratorio Referencial"

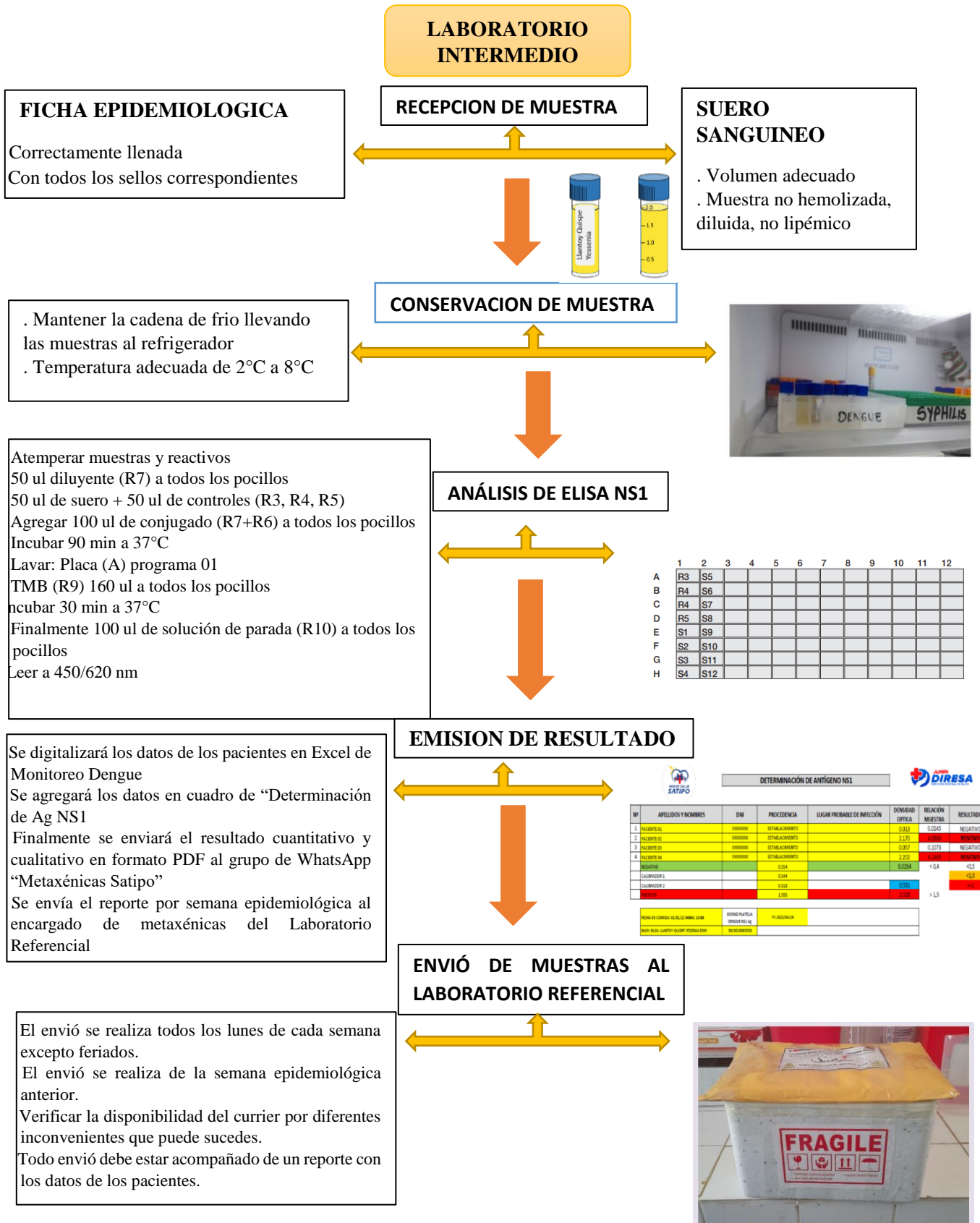
III. ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS:

- (21) **¿Dónde estuvo en las últimas dos semanas (14 días) antes de enfermarse?:** consignar si el paciente viajó o no viajó a algún lugar los últimos 14 días. (tómese el tiempo necesario para recabar la información).
(22/23/24/25/26/27) **País/Departamento/Provincia/Distrito/Localidad/Dirección:** consignar datos del lugar donde estuvo los últimos 14 días (datos de interés para determinar si el caso es autóctono o importado).
- (27.1) **Fecha de permanencia:** Indicar la fecha de ida y de retorno al lugar donde estuvo los últimos 14 días (datos de interés para determinar si el caso es autóctono o importado).
- (28) **Caso autóctono:** Marcar con un aspa "SI", cuando el lugar probable de infección del caso corresponde a la misma jurisdicción del EESS donde se atiende el caso y donde se ha comprobado que existe transmisión de la enfermedad y presencia del vector.
- (29) **Caso importado nacional:** Marcar con un aspa "SI", cuando el lugar probable de infección es diferente a la jurisdicción del EESS donde se atiende el caso, pero corresponde a un lugar probable de infección dentro del territorio peruano.
- (30) **Caso importado nacional:** Marcar con un aspa "SI", cuando el lugar probable de infección corresponde a otro país.
- (31/32) **Tuvo dengue/ Año:** consignar con un aspa si tuvo dengue o no, si tuvo dengue llenar en la casilla N° 32 el año.
- (33/34) **Recibió vacuna anti amarilla /Año:** consignar con un aspa si recibió vacuna anti amarilla o no, si recibió llenar la casilla N° 34 el año.
- (35/36) **Tiene comorbilidad/ Cuid:** consignar con un aspa si el paciente tiene comorbilidad o no, si tuviera alguna comorbilidad llenar la casilla N° 36 con la enfermedad.

IV. DATOS CLÍNICOS:



- (37) **Fecha de inicio de síntomas:** Indicar la fecha de inicio de síntomas del paciente.
(38) **Fecha de toma de primera muestra:** Indicar la fecha de toma de la primera muestra
(39) **Fecha de toma de segunda muestra:** Indicar la fecha de toman de la segunda muestra
(40) **Signos y Síntomas Frecuentes:** Consignar los síntomas que presenta el paciente en la actualidad o de acuerdo a la definición clínica de la enfermedad.

FLUJOGRAMA DE RECEPCION, CONSERVACION, ANALISIS, EMISION DE RESULTADO Y ENVIO DE MUESTRA AL LABORATORIO REFERENCIAL



Anexo 6. Reporte de resultado de control de calidad interna del personal A, previa capacitación.

PERSONAL "A"

	FORMULARIO DE CONTROL DE CALIDAD INTERNA DEL ENSAYO ELISA NS1 REPORTE DE RESULTADOS - LIRSS	
---	--	---


FECHA DE PROCESAMIENTO: 01/09/2021

MARCA : BIORAD Platelia Dengue NS1 Ag


LOTE : 1A0063

FECHA DE VENCIMIENTO: 2022.06.12


CODIGO DE MUESTRA	DENSIDAD OPTICA	RELACION MUESTRA	RESULTADO
01NS12021	0.01	0.0393	NEGATIVO
02NS12021	4.523	17.7721	POSITIVO
03NS12021	2.211	8.6876	POSITIVO
04NS12021	0.012	0.0472	NEGATIVO
05NS12021	4.602	18.0825	POSITIVO
06NS12021	3.159	12.4126	POSITIVO
07NS12021	4.489	17.6385	POSITIVO
08NS12021	0.104	0.4086	NEGATIVO
09NS12021	0.472	1.8546	POSITIVO
10NS12021	0.020	0.0786	NEGATIVO
11NS12021	0.010	0.0393	NEGATIVO
12NS12021	0.040	0.1572	NEGATIVO
13NS12021	0.000	0.0000	NEGATIVO
14NS12021	2.260	8.8802	POSITIVO
15NS12021	4.436	17.4303	POSITIVO
16NS12021	3.790	14.8919	POSITIVO
17NS12021	4.100	16.1100	POSITIVO
18NS12021	2.709	10.6444	POSITIVO
19NS12021	0.014	0.0550	NEGATIVO
20NS12021	0.019	0.0747	NEGATIVO
21NS12021	0.009	0.0354	NEGATIVO
22NS12021	2.145	8.4283	POSITIVO
23NS12021	4.578	17.9882	POSITIVO
24NS12021	4.678	18.3811	POSITIVO
25NS12021	0.000	0.0000	NEGATIVO
NEGATIVO	0.012	0.0472	< 0,4
			< 0,5
CALIBRADOR 1	0.230		< 1,0
CALIBRADOR 2	0.279	0.255	
POSITIVO	0.925	3.635	



FIRMA DEL RESPONSABLE DE
EJECUCIÓN DE ELISA





FIRMA DEL JEFE DE LABORATORIO
PARTICIPANTE



Anexo 7. Reporte de resultado de control de calidad interna del personal B, previa capacitación.

PERSONAL "B"

	FORMULARIO DE CONTROL DE CALIDAD INTERNA DEL ENSAYO ELISA NS1 REPORTE DE RESULTADOS - LIRSS	
---	--	---

FECHA DE PROCESAMIENTO: 01/09/2021

MARCA : BIORAD Platelia Dengue NS1 Ag

LOTE : 1A0063

FECHA DE VENCIMIENTO: 2022.06.12


CODIGO DE MUESTRA	DENSIDAD OPTICA	RELACIÓN MUESTRA	RESULTADO
01NS12021	0.012	0.1057	NEGATIVO
02NS12021	3.54	31.1894	POSITIVO
03NS12021	4.647	40.9427	POSITIVO
04NS12021	0.066	0.5815	INDETERMINADO
05NS12021	3.395	29.9119	POSITIVO
06NS12021	4.542	40.0176	POSITIVO
07NS12021	4.616	40.6696	POSITIVO
08NS12021	0.133	1.1718	POSITIVO
09NS12021	0.492	4.3348	POSITIVO
10NS12021	0.014	0.1233	NEGATIVO
11NS12021	0.000	0.0000	NEGATIVO
12NS12021	0.022	0.1938	NEGATIVO
13NS12021	2.813	24.7841	POSITIVO
14NS12021	2.002	17.6388	POSITIVO
15NS12021	4.647	40.9427	POSITIVO
16NS12021	-0.001	-0.0088	NEGATIVO
17NS12021	4.601	40.5374	POSITIVO
18NS12021	4.604	40.5639	POSITIVO
19NS12021	0.014	0.1233	NEGATIVO
20NS12021	0.016	0.1410	NEGATIVO
21NS12021	0.022	0.1938	NEGATIVO
22NS12021	2.813	24.7841	POSITIVO
23NS12021	4.639	40.8722	POSITIVO
24NS12021	4.729	41.6652	POSITIVO
25NS12021	0.007	0.0617	NEGATIVO
NEGATIVO	0.112	0.9868	< 0,4
CALIBRADOR 1	0.115		< 1,0
CALIBRADOR 2	0.112	0.114	> 1,5
POSITIVO	0.824	7.260	



Leiva Vega Katia
 Bióloga
 FIRMA DEL RESPONSABLE DE
 EJECUCIÓN DE ELISA


Vicente Espilco
 FIRMA DEL JEFE DE LABORATORIO
 PARTICIPANTE

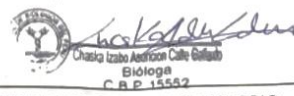
Anexo 8. Reporte de resultado de control de calidad interna del personal A, después de la capacitación.

PERSONAL "A"

	FORMULARIO DE CONTROL DE CALIDAD INTERNA DEL ENSAYO ELISA NS1 REPORTE DE RESULTADOS - LIRSS		
FECHA DE PROCESAMIENTO: 01/12/2022 MARCA : BIORAD Platelia Dengue NS1 Ag LOTE : 1H0065 FECHA DE VENCIMIENTO: 2022.11.23			
CODIGO DE MUESTRA	DENSIDAD OPTICA	RELACIÓN MUESTRA	RESULTADO
01NS12021	4.551	15.4796	POSITIVO
02NS12021	4.464	15.1837	POSITIVO
03NS12021	0.009	0.0306	NEGATIVO
04NS12021	4.465	15.1871	POSITIVO
05NS12021	4.445	15.1190	POSITIVO
06NS12021	0.408	1.3878	POSITIVO
07NS12021	0.024	0.0816	NEGATIVO
08NS12021	4.419	15.0306	POSITIVO
09NS12021	0.049	0.1667	NEGATIVO
10NS12021	0.036	0.1224	NEGATIVO
11NS12021	4.575	15.5612	POSITIVO
12NS12021	4.467	15.1939	POSITIVO
13NS12021	4.475	15.2211	POSITIVO
14NS12021	0.030	0.1020	NEGATIVO
15NS12021	4.484	15.2517	POSITIVO
16NS12021	4.323	14.7041	POSITIVO
17NS12021	4.427	15.0578	POSITIVO
18NS12021	4.504	15.3197	POSITIVO
19NS12021	0.016	0.0544	NEGATIVO
20NS12021	0.023	0.0782	NEGATIVO
21NS12021	0.009	0.0306	NEGATIVO
22NS12021	4.499	15.3027	POSITIVO
23NS12021	4.584	15.5918	POSITIVO
24NS12021	2.282	7.7619	POSITIVO
25NS12021	0.038	0.1293	NEGATIVO
26NS12021	0.323	1.0986	POSITIVO
27NS12021	4.549	15.4728	POSITIVO
28NS12021	0.022	0.0748	NEGATIVO
29NS12021	0.014	0.0476	NEGATIVO
30NS12021	3.567	12.1327	POSITIVO
31NS12021	4.562	15.5170	POSITIVO
32NS12021	0.041	0.1395	NEGATIVO
33NS12021	2.062	7.0136	POSITIVO
34NS12021	4.424	15.0476	POSITIVO
35NS12021	0.017	0.0578	NEGATIVO
36NS12021	2.570	8.7415	POSITIVO
NEGATIVO	0.008	0.0272	< 0,4
CALIBRADOR 1	0.299		< 1,0
CALIBRADOR 2	0.289	0.294	>= 1
POSITIVO	1.340	4.558	> 1,5





FIRMA DEL RESPONSABLE DE
EJECUCIÓN DE ELISA



FIRMA DEL JEFE DE LABORATORIO
PARTICIPANTE

Anexo 9. Reporte de resultado de control de calidad interna del personal B, después de la capacitación.

PERSONAL "B"

	FORMULARIO DE CONTROL DE CALIDAD INTERNA DEL ENSAYO ELISA NS1 REPORTE DE RESULTADOS - LIRSS	

FECHA DE PROCESAMIENTO: 01/12/2022
 MARCA : BIORAD Platelia Dengue NS1 Ag
 LOTE : 1H0065
 FECHA DE VENCIMIENTO: 2022.11.23

CODIGO DE MUESTRA	DENSIDAD OPTICA	RELACION MUESTRA	RESULTADO
01NS12021	4.542	15.5282	POSITIVO
02NS12021	4.452	15.2205	POSITIVO
03NS12021	0.011	0.0376	NEGATIVO
04NS12021	4.459	15.2444	POSITIVO
05NS12021	4.433	15.1556	POSITIVO
06NS12021	0.412	1.4085	POSITIVO
07NS12021	0.029	0.0991	NEGATIVO
08NS12021	4.416	15.0974	POSITIVO
09NS12021	0.053	0.1812	NEGATIVO
10NS12021	0.036	0.1231	NEGATIVO
11NS12021	4.567	15.6137	POSITIVO
12NS12021	4.457	15.2376	POSITIVO
13NS12021	4.465	15.2650	POSITIVO
14NS12021	0.031	0.1060	NEGATIVO
15NS12021	4.479	15.3128	POSITIVO
16NS12021	4.325	14.7863	POSITIVO
17NS12021	4.417	15.1009	POSITIVO
18NS12021	4.498	15.3778	POSITIVO
19NS12021	0.018	0.0615	NEGATIVO
20NS12021	0.029	0.0991	NEGATIVO
21NS12021	0.011	0.0376	NEGATIVO
22NS12021	4.497	15.3744	POSITIVO
23NS12021	4.576	15.6444	POSITIVO
24NS12021	1.998	6.8308	POSITIVO
25NS12021	0.040	0.1368	NEGATIVO
26NS12021	0.322	1.1009	POSITIVO
27NS12021	4.543	15.5316	POSITIVO
28NS12021	0.024	0.0821	NEGATIVO
29NS12021	0.022	0.0752	NEGATIVO
30NS12021	2.361	8.0718	POSITIVO
31NS12021	4.561	15.5932	POSITIVO
32NS12021	0.046	0.1573	NEGATIVO
33NS12021	2.073	7.0872	POSITIVO
34NS12021	4.427	15.1350	POSITIVO
35NS12021	0.017	0.0581	NEGATIVO
36NS12021	2.815	9.6239	POSITIVO
NEGATIVO	0.012	0.0410	< 0,4
CALIBRADOR 1	0.298		<0,5
CALIBRADOR 2	0.287	0.293	<1,0
POSITIVO	1.310	4.479	>=1


Katya Vega Katia
 Bióloga
 FIRMA DEL RESPONSABLE DE
 EJECUCIÓN DE ELISA
 C.R.P. 18361


Chaska Izabo Atuncon Calle Galileo
 Bióloga
 C.R.P. 15552
 FIRMA DEL JEFE DE LABORATORIO
 PARTICIPANTE