

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua  
Instituto Politécnico de la Salud  
“Dr. Luis Felipe Moncada”  
Departamento de Bioanálisis Clínico y Microbiología**



**Monografía para optar al título de Licenciatura en Microbiología**

**EVALUACIÓN DE LA UTILIDAD DE LOS PANELES DE PROFICIENCIA  
UTILIZANDO MUESTRA SECA EN TUBO (MST) EN LAS PRUEBAS RAPIDAS DE  
VIH DE LOS CENTROS DE SALUD Y HOSPITALES DEL SILAIS MANAGUA EN EL  
PERIODO OCTUBRE 2013 A ENERO 2016.**

**Autores:**

- ◆ **Br(a). Oscarlett Inmaculada Ampié González.**
- ◆ **Br. Godofredo Sobalvarro Ayestas**
- ◆ **Br. Yader José Jarquín Dávila.**

**Tutor/Asesor  
Msc. Felipe Agustín Torres Meneses**

**Managua, Nicaragua Mayo del 2016**



# Índice

SIGLAS Y ABREVIATURAS

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

INTRODUCCION .....	1
ANTECEDENTES.....	3
JUSTIFICACION .....	6
HIPOTESIS.....	7
OBJETIVOS .....	8
Marco Teórico.....	9
VIH.....	9
Generalidades .....	9
Estructura .....	10
Métodos diagnósticos:.....	10
Directos .....	11
Indirectos.....	11
Definición de Paneles de Proficiencia.....	12
Objetivo de los paneles de Proficiencia. ....	12
Características. ....	12
Clasificación de los paneles para el control externo de la calidad .....	12
Paneles de competencia.....	12
Paneles de Proficiencia.....	13
Etapas de elaboración de los paneles de Proficiencia: .....	13
Documentación .....	14
Muestra Seca en Tubo .....	14
Control de calidad .....	19
Clasificación.....	20
Control de calidad interno.....	20
Control de calidad externo .....	21
Sistema de gestión y control de localidad. ....	21
ISO 15189:2012 .....	21
Normativa 091.....	23
Importancia de la distribución periódica de los paneles de Proficiencia.....	28

DISEÑO METODOLOGICO .....	29
Operacionalización de variables.....	34
ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS.....	36
Bibliografía .....	49

## **SIGLAS Y ABREVIATURAS**

ARN: Ácido Ribonucleico

ADN: Acido Desoxirribonucleico

CDC: Center for Disease Control (Centro de control de enfermedades)

CNDR: Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia ç

CC: Control de Calidad

DBS: Dried Blood Spot (Coleta de Papel Filtro)

ELISA: Ensayo Inmunoenzimaticos Ligado a Enzimas.

EQA: External Quality control (Control externo de la calidad)

IFI: Inmunofluorescencia Indirecta.

LLC: Limited Liability Company

LNCCM: Laboratorio Nacional de Control de Calidad de Medicamentos.

LRO18-N: Código asignado a cada unidad de salud para mantener la confidencialidad.

MINSA: Ministerio de Salud

MST: Muestra Seca en Tubo

PEEC: Programa de la Evaluación Externa de la Calidad

PEPFAR: fondo de emergencia del presidente de los estados unidos ante el VIH en el mundo.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR siglas en ingles)

PP: Panel de Proficiencia

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

SILAIS: Sistema Local de Atención Integral en Salud

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

## **OPINION DEL TUTOR**

Ha sido para mí un enorme placer haber podido ser parte del presente estudio, por lo que agradezco a sus autores: Br(a) Oscarlett Ampié, Br Yader Jarquín y Godofredo Sobalvarro. Y los felicito por haber realizado un importante trabajo monográfico en pro de su formación profesional.

Nuestro país se encuentra en porcentaje de seroprevalencia por debajo de istmo centroamericano, sin embargo eso no nos debe de llevar a tener una actitud pasiva ante el incremento de casos tanto a nivel Nacional como mundial. Es meritorio agradecer a personas como Oscarlett, Godofredo y Yader por interesarse en hacer su monografía en el tema referente al control externo de la calidad de las pruebas rápidas de VIH que se utilizan en el diagnostico cotidiano a nivel de todas las unidades de salud de nuestro país.

El control externo de la calidad para pruebas rápidas de VIH es de vital importancia, ya que a través de dicho control es posible evaluar al personal que procesa las pruebas como a las pruebas que se utilizan rutinariamente para brindar un diagnostico a todos los ciudadanos que demandan o requieren este servicio de salud. Con este estudio quedo demostrado que es necesario promover la implementación del control externo en pruebas rápidas de VIH a nivel de todo el país.

Espero que las autoridades competentes hagan planes de intervención y estrategias dirigidas a incidir en la implementación del control externo de la calidad de las pruebas rápidas de VIH utilizando muestra seca en tubo.

Atentamente

**Felipe Agustín Torres Meneses**  
**Msc en salud pública – funcionario del Departamento de Virología**  
**Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia**

## DEDICATORIA

- ❖ A Dios padre todopoderoso por habernos guiado durante estos 5 años de carrera universitaria y por demostrarnos que nos acompaña en cada uno de nuestros pasos, por habernos brindado la sabiduría, la paciencia y por sobre todas las cosas por no dejarnos caer aun en los momentos difíciles.
- ❖ A nuestros padres y madres por dar todo su esfuerzo, por haber estado ahí para nosotros y ofrecernos su apoyo incondicional, por toda la dedicación y la fe depositada en nosotros, por sabernos guiar con las palabras de aliento y ser nuestro eje fundamental en la formación como profesionales. Por ser amigos, consejeros, confidente durante todo este periodo de universidad.
- ❖ A nuestros maestros por habernos transmitido sus conocimientos para forjarnos como profesionales socialmente útiles, habiéndonos mostrado el camino para alcanzar nuestras metas.

## AGRADECIMIENTOS

- ✚ A nuestro maestro, amigo, Director y líder Msc. Juan Francisco Rocha López por habernos demostrado siempre su apoyo y su amistad incondicional, por habernos acompañado durante toda la carrera y estar pendiente de la situación que se nos presentara y apoyarnos en el desarrollo como profesionales.
  
- ✚ A Msc. Vilma Rosa Pérez por su ayuda incondicional, sin importar que no fuera maestra de nuestro departamento y apoyándonos de manera integral como profesional del instituto politécnico de la salud.
  
- ✚ Al Dr. Ángel Balmaseda Director del departamento de Virología del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia por darnos su aprobación para la realización de nuestra monografía en el área de serología diagnóstica de VIH en el CNDR.
  
- ✚ A nuestro Tutor Msc. Felipe Agustín Torres Meneses (Dpto. Virología CNDR) y al Lic. Rolando Lorenzana (Asesor técnico regional en laboratorio proyecto regional en TB/VIH, Acuerdo cooperativo con CDC, URC-University Research Co., LLC) por guiarnos durante el proceso de realización y elaboración de la documentación de nuestra monografía.

## RESUMEN

Los paneles de Proficiencia utilizando muestra seca en tubo como alternativa para el control de calidad fueron diseñados en el CDC por XhianJiangZhou. El método después de haberlo probado decidieron implementarlo en todos los países que hacen pruebas rápidas de VIH, es un método costo – beneficio viable, fácil de preparar y de realizar, con una sencilla distribución a zonas geográficas de difícil acceso, sin la necesidad de utilizar cadena de frío, y sin riesgo de derrames biológicos.

En el centro nacional de referencia con fines de dar seguimiento a la implementación de dicho método, el área de serología para el diagnóstico de VIH a finales del año 2013 produce el primer panel de proficiencia usando MST, para hacer un ensayo piloto en 15 unidades de salud del SILAIS Managua. Según el algoritmo diagnóstico establece el envío del 10% de las muestras que les dan resultados no reactivos en pruebas rápidas, lo cual implica altos costos. Este novedoso método que consiste en caracterizar muestras positivas y negativas para VIH una vez preparadas tienen un mes de vigencia además permitirá evaluar las pruebas rápidas así como al personal que las procesa.

El siguiente estudio es de tipo descriptivo de corte transversal, cuya finalidad es medir la utilidad a través del procesamiento de los paneles, para implementar un sistema de control externo de la calidad a las unidades de salud del país. Dando seguimiento a la implementación del control externo de la calidad se realizaron dos rondas más, una a finales del 2015 y otra a inicios del 2016.

Lo más relevante de esta investigación es que de todas las unidades participantes obtuvieron buenas calificaciones a pesar de que solamente para el piloto se hizo un taller, para las dos siguientes rondas no se contó con el financiamiento. Pero el interés del encargado de desarrollar este proceso con el acompañamiento del compañero investigador se fue directamente a cada sitio y los no capacitados fueron preparados para procesar los paneles.

Se logro verificar que los paneles además de ser útiles son funcionales, lo cual indica que es conveniente implementarlos en todo el país. El 100 % de los participantes en las tres rondas procesaron los paneles y enviaron el reporte de los resultados. Se observa que hay una mínima cantidad de unidades de salud que tuvieron resultados no satisfactorios. En conclusión queda demostrado que el panel usando MST es de gran utilidad porque permite evaluar las pruebas rápidas, al personal técnico y el cumplimiento del algoritmo diagnostico utilizado en Nicaragua.

## INTRODUCCION

Durante muchos años la infección por VIH se ha tratado en nuestra sociedad como un hecho propio de grupos marginales, considerando que las personas “de buena vida” no podían contraer la infección y asociando el concepto de VIH/SIDA a multitud de prejuicios que, todavía hoy, persisten y hacen que el padecimiento de la enfermedad sea considerado un tema tabú.

Actualmente, se estima que cerca de 34 millones de personas en el mundo se encuentran infectadas por el VIH, de las cuales 22.4 millones residen en países en vías de desarrollo. Estos datos convierten a esta infección en un tema de constante actualidad, de gran interés en investigación científico-médica y, consecuentemente, de constantes dudas y mitos que conviven con verdades en la sociedad.(ONUSIDA, 2016)

La infección por VIH se ha configurado como una pandemia a lo largo de las 2 últimas décadas del siglo XX y los primeros años de este nuevo siglo. A finales de 1998 había 33,4 millones de personas infectadas por el VIH y 13,9 millones de muertes registradas por su causa. En 2014 había 36.9 millones de personas infectadas por el VIH 1/2, A finales de ese mismo año 2 millones de personas contrajeron el HIV y 1.2 millones de personas fallecieron a causa del VIH/SIDA. A mediados de 2015 había 15,8 millones de personas infectadas por el VIH que recibían terapia antirretrovírica en todo el mundo.

La infección por el VIH se suele diagnosticar mediante análisis de sangre, aunque puede hacerse la prueba en muestras de orina y saliva. En los que se detecta la presencia de anticuerpos contra el virus en caso de estar contagiada la persona. En general los resultados de estas pruebas están disponibles el mismo día de su realización, hecho esencial para el diagnóstico, el tratamiento y la atención precoz.

Las pruebas serológicas determinan la presencia o ausencia de anticuerpos contra el VIH 1 y 2. Estas pruebas deben realizarse acorde con un algoritmo diagnóstico validado el cual debe cumplirse adecuadamente para lograr establecer el estatus de seropositividad o negatividad para el VIH.

En los últimos años, los test rápidos (TR) para VIH-1/2 adquirieron gran importancia en el diagnóstico del VIH debido a su sensibilidad y especificidad, bajo costo, fácil de realizar, pueden preservarse hasta 30 °C y lo más importante es que para procesar las pruebas rápidas no se requiere de una estructura de laboratorio. Esto permite llevarlas a sitios de difícil acceso y poder ofrecer un diagnóstico oportuno lo que permitirá incorporar con mayor prontitud a los pacientes afectados.

A pesar de los buenos resultados que se obtienen con las pruebas rápidas para el diagnóstico de VIH es de imprescindible cumplimiento y aplicación el control externo de la calidad de dichos test y del personal que las procesa. Para que la población tenga resultados confiables. Por lo antes mencionado es que se están implementando los paneles de proficiencia utilizando muestra seca en tubo, orientado por el CDC de Atlanta.

La realización de esta monografía tiene un amplio valor e importancia porque se está colaborando para que en el futuro se logre aplicar a nivel de todos los SILAIS del país, el procesamiento de al menos dos paneles de proficiencia de VIH usando MST. Esto permitirá la aplicación del control externo de la calidad de las pruebas rápidas de VIH que se utilizan en el país y por ende servirá como garantía de la calidad. Además se estará monitoreando periódicamente el rendimiento de los test y el desempeño del personal de las unidades de salud que procesan las pruebas rápidas.

## ANTECEDENTES

Las pruebas diagnósticas para VIH cumplen una función primordial en la detección de la infección por el virus, así como también en la ampliación y el acceso a una mejor calidad en la atención y el tratamiento antirretroviral.

Los primeros casos y reportes de VIH se describieron en los informes de M. S. Gotlied, quien publicó que 5 hombres homosexuales entre mayo de 1980 y junio de 1981 fueron estudiados en 3 hospitales diferentes de Los Ángeles, California, EE.UU. quienes presentaban neumonía por un germen oportunista: el protozoo *Pneumocistiscarinii*. (Prieto, 2015)

En Nicaragua, se reportó el primer caso de VIH en el año 1987. En el año 2012 se registraron 7.000 personas portadores del VIH, de los que 90 son menores de edad. 970 se detectaron en 2011, de esta manera se observa que el comportamiento epidemiológico en el país se mantiene como una epidemia concentrada, y desde entonces se han hecho esfuerzos para tratar de mantener un estándar de calidad en el diagnóstico.

En el país nunca antes se había realizado un monitoreo descentralizado con paneles de proficiencia con Muestra Seca en Tubo, proceso a través del cual se evaluará diferentes aspectos como; el llenado de la documentación, el seguimiento del algoritmo, emisión de resultados, tiempo de entrega y retroalimentación de los paneles, por medio de un control de calidad externo.

Estos son algunos métodos que aportaron al aislamiento, detección y control del VIH

- Cuba 1993 se reporta la evaluación del sistema DAVIH-BLOT frente a Paneles de Proficiencia enviados al Laboratorio Nacional de Referencia del SIDA por la Organización Mundial de la Salud para el aseguramiento de la calidad en el diagnóstico de anticuerpos al VIH.
- Jiang Yan, China en el año 2009 evaluaron 8273 Laboratorios locales, 254 laboratorios de confirmación, 35 laboratorios centrales de confirmación y 1 laboratorio Nacional de Referencia, el cual evaluaron los métodos de pruebas rápidas.(Jiang, 2008)
- Liang Xi, Yang Li en Octubre de 2011 Evaluaron una dosis de paneles o Cassete de Dispositivos intravenoso de seis compuestos en ratas seguido de muestra de sangre hemolizada (HBS) y el muestreo DBS se evaluó en este estudio, este estudio demostró la aplicabilidad o viabilidad sobre el muestreo de cribado en Muestras Secas en Tubo.
- Brasil, año 2009 el diagnóstico de la infección por el VIH se realiza en laboratorios, mediante pruebas serológicas. Regulado por la orden ministerial 151, establecida el 14 de octubre de ese mismo año.
- En Guatemala, en el 2012, el LNS en conjunto con el PNS, con la asistencia técnica de la UVG, realizaron la primera fase de la validación local de pruebas rápidas mediante el uso de Paneles de Proficiencia, tomando en cuenta las marcas comerciales disponibles en el país al momento.

- En Nicaragua hasta antes del año 2012 no se habían hecho estudios en donde se observara con que calidad el personal de laboratorios maneja el diagnostico mediante las pruebas rápidas, es por eso que este documento tratara de explicar acerca de la calidad con que se procesan las pruebas rápidas de VIH en las unidades de salud del SILAIS-Managua. Mediante la implementación y distribución de paneles proficiencia utilizando MST.

## JUSTIFICACION

Transcurrido el periodo de rotación por el centro nacional de diagnóstico y referencia del ministerio de salud, específicamente en el área de serología de VIH del mismo centro. Y tras haber observado y realizado el control de calidad a muestras de diferentes centros a nivel nacional surgió la interrogante en los investigadores de saber, cuál era la calidad con la que se trabajaba en los diferentes centros asistenciales del país y particularmente del SILAIS-Managua. Por ser este uno de los departamentos con mayor población, alta prevalencia de VIH y poblaciones clave. Planteándose dicha interrogante se realizaron las debidas consultas con el director del área de virología del centro para poder realizar esta investigación, apoyados por el encargado del área de serología de VIH; una vez aprobado el estudio se procedió a trabajar en base a una técnica nueva llamada BloodDriedSpecimens que en español significa Muestra seca en tubo con el fin de establecer un sistema de control externo de la calidad a nivel nacional y evitar errores en los resultados, el fin de la investigación es la de medir por medio de una evaluación externa de la calidad el desempeño del personal asignado para procesar estas pruebas así como del panel de proficiencia.

Lo que se pretende alcanzar con esta monografía es dejar un registro como precedente de realización de control externo de la calidad a nivel del sector salud para las pruebas rápidas de VIH, establecer que el control de calidad sea un hábito de trabajo entre los analistas de todas las áreas de la salud. De igual manera dejar un método establecido para el control de calidad a nivel Nacional.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El control de calidad que se lleva es de carácter centralizado con envío de muestras en porcentajes de 10 para las pruebas rápidas que resulten negativas, y con el total de 100 para las pruebas que resulten positivas y discrepantes, lo que se pretende con el control de la calidad con paneles de proficiencia es una descentralización en donde se evalúe a los analistas desde su centro laboral y su conocimiento científico técnico esto con el fin de poder hacer una comparación en bases a los resultados ya establecidos por la base de datos del CNDR.

En el país esta forma de realizar el control de calidad conlleva altos costos de insumos, sobrecarga de trabajo y personal, es por esto que surgen los paneles de proficiencia con muestra seca en tubo como un método a implementar el control de calidad a nivel de cada una de las unidades de salud.

Los paneles de Proficiencia con muestra seca en tubo como alternativa para el control de calidad en el país, es un método económico, fácil de realizar, con una sencilla distribución a zonas geográficas de difícil acceso en nuestro territorio, sin la necesidad de utilizar cadena de frío, a muy bajo costo y sin riesgo a derrame biológicos.

¿Cuál será la utilidad de los paneles de proficiencia utilizando muestra seca en tubo (MST) en las pruebas rápidas de VIH de los centros de salud y hospitales del SILAIS Managua en el periodo octubre 2013 a enero 2016?

## HIPOTESIS

La totalidad del personal de las unidades de salud de SILAIS-Managua tendrán una evaluación satisfactoria en el procesamiento de las muestra seca en tubo en paneles de Proficiencia para el control de la calidad.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Evaluar la utilidad de los Paneles de Proficiencia utilizando Muestra Seca en Tubo (MST) en las pruebas rápidas de VIH de los Centros de Salud y Hospitales del Silais Managua en el periodo Octubre 2013 a Enero 2016.

### Objetivos Específicos

- Mencionar las etapas para la elaboración de los Paneles de Proficiencia.
- Comparar los resultados obtenidos en las tres rondas realizadas para el control de calidad externo de las pruebas rápidas utilizando Muestra Seca en Tubo.
- Demostrar la importancia de la distribución periódica de los Paneles de Proficiencia.

## Marco Teórico

### VIH

El virus de inmunodeficiencia humana mejor conocido como VIH es un virus de la familia retrovirus estos son virus esféricos, envueltos generalmente su tamaño varía entre los 80 y 110 nm de tamaño este virus es de ARN del tipo lineal, monocatenario y de sentido positivo; el virus se replica gracias a un provirus que tiene la capacidad de copiarse al molde de ADN. Este virus es también el causante principal de muertes debido al síndrome de inmunodeficiencia adquirida SIDA más no el único.

### Generalidades

Los virus son los agentes infecciosos más pequeños (con tamaños que van de casi 20 nm a 300 nm de diámetro) y contienen sólo un tipo de ácido nucleico (RNA o DNA) en su genoma. El ácido nucleico está rodeado por una cubierta proteínica, que puede estar rodeada por una membrana que contiene lípidos. La totalidad de la unidad infecciosa se denomina virión.

Los virus son inertes en el entorno extracelular; se replican sólo en células vivas donde actúan como parásitos al nivel genético. El ácido nucleico viral contiene la información necesaria para la programación de la célula hospedadora infectada para sintetizar macromoléculas virales específicas necesarias para la producción de la progenie viral. Durante este ciclo de replicación se producen numerosas copias de ácidos nucleicos virales y cubiertas proteínicas. Estas últimas se ensamblan para formar una cápside, que rodea y estabiliza el ácido nucleico viral y lo protege del entorno extracelular y facilita la unión y penetración del virus hasta que hay contacto con una nueva célula susceptible.

La infección viral puede tener poco o ningún efecto en la célula hospedadora o puede causar daño o muerte celulares. El universo de los virus tiene una gran diversidad; varían en gran medida en cuanto a estructura, organización y expresión genómicas, así como en las estrategias de replicación y transmisión. El rango de hospedador para un virus dado puede ser muy amplio o extremadamente limitado. Se sabe que los virus infectan microorganismos unicelulares como micoplasmas, bacterias y algas, así como a

plantas y animales superiores; Gran parte de la información con respecto a las relaciones entre virus-hospedador se han obtenido de estudios realizados en bacteriófagos, los virus que atacan a las bacterias.

## Estructura

El VIH es un virus ARN que pertenece a la familia retroviridae, concretamente a la subfamilia lentivirus. Como todo retrovirus se caracteriza por poseer la enzima transcriptasa inversa, capaz de sintetizar ADN a partir del ARN viral.

Posee una estructura esférica, de aproximadamente 110 nm de diámetro, dentro de la cual se pueden diferenciar tres capas: Capa externa o envoltura: formada por una membrana lipídica, donde se insertan las glucoproteínas gp120 (glucoproteína de superficie) y gp41 (glucoproteína transmembranal) y proteínas derivadas de la célula huésped entre las que se encuentran receptores celulares y antígenos de histocompatibilidad de clase I y II.

Debajo de la membrana lipídica, se encuentra la proteína matriz p17 que se une a la gp41. Cápside icosaédrica formada por la proteína p24. Capa interna o nucleoide: contiene el ARN viral, la nucleoproteína p7 y algunas enzimas (proteasa, integrasa, transcriptasa interna). El genoma del VIH está formado por dos moléculas de ARN monocatenario, idénticas, de polaridad positiva. Además de los tres genes estructurales característicos de los retrovirus (env, gag y pol) presenta una serie de genes reguladores (tat, rev, nef, vif, vpr, vpu, vpx y tev) que determinan la síntesis de las proteínas reguladoras, imprescindibles en la replicación viral.

## Métodos diagnósticos:

Las pruebas de tamizaje se aplican a un conjunto de muestras y su finalidad no es el diagnóstico definitivo. La aplicación de técnicas de tamizaje tiene como objetivo detectar la presencia de antígenos y anticuerpos anti VIH y es el primer paso para el diagnóstico de la infección.

Los métodos de diagnóstico del VIH se pueden clasificar en métodos directos e indirectos. Los métodos indirectos reconocen principalmente anticuerpos específicos producidos por el sistema inmune como respuesta a la presencia de virus o bien detectan la respuesta inmune celular frente al VIH. Los métodos directos permiten detectar el propio virus o alguno de los componentes, como proteínas o ácidos nucleicos.

Para el control habitual se utilizan inmunoanálisis de absorción ligados a enzimas (ELISA) o pruebas de hemaglutinación. Sin embargo, El ELISA que se utiliza actualmente para confirmar casos positivos para VIH es capaz de detectar entre 15 a 20 días las muestras positivas a VIH. En ocasiones para confirmar los resultados seropositivos se utilizan procedimientos más específicos, como el análisis de transferencia de Western. Por otro lado, el análisis de transferencia de Western determina la presencia de anticuerpos frente a antígenos víricos (p24 y p31) y glucoproteínas (gp41 y gp120/160). Los anticuerpos frente al VIH pueden desarrollarse lentamente, tardando en la mayoría de pacientes de 4 a 8 semanas en aparecer; sin embargo, hasta en el 5% de los infectados pueden llegar a tardar 6 meses.

## Directos

- Detección antigénica (antígeno p24)
- PCR-RT

## Indirectos

- Pruebas rápidas de 3 y 4 generación
- ELISA
- Western Blot

## Definición de Paneles de Proficiencia

Paneles de Proficiencia, se utilizan para medir la capacidad de una determinada prueba o número de pruebas para discriminar que muestras son positivas o negativas.

### Objetivo de los paneles de Proficiencia.

- CCE de las pruebas rápidas de VIH garantizan que los resultados ofrecidos al paciente son correctos.
- Evalúa el desempeño del personal
- Detecta y corrige errores.
- Reducción de costos (Elaboración del panel en el país y la facilidad de distribución).
- No hay riesgo de derrame al transportar el panel.

### Características.

- Debe ser elaborado por un laboratorio debidamente acreditado y certificado internacional y nacionalmente.
- Se debe realizar como mínimo 2 veces al año.
- Mide la cantidad de errores sistemáticos o aleatorios presentes.
- Será elaborado por un laboratorio de referencia en caso de evaluación nacional.
- Los laboratorios de referencia son evaluados por laboratorios internacionales periódicamente.

## Clasificación de los paneles para el control externo de la calidad

### Paneles de competencia.

Los paneles de competencia de VIH son diseñados en los laboratorios de referencia de cada país, con el fin de poder probar si las pruebas rápidas con las que se procesan las muestras son idóneas para el diagnóstico.(OPS/PAHO, 2014).

Este mecanismo de evaluación no había sido utilizado por los programas de VIH en la región, pero Un Grupo de expertos convocados por la OMS a finales de 2013, realizo capacitaciones con el fin de que la certificación y la evaluación de competencia tuviera una reorientación en el abordaje propuesto en el marco de “Desarrollo de Paneles de Proficiencia para la evaluación de control de calidad Externo”, al recalcar la importancia de este componente dentro del sistema y al considerar temas como el establecimiento de criterios para el procesamiento de pruebas rápidas para el diagnóstico de VIH para los laboratorios pertenecientes a la red y del establecimiento de paneles de evaluación, así como de criterios de calificación y certificación.

## **Paneles de Proficiencia**

El Control de Calidad Externo con los paneles de Proficiencia permite comparar los resultados del laboratorio centralizado de referencia con los resultados de otros laboratorios a nivel nacional. A estos se les denomina Test de Proficiencia y que están a cargo de organismos internacionales de reconocido prestigio técnico y profesional para ser establecido y preparados por los encargados de los laboratorios de referencia del país.

## **Etapas de elaboración de los paneles de Proficiencia:**

Solicitud de muestras por parte del CNDR a la cruz roja, dichas muestra ya ha sido probada por el método de quimioluminiscencia para determinar que esta no contenga ningún otro agente patógeno.

Caracterización de las muestras, se realiza en tres fases:

- a. Fase 1 de la caracterización, realizando pruebas rápidas para la determinación del suero positivo y del negativo.
- b. Fase 2 consiste en realizar nuevamente las pruebas rápidas cuando a cada una de las muestras se les ha agregado el colorante Green.

c.Fase 3, esta se realiza una vez que la muestra se ha secado en el vial y se reconstituye para ser probada nuevamente y constatar que la muestra no ha perdido sus propiedades

Una vez caracterizadas las muestras es agregado el Green Dye a una concentración final del 0.1% (1:10). A continuación se pipeteo 20 ul de muestras en cada uno de los viales ya codificados tanto positivos y negativos, todos los viales se dejan en una cabina de flujo laminar sin ser sellados durante toda la noche,

Etiquetado de cada vial de muestra, se utiliza las siglas de VIH seguido del número de la ronda y el año, esto se realiza al siguiente día de agregada la muestra; se eligió intercalar 3 positivos y 3 negativos para cada panel.

Se filtró la solución buffer debido a que su presentación es en polvo y esta liofilizado debe pasar por este proceso, dicha filtración fue realizada con una membrana de filtración.

## **Documentación**

Preparación de la documentación que consta de un instructivo, hoja de protocolo, hoja de envío de resultados y una hoja de datos de identificación del centro u hospital.

Una vez realizado el panel tiene vigencia de un mes para su procesamiento, al entregar cada panel los laboratorios tienen un máximo de cinco días para procesarlo, un tiempo máximo de tres días para enviar los resultados y un periodo de quince días para que el CNDR entregue la retroalimentación a cada unidad.

## **Muestra Seca en Tubo**

Muestra seca en tubo: un método simple y rentable para las preparaciones de pruebas de competencia VIH y materiales de control de calidad para su uso en entornos con recursos limitados.

Aseguramiento de la calidad externa es esencial para asegurar la exactitud de los componentes de las pruebas de diagnóstico. Las llaves de control de calidad externo son: (a) las pruebas de competencia o PT (b) repetir periódicamente las pruebas de un subconjunto de muestras en un laboratorio calificado y (c) las visitas al sitio / auditorías por expertos externos. Los programas de pruebas de competencia (PT) han demostrado ser muy eficaz en la mejora de la calidad de las pruebas para diversas enfermedades y analitos; sin embargo, son bien limitados en la cobertura o que carecen por completo en la mayoría de los países en desarrollo donde la carga de las enfermedades es alta y la infraestructura de laboratorio es limitada.

Varios factores han contribuido a los programas EQA limitados en el desarrollo de los países. La repetición de los exámenes es el principal medio de control de la calidad de las pruebas serológicas del VIH, el enfoque es costoso, consume tiempo y logísticamente difícil en entornos descentralizados. Visitas a miles de sitios de prueba requieren un gran número de personal capacitado y recursos, así como el seguimiento posterior para asegurar. Se han tomado las medidas correctivas. Los programas de pruebas de competencia utilizando muestras de suero o plasma líquido se limitan a los laboratorios o en los sitios que son de fácil acceso y no incluyen miles de pruebas rápidas en el sitio. Muchas más, muestras de líquido requieren una cadena de frío, que es caro y difícil de mantener en todo el país.

Para hacer frente a los problemas mencionados, se describe un nuevo enfoque de la cadena de frío independiente aquí para el programa de prueba de competencia o para la preparación de muestras de control de calidad. Muestras de suero o plasma, preparado como especímenes de tubos secos (DTS), son estables durante al menos un mes a las temperaturas encontradas en muchos países y se pueden utilizar para preparar paneles de prueba de competencia o como reactivos de control de calidad.

## **Especímenes de Suero o plasma**

La evaluación inicial y la optimización de los estudios de estabilidad y DTS se realizaron utilizando un panel bien caracterizado de 10 especímenes (4 anticuerpo VIH-1 positivos y VIH negativos 6) que se utilizan habitualmente en nuestro laboratorio.

Después de la optimización, el estudio comparativo de DTS y muestras líquidas se realizó mediante un panel diverso de muestras (N = 303.135 VIH positivos y 168 negativos VIH). Estas muestras se obtuvieron de Sudáfrica, Camerún, Costa de Marfil, Kenia y Estados Unidos. Todas las muestras se caracterizaron por el inmunoensayo enzimático aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (EIA) (Genetic Systems VIH-1-2-O EIA; Bio-Rad Laboratories, Hércules, CA, EE.UU.). Repetidamente ejemplares EIA-reactivos fueron aún más confirmada para el estado de VIH-1 por el VIH-1 por transferencia.

### **Determinación de volumen óptimo**

Para determinar el volumen óptimo necesario para la preparación de DTS, diversas cantidades (10 ul, 20uL, 30uL, 40uL y 50uL) de las muestras 10 de panel se dispensaron en la parte inferior de tubos de 2 ml Sarstedt. Los tubos se dejan abiertas y se dejaron secar a temperatura ambiente durante duraciones variadas. Antes de la prueba, los tubos se rehidratan con 0,2 ml de PBS-Tween (0,1 M de buffer fosfato salino, pH 7,4, con 0,1% de Tween-20, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EE.UU.), mezclado con unos golpecitos suaves y la izquierda durante la noche a temperatura ambiente para permitir solubilizarse. Se mezclan los tubos de nuevo con unos golpecitos suaves y su contenido se utiliza para las pruebas del VIH.

### **Preparación de la muestra seca en tubo y estabilidad del estudio**

Especímenes de muestra seca en tubo se prepararon mediante la transferencia de 20 ul de suero o plasma, premezclado con 0,1% (v / v) de colorante verde (color de los alimentos, marca Kroger), en un tubo Sarstedt de 2 ml. La adición de colorante verde al 0,1% no afectó a los resultados de las pruebas de VIH, pero permitió la visualización de la pastilla de color en la parte inferior de los tubos. Los tubos se dejaron abiertos en una campana de flujo laminar durante la noche para que se seque. Después se taparon y se almacenaron a 4°C hasta rehidratarlos antes de la prueba.

Para los estudios de estabilidad, múltiples conjuntos de muestras secas en tubo se prepararon utilizando un "panel de 10 miembros" (4 VIH positivos y VIH negativos 6) y se almacenó a 4°C, 25°C, 37°, 45°C. para evaluar la estabilidad tubos de muestra seca en tubo, un conjunto de cada temperatura se rehidrata en las semanas 1, 2, 3 y 4, y la prueba de anticuerpos contra el VIH.

### **Prueba de anticuerpos de VIH para la muestra seca en tubo**

PBS Tween fue preparado, filtrado con filtro de 2 um y alicuotado en 1.5 ml de buffer para la rehidratación únicamente de la prueba de la muestra seca en tubo. Para su posterior uso, la muestra seca en tubo se rehidrato con 200 ul o 7 gotas de PBS-Tween bien sea con una pipeta de precisión o bien puede ser con una pipeta plástica de una graduación conocida para dispensar. Siete gotas ascendieron a unos 200 ul con esta pipeta. Esto dio lugar a una dilución 1:10 de la muestra original, pero fue tratado como sin diluir con el propósito de realizar más pruebas. Las muestras se mezclaron golpeando ligeramente, sin agitación, para imitar las condiciones prácticos encontrados en el asesoramiento y los sitios de ensayo, y se dejaron durante la noche a temperatura ambiente para permitir la solubilización de suero o plasma se seca en el tampón de Pruebas de Proficiencia. Al día siguiente, las muestras se mezclaron de nuevo golpeando ligeramente las placas y se utiliza para realizar pruebas rápidas o EIA (Fig. 1). Determine HIV-1/2 (Inverness Medical, Waltham, MA, EE.UU.), OraQuick ADVANCE HIV-1/2 (OraSure Technologies, de Bethlehem, PA, EE.UU.), Unigold, y Capillus (ambos de Trinity Biotech, Dublín, Irlanda), Bioline (Standard Diagnostics, Corea) y GS VIH 1-2-O EIA (GS EIA, Bio-Rad Laboratories, Hércules, CA, EE.UU.) se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Para el estudio de estabilidad, GS inmunoensayo enzimático (EIA) se realizó a una dilución 1: 1000, en lugar de la dilución recomendada 3/4, para observar disminución de los niveles de anticuerpos, si alguna. Para determinar cambios en los niveles de anticuerpos del VIH durante el estudio de estabilidad en diferentes temperaturas, las muestras también se ensayaron mediante el ensayo BED, un ensayo de anticuerpo VIH cuantitativo que mide VIH-IgG como una proporción del total de IgG (Parekh et al., 2002).

## Muestras de tubos secos basados en paneles de pruebas de eficiencia y pilotos

Para que un programa piloto de pruebas de aptitud, paneles de pruebas de eficiencia basados en muestras tubo desecado se prepararon usando 6 muestras bien caracterizadas (3 positivos y 3 negativos). Los miembros del panel fueron codificados como A1 a A6. Sabiendo que los paneles de ensayo de aptitud se pondrá a prueba en el asesoramiento y los sitios de prueba con ningún dispositivo o equipo de pipeteo, las instrucciones eran fi simplificarse mediante la preparación de una ayuda de trabajo para ayudar a guiar el proceso. Cada paquete incluye panel de Examen de Nivel 6 viales de panel de prueba de competencia, 1 frasco de tampón de ensayo de aptitud (PBS-Tween, 1,5 ml), una pipeta de transferencia y una sencilla ayuda de trabajo, Los formularios de información simples fueron desarrollados para capturar datos de pruebas rápidas o datos de la EIA (valores de densidad óptica), junto con la información kit de prueba y los datos de control de calidad.

Veinte miembros del personal de laboratorios locales de CDC, Atlanta, participaron en una prueba piloto. Cada participante se le proporcionó un paquete de panel de prueba de competencia como se describió anteriormente y dio instrucciones a seguir las instrucciones que aparecen en el folleto; Los datos sobre los resultados de la prueba se recogieron y se introdujeron en una hoja de cálculo de Microsoft Excel personalizado desarrollado para este panel. Los paneles de ensayo secado tubo de muestra-Dominio También se pusieron a prueba en Kenia a los 24 sitios de asesoramiento y pruebas en colaboración con el personal de laboratorio locales en el Laboratorio de Referencia Nacional de VIH (NRL), Nairobi. Estos sitios se encontraban en las proximidades de Nairobi y convenientemente situados para llevar a cabo también se les pidió un personal piloto de prueba para proporcionar sus comentarios con respecto al uso de los DTS para el programa de PT.

## Control de calidad

Según Gordillo Reséndiz calidad es el total de lineamientos y propiedades (o atributos) de un producto o servicio, que sustentan su capacidad de satisfacer las necesidades expresas e implícitas que lo generaron.

Técnicas operativas y actividades necesarias para cumplir con los requisitos de calidad y concierne al monitoreo diario de los procedimientos realizados en el laboratorio.

Basados en lo antes mencionado el control de calidad dentro de un laboratorio o red de laboratorios se divide en dos: control de calidad interno y control de calidad externo.

El establecimiento de un sistema de calidad es primordial para garantizar la obtención de resultados fiables; la evaluación de la calidad de los servicios de laboratorio exige verificar el funcionamiento de este, incluyendo la estructura organizativa ,la documentación de políticas y procedimientos ,la gestión y la movilización de recursos ,el manejo de los datos de laboratorio y la aplicación de sistemas de calidad tales como controles de calidad internos y externos ,el mantenimiento preventivo ,las adquisiciones y el manejo del inventario así como el de la seguridad.

La aplicación de sistemas de calidad es indispensable tanto en entornos de laboratorio convencionales así como también en los no convencionales .los programas de capacitación u entrenamiento destinados a las personas que realizan las pruebas de diagnóstico de VIH deben basarse en consideraciones de competencia y rendimiento que estén fundamentadas en las buenas prácticas de laboratorio, la seguridad en el laboratorio (si lo hay) la obtención y el manejo de muestras ,el manejo de los libros de registro ,la transcripción correcta y el reporte de los resultados ,el manejo de los datos y el control de calidad de los mismos.

Basados en estos datos y siguiendo el algoritmo diagnóstico para VIH en el país se hace necesario realizar, verificar y tener siempre a disposición muestras controles que sirvan para validar tanto las pruebas verificadas y aprobadas en el algoritmo diagnóstico así como para la introducción de un sistema de control de calidad como el caso de la muestra seca en tubo.

El control de calidad generalmente incluye la realización de pruebas usando especímenes ya conocidos, estos últimos deben analizarse con los mismos reactivos y equipos que se utilizan con las muestras que se estén analizando en el momento, es decir que a las muestras de control de calidad de las pruebas tanto A1 como A2, ELISA se les dará el mismo trato que se le da a una muestra de un paciente X.

según la organización mundial de la salud los laboratorios de referencia e incluso los laboratorios pequeños deberían implementar estas normas para lograr de esta manera el establecimiento de la calidad en el diagnóstico ,el personal, y los servicios que estos brindan a la población en general, el centro nacional de diagnóstico y referencia de minsa por ser el único laboratorio de referencia en el país recibe por parte de un laboratorio de Canadá paneles de Proficiencia con los cuales el centro es evaluado sistemáticamente con el fin de determinar posibles errores.

Nicaragua no ha implementado en su política de salud un sistema de gestión y control de la calidad en todas sus unidades de salud, sin embargo en el CNDR ya se cuenta con los primeros pasos de implantación de esta política en todas las áreas del laboratorio a través de personal del mismo centro que se encarga de evaluar el llenado y cumplimiento de los estándares de calidad que exigen a este nivel.

En el año 2013 el licenciado Felipe torres Meneses lleva cabo un plan piloto con quince unidades de salud dentro del silais Managua con el fin de explorar la situación del control de calidad a las pruebas rápidas que en el país circulan, es ahí donde por primera vez se habla de MST o muestra seca en tubo para la realización de un control de calidad a la red de laboratorios del SILAIS-Managua.

## **Clasificación**

### **Control de calidad interno**

Técnicas y actividades operacionales que son utilizadas dentro del laboratorio para cumplir los requerimientos de calidad del servicio y sus mediciones.

Permite monitorear la ejecución de un procedimiento de medición con el propósito de una acción correctiva.

Consiste en hacer mediciones repetitivas de un mismo material de control de cada uno de los lotes de trabajo y resumir los datos obtenidos para efectuarles un tratamiento estadístico que permita verificar el funcionamiento adecuado del laboratorio.

### **Control de calidad externo**

Programa en el cual una institución externa provee a los laboratorios participantes muestras desconocidas para su análisis y comparar los resultados para material control, evaluación de rendimiento aceptable o no aceptable y PEEC (PROGRAMA DE LA EVALUACION EXTERNA DE LA CALIDAD).

### **Sistema de gestión y control de localidad.**

El CNDR cuenta con un Gerente de calidad que tiene definida su responsabilidad y autoridad para coordinar y asegurar que el sistema de calidad sea implementado y seguido en todo momento por todos los laboratorios, pertenecientes al CNDR, el organigrama (Ver ilustración 16).

A su vez la dirección del LNCCM ha nombrado a un responsable de la calidad, con la autoridad delegada para la responsabilidad de la implementación y supervisión del sistema de gestión en el mismo. El C.N.D.R. mantiene una estructura organizacional sólida, documentada la cual controla día a día con el fin de asegurar resultados de calidad mediante un proceso de mejora continua.

### **ISO 15189:2012**

Los servicios de Laboratorios Clínicos son esenciales para el cuidado del paciente y por lo tanto deben estar disponibles para satisfacer las necesidades, tanto de los pacientes como del personal clínico responsable del cuidado de los mismos.

Estos servicios incluyen la estructura de las solicitudes de exámenes, identificación y preparación del paciente, toma de muestras, transporte, almacenamiento, procesamiento y examen de muestras clínicas, junto con la posterior interpretación, además de las consideraciones de seguridad y ética en el trabajo del Laboratorio Clínico, entre otros.

Esta norma esta propuesta para que la utilicen los Laboratorios Clínicos para desarrollar su Sistema de Gestión de la Calidad y evaluar su competencia. También puede ser utilizada para confirmar o reconocer la competencia de los Laboratorios Clínicos por parte de los clientes, autoridades reguladoras y organismos de acreditación.

Es importante aclarar que no está destinada para ser utilizada con propósitos de certificación, sin embargo, el cumplimiento de los requisitos de esta norma internacional por parte de un Laboratorio Clínico, significa que cumple tanto con los requisitos de competencia técnica, como con los requisitos del sistema de gestión necesarios para que puedan entregar en forma consistente resultados técnicamente válidos.

A continuación se mencionan los puntos que aborda la norma 15189:2012.

1. Gestión de información de laboratorio.
2. Convenios de servicios, este punto consiste en que para poder prestar los servicios de Laboratorio Clínico deben tomar en cuenta la solicitud, el examen y el informe.
3. Fortalecimiento en base a los servicios de asesoría, en donde se establece la comunicación con los usuarios sobre asesoría, la elección de exámenes y uso de los servicios, tipo de muestra requerida, indicaciones clínicas y limitaciones de los procedimientos de examen, así también casos clínicos particulares y juicios profesionales.
4. Adecuado Control de los registros adoptando prácticas de la ISO/IEC 17025, en el cual se establece que los registros se deben crear al mismo tiempo que se realiza cada actividad que afecte la calidad del examen.
5. Adopción de diferentes termino de uso en los laboratorios entre ellos el término de “Aptitud demostrada” para la aplicación de conocimientos y de las habilidades, “Selección automatizada e Informe de resultados” el término de

“Conducta ética” con la relevancia que pasa a formar parte de una aplicabilidad en vez de un anexo, se añade también el “Compromiso de la dirección”.

6. Fortalecimiento de la “Evaluación” que incluye:
  - Considerar las sugerencias del personal.
  - El concepto de Gestión de Riesgos.
  - Establecimiento de indicadores de calidad para evaluar el desempeño de los procesos.
  - Considerar evaluaciones por organismos externos.
  
7. “Equipo, reactivos y consumibles del Laboratorio”, en donde se incluye las definiciones de equipo, reactivos y consumibles, se establecieron requisitos específicos para la recepción y almacenamiento, pruebas de aceptación, gestión de inventario, instrucciones de uso e informes de incidentes adversos en cuanto a los reactivos y consumibles.
  
8. “Emisión de resultados” cada laboratorio está en la obligación de definir las personas autorizadas para entregar resultados y las personas a las cuales se les pueden entregar los mismos.(Tinoco, 2012).

## **Normativa 091**

### **Descripción del Algoritmo Diagnóstico de VIH**

El Personal que realiza la prueba de VIH en los diferentes establecimientos de salud, laboratorios de la red diagnóstica de VIH e instituciones públicas, privadas y ONG’s que realizan el diagnóstico del VIH/sida, deben conocer las pautas y orden de los pasos a seguir para realizar el correcto diagnóstico de VIH.

#### **Explicación del flujo:**

El diagnóstico para VIH se realiza utilizando una combinación de pruebas rápidas y pruebas confirmatorias de ELISA, según se describe a continuación (Anexo 1):

- Si la prueba rápida (A1) realizada en el tamizaje inicial tiene un resultado No Reactor, se entregará el resultado al médico tratante.

- Si el resultado de la prueba rápida inicial fuera Reactor, se realiza inmediatamente una segunda prueba rápida (A2) de diferente marca o principio metodológico.
- Si el resultado es No Reactor se notifica al médico tratante la discrepancia de resultados y se remite la muestra al laboratorio de referencia del SILAIS correspondiente.
- Si el resultado es Reactor se notifica al médico tratante el resultado preliminar y se remite la muestra al laboratorio de referencia del SILAIS que corresponde.

En el laboratorio de referencia del SILAIS (acreditado por el CNDR- MINSA) se utiliza la prueba de ELISA 4ta Generación y se sigue el siguiente esquema:

- Si ambas pruebas rápidas son reportadas Reactor y el resultado de ELISA se reporta como:
  - Positivo: se entrega el informe como positivo a vigilancia epidemiológica del SILAIS y/o la unidad de salud que lo refiere y se envía la muestra junto con el historial de análisis al CNDR para realizar el control de la red de laboratorios.
  - Negativo: se solicita nueva muestra en un tiempo no mayor al de 3 semanas.
- Si la muestra reportada por el nivel local presenta discrepancia en el resultado de ambas pruebas rápidas (A1 Reactor, A2 No Reactor) y el resultado de ELISA es:
  - Positivo: se entrega el informe como positivo a vigilancia epidemiológica del SILAIS y/o la unidad de salud que lo refiere y se envía la muestra junto con el historial de análisis al CNDR para realizar el control de la red de laboratorios.
  - Negativo: se reporta resultado Negativo al SILAIS y/o la unidad de salud que lo refiere.

En el CNDR se realizará control de calidad externo a todas las muestras referidas por la red de laboratorios para el diagnóstico del VIH, empresas médicas previsionales, ONG's y laboratorios privados utilizando una combinación de pruebas serológicas, ELISA 4ta Generación y Western Blot.

Nota: Los centros que realizan la prueba de ELISA deberán ser autorizados por el CNDR-MINSA para cumplir la función de laboratorio de referencia departamental para el diagnóstico de VIH.

## **Toma Manejo y Envío de Muestras**

Es necesario realizar la toma de muestra venosa o capilar cumpliendo con las buenas prácticas de laboratorio para garantizar la correcta atención y diagnóstico de las personas que soliciten el servicio.

El flebotomista debe informar al paciente acerca del procedimiento a realizar y solicitar su consentimiento verbal, además, debe solicitar el consentimiento por escrito para su confirmación visual.

Todo el personal de laboratorios o de cualquier establecimiento de salud debe de cumplir con las normas básicas de Bioseguridad.

## **Obtención y Preparación de Muestras**

Una vez realizada la toma de muestra es indispensable garantizar las condiciones y volúmenes adecuados para su análisis. Para ello el personal a cargo debe conocer los requerimientos de muestra según el tipo de análisis.

## **Envío y Transporte de Muestras de Sangre Total, Muestra Seca, Suero y Plasma.**

La calidad de los resultados de los análisis del laboratorio está íntimamente relacionada con la calidad de la toma, manejo y envío de la muestra hasta llegar a las instalaciones del laboratorio donde serán analizadas.

El envío de muestras debe realizarse tomando en cuenta todas las indicaciones de seguridad biológica, manejo y envío de muestras lo que garantiza el correcto análisis de las mismas.

## Procedimientos Analíticos

No existe ninguna manifestación clínica que sea característica de la infección VIH o del sida y aunque la presencia de alguna de ellas pueda sugerir en un contexto determinado la presencia de la infección, no es posible establecer un diagnóstico clínico de la enfermedad por lo que éste solo se puede establecer de un modo definitivo por técnicas de laboratorio. Por medio de ellas es posible detectar al propio virus o algunos de sus componentes.

La práctica habitual es detectar el antígeno p24 y los anticuerpos específicos que el organismo produce como respuesta a la presencia del virus (métodos serológicos indirectos) o la amplificación de una parte del material genético del virus, por ejemplo cuantificación de la carga viral por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y el ADN pro viral en el caso de los recién nacidos (métodos directos).

### **a. Prueba Rápida A1 “Ensayo para la detección de antígenos o anticuerpos VIH1/2**

El uso de esta técnica permite detectar Ag p24 y/o Ac anti-VIH 1/2 en suero, plasma y sangre total (muestra capilar) del paciente mediante inmunoensayo rápido basado en un principio de reacción tipo sándwich Inmunocromatográfica.

### **b. Prueba Rápida A2 “Ensayo para la detección de anticuerpos anti-VIH1/2**

El uso de esta técnica permite detectar Ac anti-VIH 1/2 en suero, plasma y sangre total (muestra capilar) del paciente mediante inmunoensayo rápido basado en un principio de reacción tipo sándwich Inmunocromatográfica.

### **c. Ensayo para la detección de Antígeno p24 y anticuerpos anti-VIH1/2 por ELISA 4ta generación:**

El uso de esta técnica permite detectar Ag p24 y Ac anti-VIH 1/2 en suero y plasma del paciente mediante inmunoensayo de tipo ELISA de 4ta generación de principio de reacción tipo sándwich.

#### **d. Ensayo para la detección de anticuerpos VIH 1/2 por western Blot**

El uso de esta técnica permite detectar Ac anti-VIH 1/2 en suero y plasma del paciente mediante Inmunoensayo cualitativo.

#### **e. Ensayo para la detección de carga viral de VIH 1 por el método de PCR en tiempo Real.**

El uso de esta técnica en el diagnóstico y tratamiento del sida permite la cuantificación de VIH1 que se encuentra en el plasma. El método empleado consiste en técnicas de biología molecular usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La carga viral resulta un marcador de la actividad del VIH-1 y junto con la determinación de linfocitos CD4 miden la competencia del sistema inmune del paciente. La determinación de la carga viral plasmática del VIH es el marcador de respuesta al tratamiento antirretroviral más sensible, rápido y fiable. La carga viral se correlaciona directamente con el pronóstico clínico, el riesgo de transmisión viral y el recuento de CD4. Es una herramienta básica en el manejo clínico del paciente seropositivo.

#### **f. Ensayo para el recuento de linfocitos T CD3/CD4/CD8**

Esta técnica realizada por el principio de citometría de flujo, permite conocer el número absoluto de sub poblaciones de linfocitos T por ml de sangre periférica. Es importante para el estudio del estado del sistema inmunológico de pacientes infectados con el virus del VIH.

La reducción progresiva de Linfocitos T está altamente asociada con la severidad del VIH y un pronóstico desfavorable.

#### **g. Ensayo para la detección de ADN pro viral del VIH 1**

Desde el nacimiento y aproximadamente hasta los 18 meses de edad los hijos de madres seropositivas al VIH pueden presentar pruebas serológicas (detección de Ac) positivas,

lo cual no es necesariamente indicativo de infección ya que dichos Ac pueden ser inmunoglobulinas G de origen materno que cruzaron la placenta durante el embarazo.

La amplificación del ADN proviral del VIH-1, constituye un método preferencial para el diagnóstico perinatal, es un ensayo cualitativo in vitro para la detección del ADN proviral de VIH-1 en sangre total y/o muestra seca.

### **Importancia de la distribución periódica de los paneles de Proficiencia**

Estos paneles que usan muestra seca en tubo son de muy bajo costo, fáciles de realizar, se pueden trabajar con las condiciones mínimas presentes dentro de un laboratorio y además sirven como ayuda constante en el diagnóstico.

Dichos paneles pueden ser trasladados sin riesgo a derrames biológicos a las zonas más alejadas del país y sin necesidad de cadena fría pues no pierden su propiedad.

Consiste en la entrega dos veces al año de paneles de Proficiencia con el fin de evaluar las competencias del personal de salud encargado de la realización de las pruebas rápidas de VIH y de aportar un mayor seguimiento a los lineamientos de la calidad normados y estandarizados a nivel internacional y nacional por el centro nacional de diagnóstico y referencia de MINSA; por lo tanto se adoptan medidas correctivas en base a los resultados obtenidos.

Se establece un modo de trabajo disciplinado y ordenado para los analistas que son parte de la red de MINSA. Gestiona y organiza que los insumos concernientes a las pruebas rápidas de VIH estén en tiempo y forma en cada una de las unidades de salud.

## **DISEÑO METODOLOGICO**

### **Tipo de estudio:**

Retrospectivo de corte transversal.

### **Universo y muestra.**

El universo consta de 37 unidades de salud centinelas a nivel de SILAIS-Managua.

La muestra la constituyen 29 unidades de salud centinelas del SILAIS-Managua que representa un 78% del total.

### **Tipo de muestreo**

No probabilístico por conveniencia.

### **Criterios de Inclusión**

- Que los laboratorios de las unidades de salud a las que se les aplicara el control de calidad sean del SILAIS-Managua.
- Que los participantes hayan recibido la capacitación.
- Que en los centros de salud y hospitales estén realizando las pruebas de VIH.

### **Criterios de exclusión**

- Laboratorios de la red que no procesen pruebas rápidas para el diagnóstico de VIH.
- Que los participantes no sean Bioanalista o técnicos de los laboratorios donde se realizó el control de calidad.
- Que sean centros de control y prevención de VIH financiados por Instituciones No Gubernamentales.

## **Método e instrumento de recolección**

### 1. Método

Consiste en tomar una alícuota de suero ya conocida sea esta positiva o negativa, seguidamente debe ser codificada en sus respectivos viales para muestra, colocarles un colorante de pastelería (Green Dye) y dejar secar durante toda la noche, para luego poder ser procesada esto con una fecha límite de vencimiento por parte del personal de salud capacitado para realizar pruebas rápidas de VIH, se reconstituye con una solución buffer que contiene Tween y de esta manera la muestra contenida en el panel está indicada para ser procesada como espécimen de paciente, aplicando todas las medidas de bioseguridad y dando seguimiento al algoritmo diagnóstico del país.

### 2. Diseño del instrumento

Este se realizó mediante fichas de evaluación que consistía en analizar el proceso del llenado de documentación, asimismo la manera en que se cuantifica el llenado de la documentación es a través de los acápites plasmados con un puntaje determinado en la hoja de formulario entregada a cada analista, que posteriormente será revisada mediante una base de datos para conocer la calidad del diagnóstico.

### 3. Procesamiento y análisis de los datos

El procesamiento de los datos se realizó de forma digitalizada, para la elaboración del documento se utilizaron los programas Microsoft Word para los textos, Microsoft Excel para la elaboración de las tablas y gráficas y Microsoft Power point para la elaboración de la presentación visual.

## **Procedimientos**

### 1. Autorización

Se realizó un perfil de monografía con una breve explicación del tema en estudio a fin de obtener la aprobación por parte de las autoridades del Instituto Politécnico de la Salud y de esta manera proseguir con el estudio.

Por medio de un planteamiento respecto al tema en estudio al doctor y director del departamento de virología del CNDR Dr. Ángel Balmaseda.

Posterior, el planteamiento y aceptación por parte del responsable del área de VIH del CNDR.

A lo sumo, la coordinación y futura aceptación de los jefes de laboratorio de cada uno de los hospitales y centros de salud donde se realizó el estudio.

## 2. Área de estudio

Hospitales primarios y de referencia nacional así como centros de salud del SILAIS-Managua a los cuales se les asignó una codificación previa. Siendo detallada de la siguiente manera:

No. De Unidad	Nombre de la Unidad	Código Asignado	Significado.
1	Centro de Salud Xolotlan	LRO18-01	Diseñado con el fin de proteger la privacidad de las unidades participantes.

## 3. Recursos

### 3.1 Recursos humanos

- Estudiantes de la carrera de microbiología que realizan el estudio para su monografía.
- Responsable del laboratorio de VIH del CNDR encargado del monitoreo del estudio.

- Analistas de las áreas de procesamiento para pruebas rápidas en las distintas unidades de salud evaluadas.

### 3.2 Recursos financieros:

Los recursos financieros necesarios para llevar a cabo esta investigación fueron suministrados por el Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia de MINSA en conjunto con la Organización Panamericana de la Salud (OPS), quienes facilitaron toda la logística, transporte, equipos y materiales requeridos para la elaboración del estudio.

### 4. Proceso u Organización del estudio

El estudio paso por un proceso de consultoría primeramente como interesados en la investigación se coordinó con el director del departamento de Virología del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia de MINSA, DR. Ángel Balmasedaa quien se solicitó el permiso para poder realizar la monografía en el departamento de virología.

Una vez aprobada la solicitud se organizó con el encargado de área de VIH del CNDR-MINSA Msc. Felipe Torres Meneses para dar paso a la realización del estudio.

Seguidamente se procedió a la elaboración del tema objeto de estudio en conjunto con nuestro tutor y a su vez se elaboraron los objetivos tanto generales como específicos.

### 5. Coordinación

La coordinación del estudio estuvo a cargo de nuestro tutor y responsable de área de VIH del centro nacional de diagnóstico y referencia CNDR-MINSA quien nos sugirió el tema a desarrollar para la monografía y nos apoyó brindándonos todos los recursos para la elaboración de nuestra tesis.

### 6. Tiempo

El estudio fue realizado en tres momentos de los cuales en dos de ellos se pudo estar presente ya que el primer muestreo se realizó en el año 2013 cuando se trajo por primera vez la técnica de la muestra seca en tubo y los otros dos se llevaron a cabo en

septiembre de 2015 y enero de 2016, teniendo cada uno de ellos una codificación que determina el año y el número de ronda evaluada.

<b>Nombre de área</b>	<b>No. de ronda</b>	<b>Año</b>
<b>VIH</b>	01	13

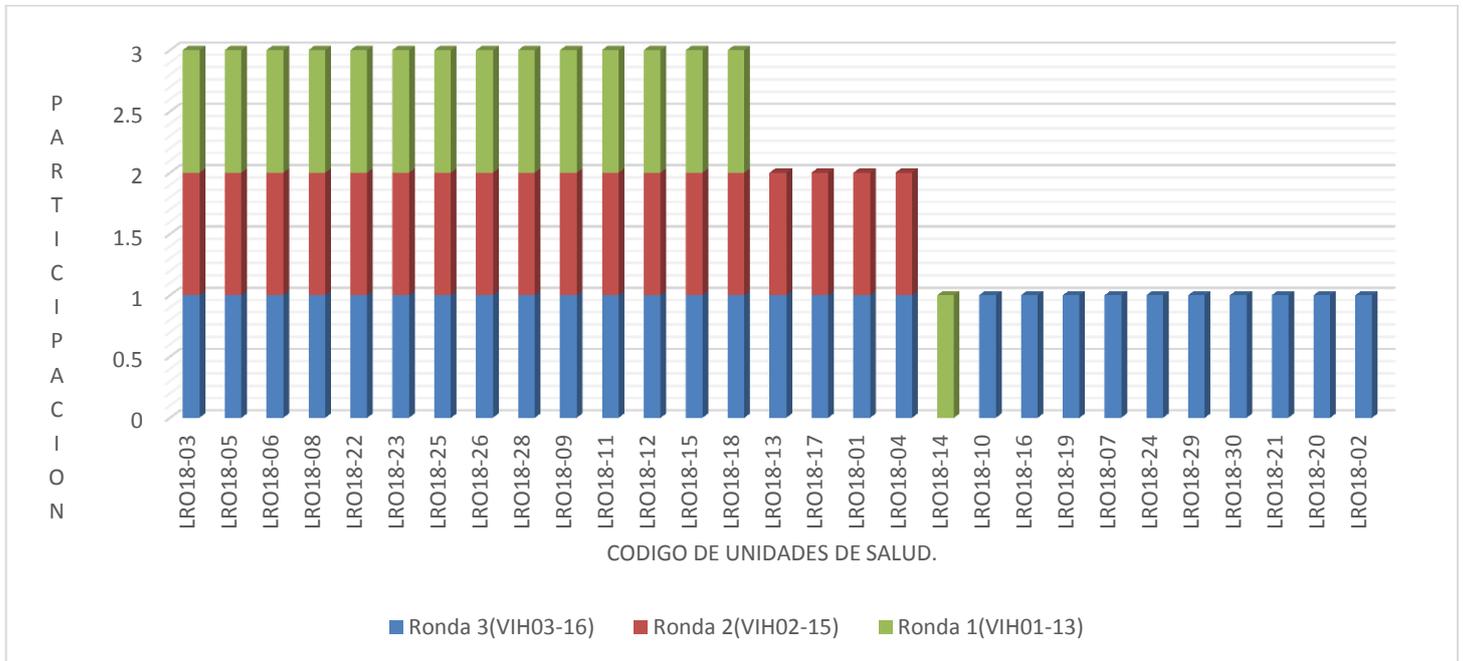
## Operacionalización de variables

Variable Conceptual	Sub-variables	Indicador	Categoría o Valores	Técnica de Recolección de datos
<b>Las etapas de la elaboración de los paneles de Proficiencia, consiste en realizar la documentación, la caracterización de las muestras y la preparación de materiales necesarios para el procesamiento de las mismas.</b>	Documentación	Fecha de Expiración Seguimiento del Algoritmo. Fecha de Reconstitución. Fecha de Realización. Fecha de Envío de Resultados.	SI - No	Formularios  Hojas de llenado de evaluación.
	Kit de viales de pruebas.	Reactor No Reactor	Positivo  Negativo	
<b>Los resultados que se obtuvieron mediante un proceso sistemático de medición, llevado a cabo</b>	Hoja de evaluación para la documentación	Puntuaciones  0 – 10	Insatisfactorio	Procesamiento en base de datos en Microsoft Excel mediante programación del centro
	Hoja de evaluación para el procesamiento	0 - 90	Regular.	

<b>en diferentes tiempos evaluando una serie de parámetros.</b>	Evaluación Total	0 -100	Satisfactorio.	para el control de enfermedades (CDC)
<b>(Sin variable conceptual)</b>	Kit de distribución de paneles de Proficiencia para todas las unidades de salud.	Entrega de paneles 2 veces por años para el control de calidad en las unidades correspondientes al SILAIS-Managua.	174 Viales con muestras ciegas a evaluar.  Positivas  Negativas	Hojas de evaluación para cada unidad de salud, informe y posterior valoración

## ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS

**Grafico 1:** Unidades de salud que se evaluaron en el control de la calidad externo de acuerdo a su participación en las rondas realizadas.

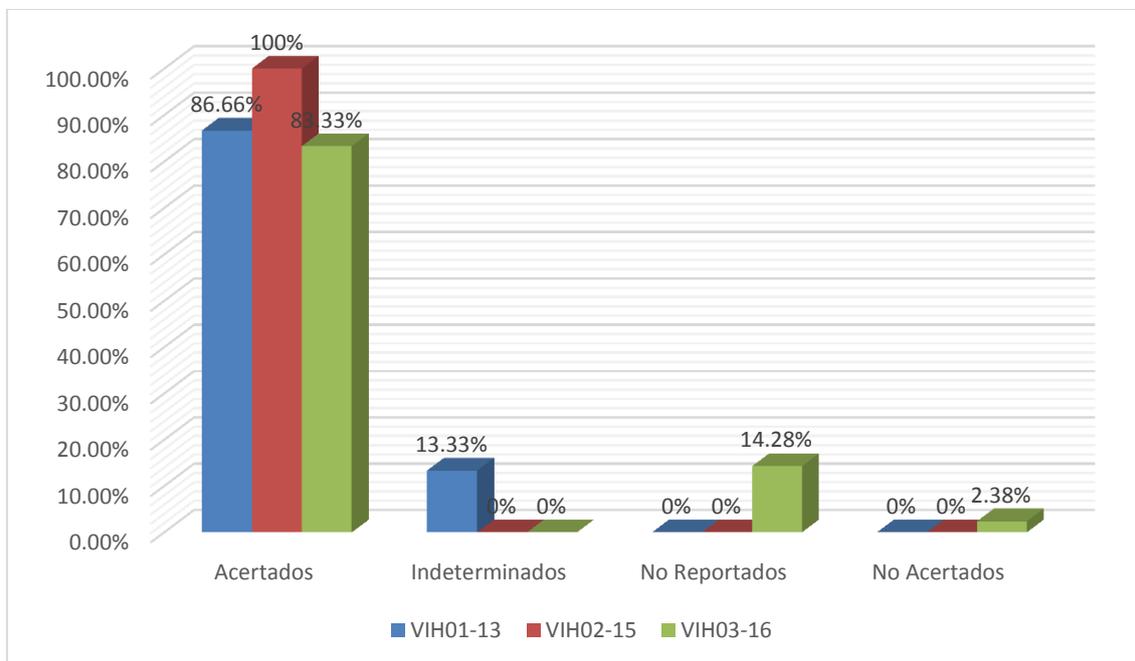


La grafica 1 nos muestra la cantidad de centros asistenciales que participaron en el total de las rondas efectuadas para el control externo de la calidad, en 2013 se conto con un plan piloto que consistía en evaluar y capacitar a 15 unidades de salud, realizando una capacitación asistencial de parte del CNDR para los participantes.

En septiembre del año 2015 se llevo a cabo la segunda evaluación para la evaluación del panel de los paneles de proficiencia para el control de calidad para dar seguimiento y se agregaron 4 unidades más, las cuales contaron con un excelente desempeño a lo largo del proceso.

En febrero del año 2016 se efectuó la tercera ronda para la evaluación del control externo de la calidad se agregaron 10 unidades más de salud de las cuales su primera capacitación la recibieron in situ, en este punto se refleja que la mejora constante a lo largo de este estudio termino siendo un factor determinante.

**Grafico 2:** Resultados obtenidos versus resultados esperados de las muestras positivas incluidas en el total de las rondas realizadas para el control externo de la calidad.



Fuente: Tabla No.2

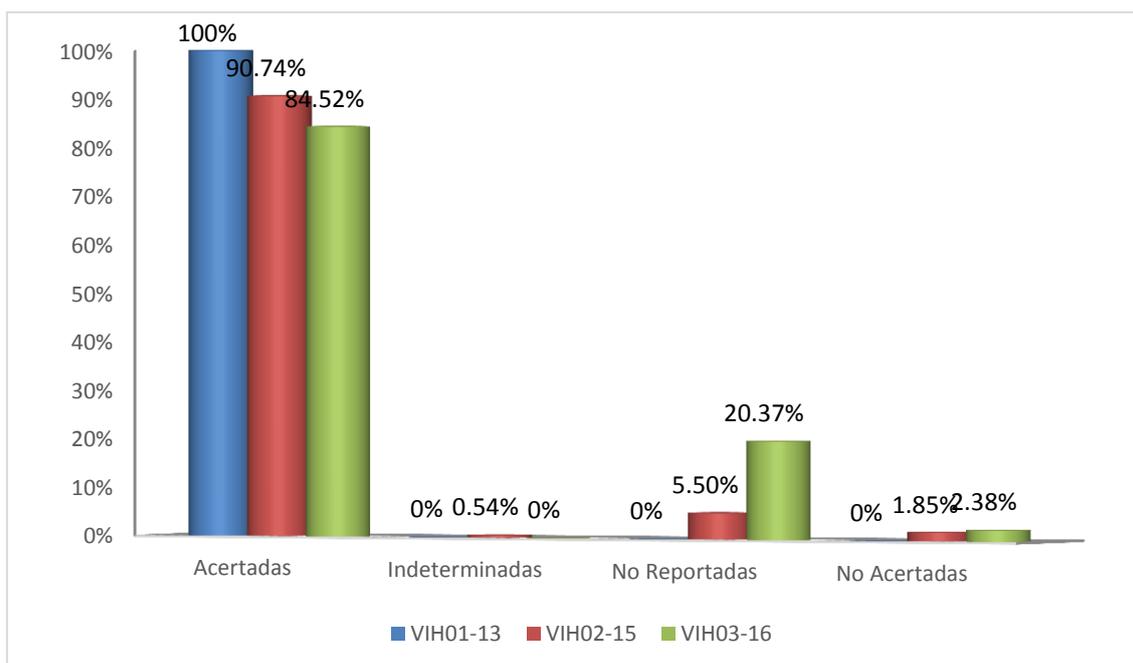
El control externo de la calidad efectuado con los paneles de Proficiencia determinaron que los valores acertados en la Ronda 1 (VIH01-13) fue de un 86.66%. Y reportaron erróneamente un 13.33% como indeterminados.

En la segunda ronda (VIH02-15) se obtuvo un 100% de reportes similares respecto a las muestras positivas.

En la Ronda No. 3 (VIH03-16) los valores acertados constituyeron un 83.33% y no se reportaron muestras como indeterminas. Un 14.28% no reporto el estado final del estatus de las muestras del panel. 2.38 % informaron discrepancias en los análisis.

La cantidad de aciertos presenta variaciones en las diferentes rondas; en la ronda 2 fue donde se obtuvo el 100% de aciertos al momento de diagnosticar todas las pruebas que realmente fueron caracterizadas como positivas. en la ronda 1 reportaron un 13.3% como indeterminados lo que evidencia un error en la interpretación de las pruebas rápidas ya que dicho termino no se utiliza según las indicaciones establecidas en los insertos de pruebas, si en la práctica diaria se reportan análisis como indeterminados esto conllevaría a generar atrasos en el diagnostico a los pacientes, incremento de costos. La ronda No. 3 su principal detalle se encuentra en los resultados no acertados en un 2.38%, lo que nos induce a pensar que una mínima cantidad del personal de laboratorio que proceso el panel, presentó deficiencias en la fase analítica y post analítica.

**Grafico 3:** Resultados obtenidos versus resultados esperados de las muestras incluidas negativas, en el total de las rondas realizadas para el control externo de la calidad.



Fuente: Tabla No. 3.

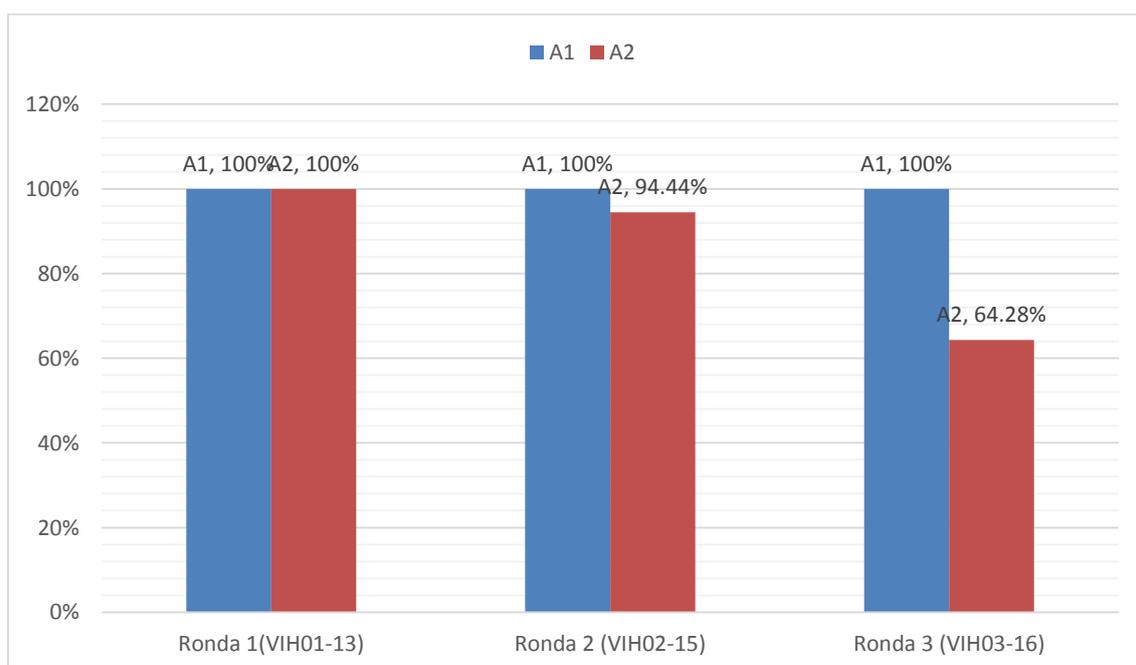
En base a las tres rondas reportadas se puede observar que donde hubo mejor acierto fue en la primera ronda, que tuvo un rendimiento del 100%.

En la ronda 2 se obtuvo un 90.74% de similitud en los resultados, 1.85% no acertados y 5.5 no reportaron estado final. Además informaron erróneamente 0.54% de indeterminados.

Para la tercera ronda se obtuvo un 100% de acierto en los paneles procesados, se logró disminuir la cantidad de reportes de muestras indeterminadas y estado final de muestras no reportado.

En conclusión podemos afirmar que en la primera ronda hubo un excelente desempeño en el procesamiento de los paneles respecto a la ronda 2 y 3. Consideramos que influyó el hecho de que para la primera ronda se contó con financiamiento para capacitar a todos los participantes, sin embargo en las siguientes rondas no fue posible hacer el taller de capacitación. Pero con finalidad de dar seguimiento a la implementación del control externo de la calidad usando MST, en la ronda 2 y 3 se capacito in situ a cada uno de los analistas incluidos como nuevos participantes. El déficit de rendimiento en la ronda 2 y 3 se debió a que en algunos casos se capacito al analista que recibió el panel, Y quien proceso y reporto los resultados fue otro recurso.

**Grafico 4:** Pruebas rápidas de VIH utilizadas en las unidades de salud del SILAIS Managua, que participaron en las tres rondas, para el procesamiento de las muestras de los Paneles de Proficiencia de VIH.



Fuente: Tabla No. 4

Para la evaluación de los análisis de resultados de cada una de las rondas se aplicó el algoritmo diagnóstico de VIH establecido para Nicaragua, en el cual estipula la utilización de una prueba A1 y una prueba A2, en todos los centros asistenciales que pertenecen a la red diagnóstica de VIH. A todas las muestras se les hace A1 y solamente a las que resulten reactivas en A1.

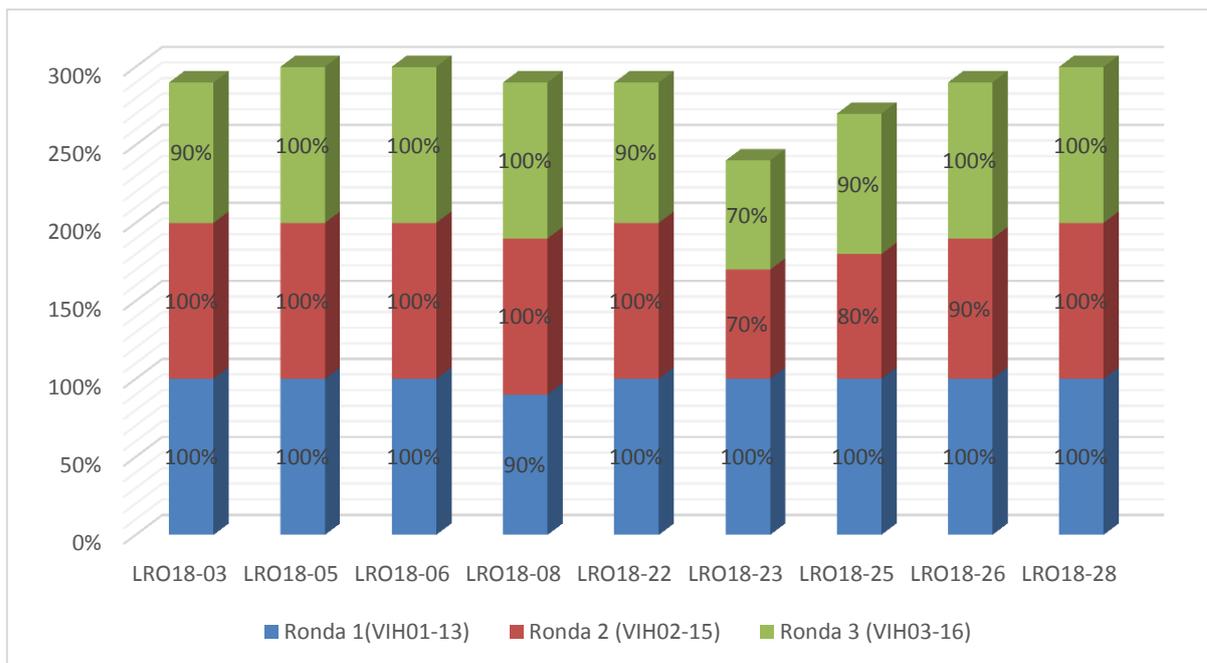
En la Ronda 1 (VIH01-13) todas las 15 unidades de salud que participaron aplicaron adecuadamente el algoritmo diagnóstico ya que a todas las muestras reactivas en A1 les hicieron A2.

Para la realización del panel de Proficiencia de la Ronda 2 (VIH02-15) las 18 unidades de salud que participaron utilizaron A1 para todas las muestras pero le hicieron A2 solo a un 94.4%.

En la realización de la Ronda 3 (VIH03-16) se observa que un 100% utilizaron las pruebas A1 y solamente un 64.28% realizaron las pruebas A2 a las muestras que dieron resultados reactivos en A1.

Como podemos observar en las dos últimas rondas no fue posible la aplicación del algoritmo diagnóstico ya que las unidades tenían un déficit respecto al abastecimiento de reactivos. Esta situación puede conllevar a afectar el flujo de pruebas que se deben realizar en las unidades de salud para brindar un diagnóstico de calidad a la población.

**Grafico 5:** Calificaciones obtenidas en el llenado de la documentación para el procesamiento de los paneles de proficiencia de VIH, para el control externo de la calidad de las pruebas rápidas de VIH. Por parte de los Centros de Salud participantes en las tres rondas.



Fuente: Tabla No. 5

El llenado de la documentación consiste en hacer énfasis en que el personal que trabaja en el diagnóstico de VIH, promueva el hábito de implementar una adecuada gestión de la calidad a través del registro de datos. Además esto permite poner en práctica un principio básico de gestión de la calidad que implica documentar todo lo que se hace. Entre los aspectos evaluados con la documentación tenemos: la fecha de vencimiento, el seguimiento del algoritmo, la firma de un supervisor encargado del área, fecha en que reciben la muestra, fecha del comienzo en el procesamiento de la muestra (Reconstitución), fecha en que realizan y se emiten los resultados.

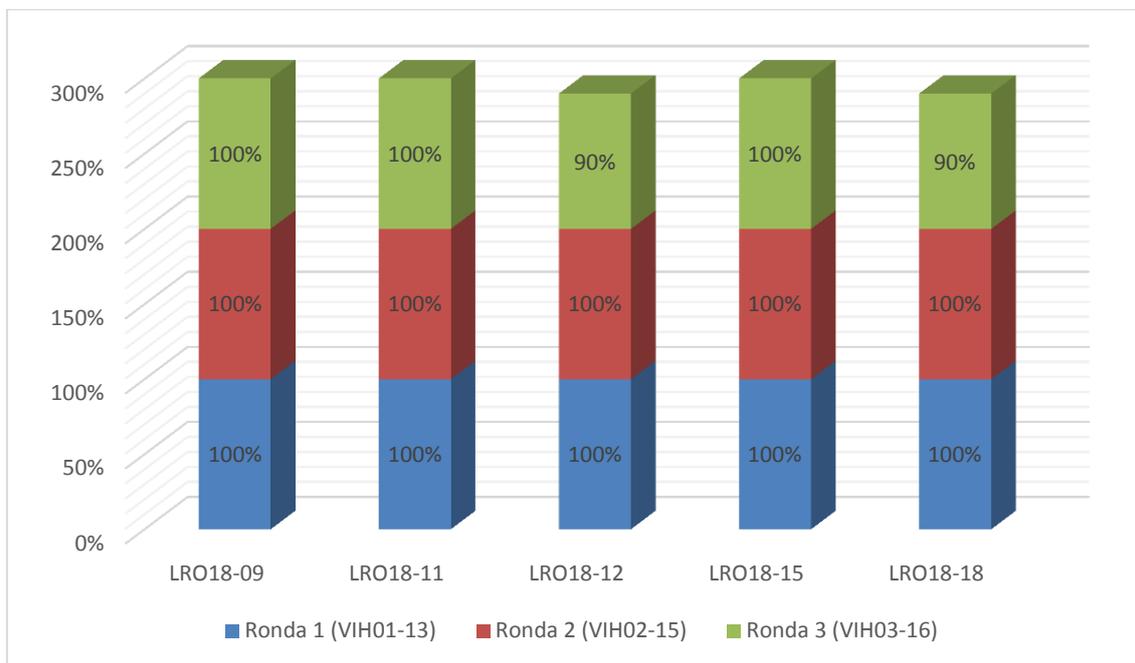
En la primera ronda solamente una de las unidades obtuvo un 90% el resto obtuvo un 100%, por lo que podemos aseverar que el plan piloto fue exitoso.

En la segunda ronda 6 obtuvieron 100% y 3 de ellos un valor de 90% o menos.

Para la tercera ronda 5 alcanzaron un porcentaje de 100% y 4 entre 70 y 90%.

Consideramos que dos principios básicos del sistema de gestión de la calidad como son; la mejora continua a través de las capacitaciones y el hábito del llenado adecuado de la documentación son factores determinantes en las fases: pre analítica, analítica y post analítica en las buenas prácticas de laboratorio.

**Grafico 6:** Calificaciones obtenidas por los Hospitales de Referencia en el llenado de la documentación para el procesamiento de los paneles de proficiencia de VIH para el control externo de la calidad de las pruebas rápidas de VIH.



Fuente: Tabla No. 6.

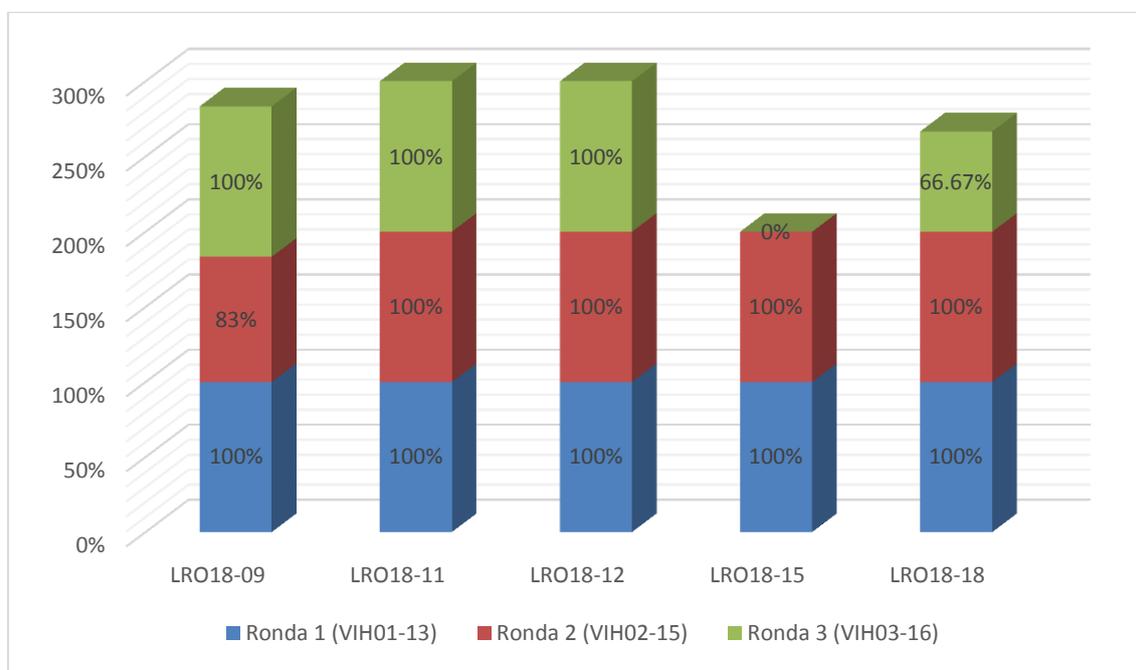
Los aspectos evaluados en el llenado de la documentación por parte de los hospitales de referencia nacional participantes en las tres rondas, consistieron en: hora de elución de las muestras, fecha de expiración del panel, nombre, lote y fecha de vencimiento de las pruebas rápidas que se utilizaron, nombre del encargado de laboratorio y fecha de envío de las muestras, los hospitales cuyos códigos corresponden a LRO18-09, LRO18-11 Y LRO18-15 llenaron adecuadamente toda la documentación y obtuvieron un puntaje de 100%.

Las unidades con los códigos LRO18-12 Y LRO18-18 obtuvieron el 100% para las rondas 1 y 2 y un 90% para la ronda 3, es decir que en el nivel más alto de atención de salud el llenado de la documentación se cumple tal cual se orienta según las normas ya establecidas como país y muy particularmente como el nivel central lo estipula.

En base a lo planteado y a los resultados obtenidos, se considera que en estos centros es donde principalmente se debe llenar toda la documentación y seguir un estricto control de calidad de las muestras, pues es en estos centros donde se les da el

seguimiento y además se les brinda tratamiento a los pacientes que resulten ser seropositivos a VIH.

**Grafico 7:** Puntaje obtenido en el procesamiento de los paneles de Proficiencia utilizando MST para el control externo de calidad de los Hospitales de Referencia.



Fuente: Tabla No. 7

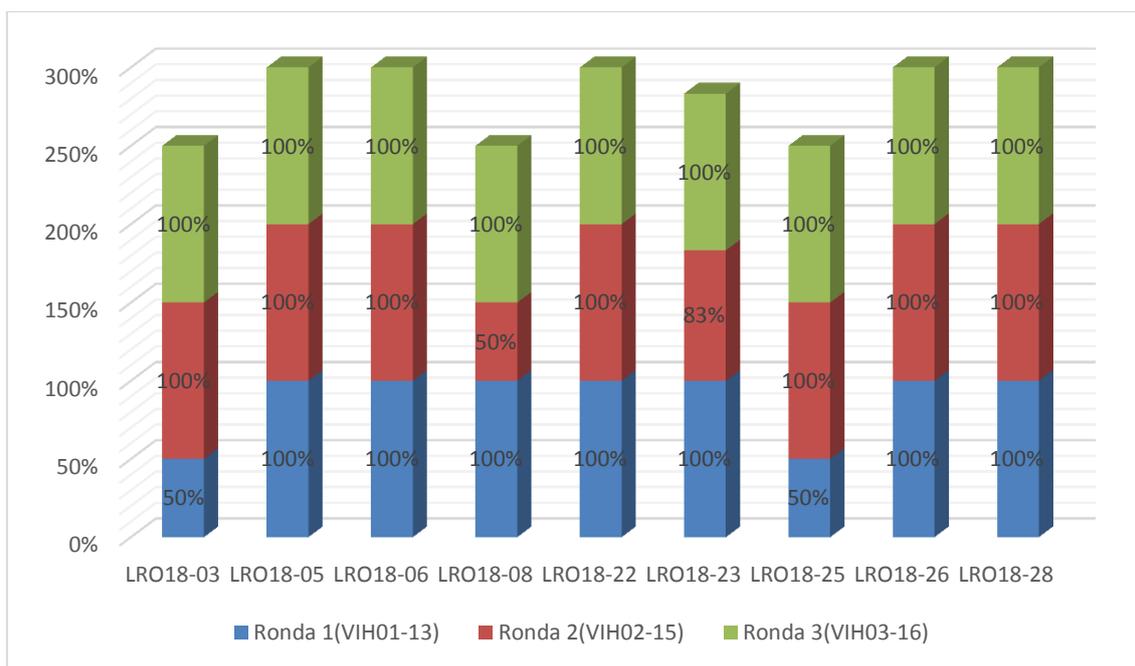
La Ronda 1 (VIH01-13) se observa que todas las unidades tuvieron un rendimiento del 100%, en el procesamiento de las muestras del panel.

En la evaluación de la Ronda 2 (VIH02-15) podemos definir que los códigos LRO18-11 a la LRO18-18 obtuvieron un 100% y la unidad de salud LRO18-09 obtuvo un 83.33% lo que implica un rendimiento insatisfactorio al procesar el panel.

La realización del panel de la Ronda 3 (VIH03-16) los códigos LRO18-09, LRO18-11 y LRO18-12 tuvieron un porcentaje de 100%, la unidad de salud LRO18-15 un 0% debido a que proceso las muestras y los resultados fueron acertados, el problema que tuvo es que no reporto el estado final de cada una de las muestras. Y la unidad código LRO18-18 un 66.67% presento problemas en el reporte de los resultados.

En conclusión en las rondas 2 y 3 tres unidades participantes obtuvieron bajo rendimiento, consideramos que no siguieron de forma correcta las instrucciones para procesar el panel

**Grafico 8:** Puntaje obtenido en el procesamiento de los paneles de Proficiencia utilizando MST para el control externo de calidad de los Centros de Salud.



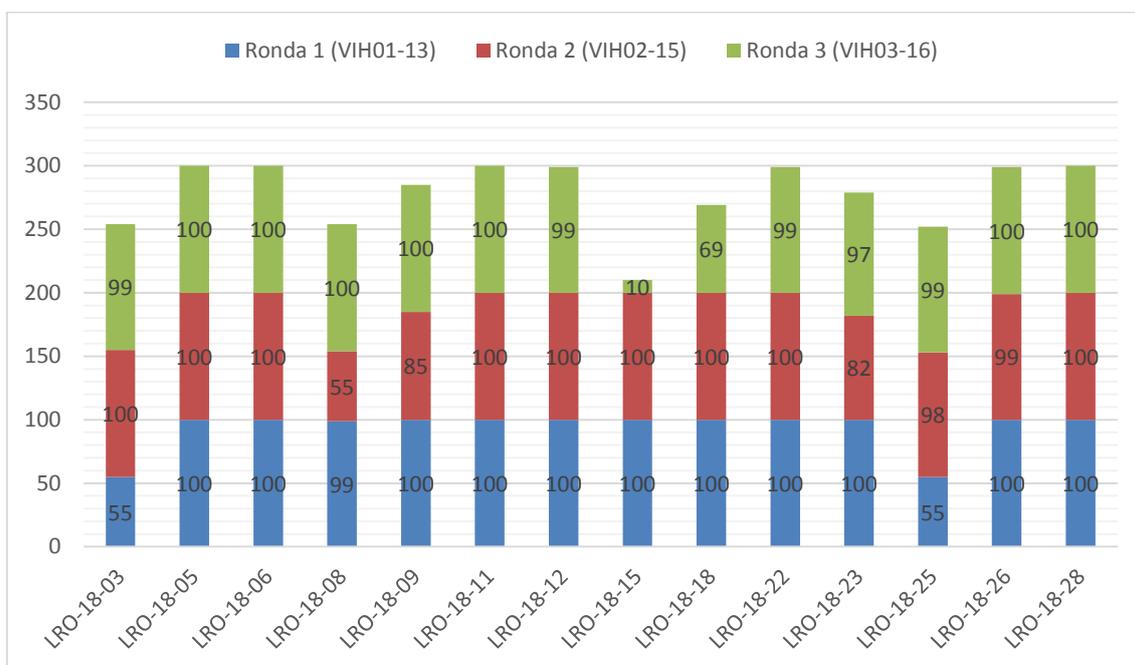
Fuente: Tabla No. 8

El procesamiento de las muestras es uno de los aspectos más importante y más delicados, ya que de ello depende el resultado final. En las tres rondas evaluadas en los centros de salud 5 de ellos mantuvieron un rendimiento del 100%, lo cual evidencia el adecuado desempeño del personal que ejecuta el procesamiento de las pruebas rápidas de VIH. 4 de las unidades evaluadas obtuvieron en 2 ocasiones un rendimiento de 100% y en una de las rondas obtuvieron un puntaje de 50 y 83% lo cual queda en evidencia que tuvieron deficiencias al momento del procesamiento de los paneles.

Es de vital importancia emitir un resultado confiable y de calidad a todas las personas que demandan una prueba de VIH. Errores cometidos en el momento de procesar las muestras o llenar la documentación puede provocar implicaciones de diversas índoles

tales como; aspectos legales, morales, sociales y económicos. Es por todos estos motivos que recalcamos en la necesidad dar seguimiento a todas las normas y regulaciones establecidas para el correcto desempeño cuando hacemos una prueba que va a servir para dar un diagnóstico de calidad a los usuarios. Cabe señalar que el personal de salud o el analista siempre debe trabajar en pro de mejorar la calidad con capacitaciones constantes, con el uso de buenas prácticas de laboratorio, con el uso de documentación y sobre aplicar y dar fiel cumplimiento al algoritmo diagnóstico.

**Grafico 9:** Puntaje final obtenido por todas las unidades de salud participantes en las tres rondas realizadas con los paneles de proficiencia de VIH usando MST para el control externo de la calidad de las pruebas rápidas de VIH.



Fuente: Tabla 9.

Esta grafica nos muestra el puntaje total (Incluye el llenado de la documentación y el procesamiento del panel). El llenado de la documentación se valoró con 10 puntos y el correcto procesamiento de las muestras se valoró en 90 puntos, los resultados reflejaron lo siguiente: 7 unidades mantuvieron un rendimiento satisfactorio 80% -100% en ambos aspectos evaluados, dichas unidades conforman el 50% del total de los centros asistenciales. El 50% de las unidades tuvieron niveles inferiores al 80%, estas

reflejaron cometer errores al menos en 1 o más parámetros evaluados para la puntuación final.

Mantener un buen desempeño cuando se procesen los paneles de control de calidad o las muestras de pacientes en estudio, es un aspecto de vital importancia para los analistas, ya que de ello depende en gran medida la salud de la población. Si no damos cumplimiento a este y otros aspectos relacionados con las buenas prácticas de gestión de la calidad podemos influir negativamente en detrimento de la economía del país, el prestigio de nuestras instituciones. Además estigma y discriminación a niveles sociales para nuestros pacientes, por no dar un diagnóstico adecuado en tiempo y forma. De tal manera debe de ser un compromiso para cada analista y para cada institución la mejora continua para poder obtener altos rendimientos y el mantener un servicio de salud con calidad y calidez para toda la población.

## CONCLUSIONES

- Mediante los resultados obtenidos en esta investigación se logró constatar que los paneles de proficiencia son de gran utilidad para el control externo de la calidad. Y además dicha técnica es viable para ser aplicada periódicamente a nivel Nacional.
- A través de nuestra participación activa en las dos rondas desarrolladas para efectuar control externo de la calidad por medio de paneles de proficiencia de VIH, logramos aprender cada una de las etapas para la producción de dichos paneles.
- Al comparar los resultados de las tres rondas se evaluó el rendimiento de todas unidades de salud participantes, y consideramos que el puntaje alcanzado refleja mayoritariamente un puntaje satisfactorio.
- La importancia de la distribución periódica de los Paneles de Proficiencia permite llevar a cabo un monitoreo dos o tres veces al año para ver el comportamiento de la calidad de los resultados de VIH, además se hace una comparación de datos anteriores para tomar medidas correctivas con la finalidad de mejorar la red diagnosticad de VIH.

## RECOMENDACIONES

- Que el Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) elabore periódicamente estos paneles, cuyo desempeño es excelente para el control externo de la calidad.
- El Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) de continuidad al proceso de capacitación en paneles de proficiencia usando MST a nivel de todos los SILAIS del país, según normas establecidas para una mejora continua de la calidad.
- A todo el personal de laboratorio de las unidades de salud se sugiere elaborar procedimientos operativos estándar (POE's) con los cuales puedan tener una mejor orientación para el procesamiento de las pruebas rápidas de VIH utilizadas como método diagnóstico.
- A los analistas de cada una de las unidades de salud se les recomienda hacer un protocolo de trabajo alternativo, para llevar un control interno de la calidad.
- Que el personal de laboratorio lea y aplique todo lo establecido en la normativa 091: "Guía de procedimientos para el diagnóstico y seguimiento de VIH"
- Que se realice control de calidad externo a instituciones privadas que brindan servicios de salud, por parte del CNDR.

## Bibliografía

- 1) al., K. a. (2013). *Lab Forum*. Obtenido de Lab Forum.
- 2) al., K. e. (6 de Junio de 2015). *Lab Forum*. Obtenido de Lab Forum:  
<http://labforum.foroactivo.com/t4-reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa-pcr>
- 3) Gomez, E. C. (2016). GUÍA TÉCNICA PARA CONTROL DE CALIDAD DE MEDICIONES CUANTITATIVAS EN EL LABORATORIO CLÍNICO. *Instituto de Salud Publica*, 10-12.
- 4) Guzman., F. T. (13 de Octubre de 2013). *Organizacion Aladdiv*. Obtenido de Aladdiv.org: <http://www.aladdiv.org.br/wp-content/uploads/6-freddy-tinajeros-validacion-algoritmos-vih-cth.pdf>
- 5) *Infeciosas HR*. (6 de Junio de 2012). Obtenido de <http://infeciosashr.org/wp-content/uploads/2016/03/VALIDACION%20%80%A1N-DE-PRUEBAS-DE-TAMIZAJE-Y-CONTROL-DE-CALIDAD.pdf>
- 6) Jiang, Y. (13 de Julio de 2008). *Oxford Journal*. Obtenido de Oxford: progress in establishing a well-coordinated HIV laboratory network and QA systems. However, the coverage and intensity of HIV testing and quality assurance programmes need to be strengthened so as to ensure that more infected persons are diagnosed and tha
- 7) *ONUSIDA*. (15 de 3 de 2016). Obtenido de <http://www.unaids.org/es/resources/campaigns/HowAIDSchangedeverything/factsheet>
- 8) *OPS/PAHO*. (14 de enero de 2014). Obtenido de Organizacion Panamericana de la Salud :  
[http://www2.paho.org/Hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2453%3A2010-diagnostic-quality&catid=3381%3AAmalaria-lines-work&Itemid=3624&lang=es](http://www2.paho.org/Hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2453%3A2010-diagnostic-quality&catid=3381%3AAmalaria-lines-work&Itemid=3624&lang=es)
- 9) Orlando C. Ferreira Junior, C. F. (martes de junio de 2005). *aids.gov*. Obtenido de [aids.gov: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/HIVRapidTestBrazil\\_0.pdf](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/HIVRapidTestBrazil_0.pdf)
- 10) Prieto. (10 de Enero de 2015). *SIDALAVA*. Obtenido de <http://sidalava.org/el-vih/historia/>
- 11) Rosalyn Sussman Yallow, S. B. (19 de Diciembre de 2015). *Wikipedia*. Obtenido de Wikipedia: <https://en.wikipedia.org/wiki/ELISA#History>
- 12) Stark, T. (Martes 23 de Julio de 2015). *Gen Hunter*. Obtenido de Gen Hunter:  
[http://www.genhunter.com/cgi-local/news\\_display.pl?action=article&date=1329945037](http://www.genhunter.com/cgi-local/news_display.pl?action=article&date=1329945037)

13) Tinoco, L. (2 de Junio de 2012). *Sinonimo de Calidad*. Obtenido de <http://www.sincal.org/articulo42-cambios-de-la-norma-iso-15189-version-2007-a-la-2012-aplicable-a-laboratorios-clinicos.html>

# ANEXOS



## Centros de salud y hospitales centinelas SILAIS-Managua

Estimados directores y jefes de laboratorio sirva la presente para presentarle a los estudiantes Oscarlett Ampié, Yader Jarquín y Godofredo Sobalvarro, estudiantes de quinto año de la carrera de Microbiología de la unan Managua quienes están haciendo su monografía en el tema: Control externo de la calidad de pruebas rápidas de VIH utilizando muestra seca en tubo. Para desarrollar su trabajo ellos requieren distribuir paneles de proficiencia de VIH en las diferentes unidades de salud del SILAIS Managua.

Sirva la presente para que los estudiantes sean atendidos por el personal que realiza las pruebas rápidas de VIH en las diferentes unidades de salud incluidas. De tal manera que ellos puedan entregar los paneles de Proficiencia, brinden las orientaciones necesaria para procesar el panel y finalmente que los responsables de laboratorio envíen un informe de acuerdo a las instrucciones adjuntas en los paneles.

Cabe señalar que esta actividad permitirá obtener datos que nos servirán para evaluar el las pruebas rápidas y el desempeño del personal que procesa dichas pruebas.

Sin más a que agregar y en espera de su valiosa colaboración, me suscribo de ustedes.

Atentamente

**Lic. Felipe Torres Meneses**  
Especialista de Laboratorio en Salud  
Departamento de Virología  
Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia-MINSA.

**Tabla N° 2:** Resultados obtenidos versus resultados esperados de las muestras positivas incluidas en el total de las rondas realizadas para el control externo de la calidad.

<b>Rondas Efectuadas</b>	<b>Verdaderas Positivas</b>	<b>%</b>	<b>Indeterminadas</b>	<b>%</b>	<b>No Reportadas</b>	<b>%</b>	<b>Falsos Positivos</b>	<b>%</b>	<b>Total</b>
<b>Ronda 1 VIH01-13</b>	39	86.66	6	13.33	0	0	0	0	45
<b>Ronda 2 VIH02-15</b>	54	100	0	0	0	0	0	0	54
<b>Ronda 3 VIH03-16</b>	70	83.33	0	0	12	14.28	2	2.38	82
<b>Total</b>	163	90	6	13.33	12	14.28	2	2.38	183

Fuente: Gráfico 2

**Tabla N° 3:** Resultados obtenidos versus resultados esperados de las muestras incluidas negativas, en el total de las rondas realizadas para el control externo de la calidad.

<b>Rondas Efectuadas</b>	<b>Verdaderas Negativas</b>	<b>%</b>	<b>Indeterminadas</b>	<b>%</b>	<b>No Reportadas</b>	<b>%</b>	<b>Falsos Negativos</b>	<b>%</b>	<b>Total</b>
<b>Ronda 1 VIH01-13</b>	45	100	0	0	0	0	0	0	45
<b>Ronda 2 VIH02-15</b>	49	90.74	1	0.54	3	5.55	1	1.85	54
<b>Ronda 3 VIH03-16</b>	71	84.52	0	0	11	20.37	2	2.38	84
<b>Total</b>	165	91.75	1	0.54	14	7.65	3	1.63	183

Fuente: Gráfico 3

**Tabla N° 4:** Pruebas rápidas de VIH utilizadas en las unidades de salud del SILAIS Managua, que participaron en las tres rondas, para el procesamiento de las muestras de los Paneles de Proficiencia de VIH.

<b>Rondas</b>	<b>Tipo de Prueba A1</b>	<b>%</b>	<b>Unidades De Salud</b>	<b>Tipo de Prueba A2</b>	<b>%</b>	<b>Unidades De Salud</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
<b>Ronda 1 VIH01- 13</b>	15	100	15	15	100	15	30	100
<b>Ronda 2 VIH02- 15</b>	18	100	18	17	94.44	18	35	97.22
<b>Ronda 3 VIH03- 16</b>	28	100	28	18	64.28	28	46	82.14
<b>Total</b>	61	100	61	60	86.24	61	111	93,12

Fuente: Gráfico4

**Tabla N° 5:** Calificaciones obtenidas en el llenado de la documentación para el procesamiento de los paneles de proficiencia de VIH, para el control externo de la calidad de las pruebas rápidas de VIH. Por parte de los Centros de Salud participantes en las tres rondas.

<b>Código Unidades Hospitalarias</b>	<b>Ronda 1 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Ronda 2 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Ronda 3 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Total (Puntaje)</b>	<b>%</b>
<b>LRO18-03</b>	10	100	10	100	9	90	29	96.66
<b>LRO18-05</b>	10	100	10	100	10	100	30	100
<b>LRO18-06</b>	10	100	10	100	10	100	30	100
<b>LRO18-08</b>	9	90	10	100	10	100	29	96.66
<b>LRO18-22</b>	10	100	10	100	9	90	29	96.66
<b>LRO18-23</b>	10	100	7	70	7	70	24	80
<b>LRO18-25</b>	10	100	8	80	9	90	27	90
<b>LRO18-26</b>	10	100	9	90	10	100	29	96.66
<b>LRO18-28</b>	10	100	10	100	10	100	30	100

Fuente: Gráfico 5

**Tabla N° 6:** Calificaciones obtenidas por los Hospitales de Referencia en el llenado de la documentación para el procesamiento de los paneles de proficiencia de VIH para el control externo de la calidad de las pruebas rápidas de VIH.

<b>Código</b>	<b>Unidades Hospitalarias</b>	<b>Ronda 1 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Ronda 2 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Ronda 3 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Total (Puntaje)</b>	<b>%</b>
<b>LRO18-09</b>		10	100	10	100	10	100	30	100
<b>LRO18-11</b>		10	100	10	100	10	100	30	100
<b>LRO18-12</b>		10	100	10	100	9	90	29	96.66
<b>LRO18-15</b>		10	100	10	100	10	100	30	100
<b>LRO18-18</b>		10	100	10	100	9	90	29	96.66

Fuente: Gráfico 6

**Tabla N° 7:** Puntaje obtenido en el procesamiento de los paneles de Proficiencia utilizando MST para el control externo de calidad de los Hospitales de Referencia.

<b>Código</b>	<b>Unidades Hospitalarias</b>	<b>Ronda 1 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Ronda 2 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Ronda 3 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Total (Puntaje)</b>	<b>%</b>
<b>LRO18-09</b>		90	100	75	83.33	90	100	255	94.44
<b>LRO18-11</b>		90	100	90	100	90	100	270	100
<b>LRO18-12</b>		90	100	90	100	90	100	270	100
<b>LRO18-15</b>		90	100	90	100	0	0	180	66.66
<b>LRO18-18</b>		90	100	90	100	60	66.67	240	80

Fuente: Gráfico 7

**Tabla N° 8:** Puntaje obtenido en el procesamiento de los paneles de Proficiencia utilizando MST para el control externo de calidad de los Centros de Salud.

<b>Código</b>	<b>Unidades Hospitalarias</b>	<b>Ronda 1 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Ronda 2 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Ronda 3 (Puntaje)</b>	<b>%</b>	<b>Total (Puntaje)</b>	<b>%</b>
<b>LRO18-03</b>		45	50	90	100	90	100	225	75
<b>LRO18-05</b>		90	100	90	100	90	100	270	100
<b>LRO18-06</b>		90	100	90	100	90	100	270	100
<b>LRO18-08</b>		90	90	45	50	90	100	225	75
<b>LRO18-22</b>		90	100	90	100	90	100	270	100
<b>LRO18-23</b>		90	100	75	83.33	90	100	255	85
<b>LRO18-25</b>		45	50	90	100	90	100	225	75
<b>LRO18-26</b>		90	100	90	100	90	100	270	100
<b>LRO18-28</b>		90	100	90	100	90	100	270	100

Fuente: Gráfico 8

**Tabla No. 9:** Puntaje final obtenido por todas las unidades de salud participantes en las tres rondas realizadas con los paneles de proficiencia de VIH usando MST para el control externo de la calidad de las pruebas rápidas de VIH.

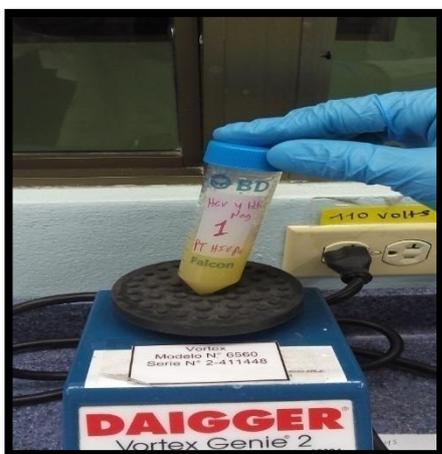
<b>Puntuación Final</b>	<b>Ronda 1</b>	<b>Ronda 2</b>	<b>Ronda 3</b>	<b>Promedio</b>
<b>LRO-18-03</b>	55	100	99	84.66%
<b>LRO-18-05</b>	100	100	100	100%
<b>LRO-18-06</b>	100	100	100	100%
<b>LRO-18-08</b>	99	55	100	84.66%
<b>LRO-18-09</b>	100	85	100	95%
<b>LRO-18-11</b>	100	100	100	100%
<b>LRO-18-12</b>	100	100	99	99.66%
<b>LRO-18-15</b>	100	100	10	70%
<b>LRO-18-18</b>	100	100	69	89.66%
<b>LRO-18-22</b>	100	100	99	99.66%
<b>LRO-18-23</b>	100	82	97	93%
<b>LRO-18-25</b>	55	98	99	84%
<b>LRO-18-26</b>	100	99	100	99.66%
<b>LRO-18-28</b>	100	100	99	99.66%
<b>Total</b>	15	15	15	100

Fuente: Gráfico 9

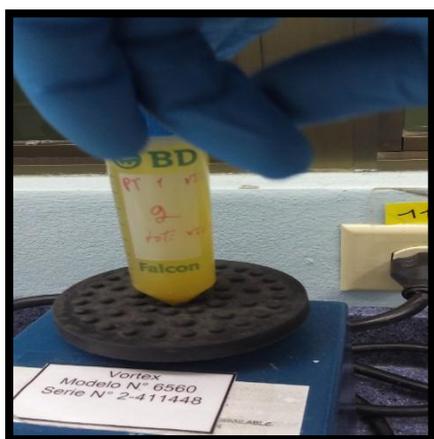
*Ilustración 1 Materiales para elaboración de Paneles de Proficiencia*



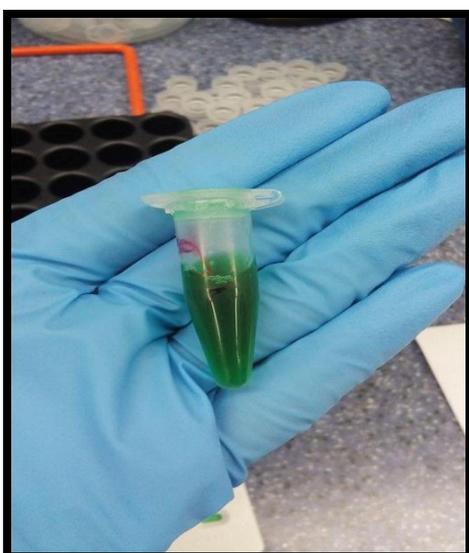
*Ilustración 2 Muestra Positiva para VIH*



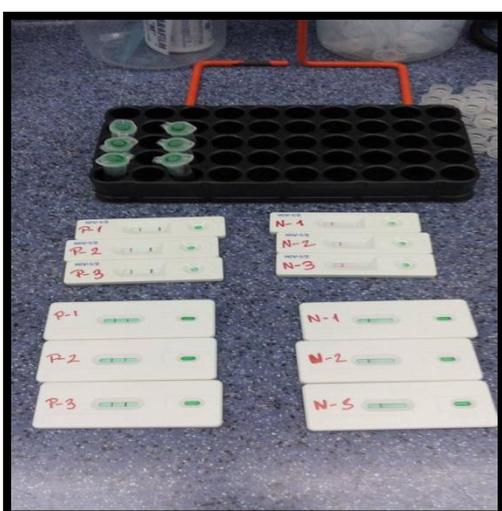
*Ilustración 3 Muestra Negativa para VIH*



*Ilustración 4 Muestra ya con colorante GREEN*



*Ilustración 5 Caracterización de muestra*



*Ilustración 6 Etiquetado de viales*



*Ilustración 7 Elaboración de Paneles*



*Ilustración 8 Panel de Proficiencia*



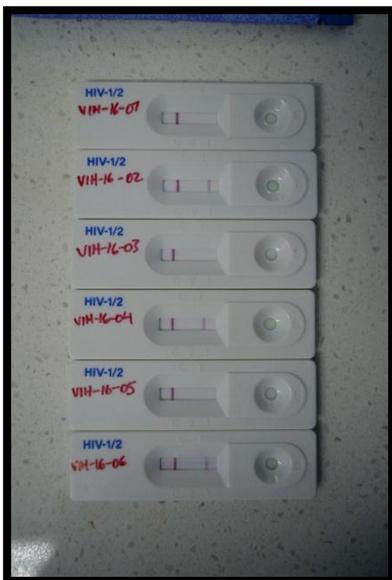
*Ilustración 9 Procedimiento del Muestra Seca en Tubo (PP)*

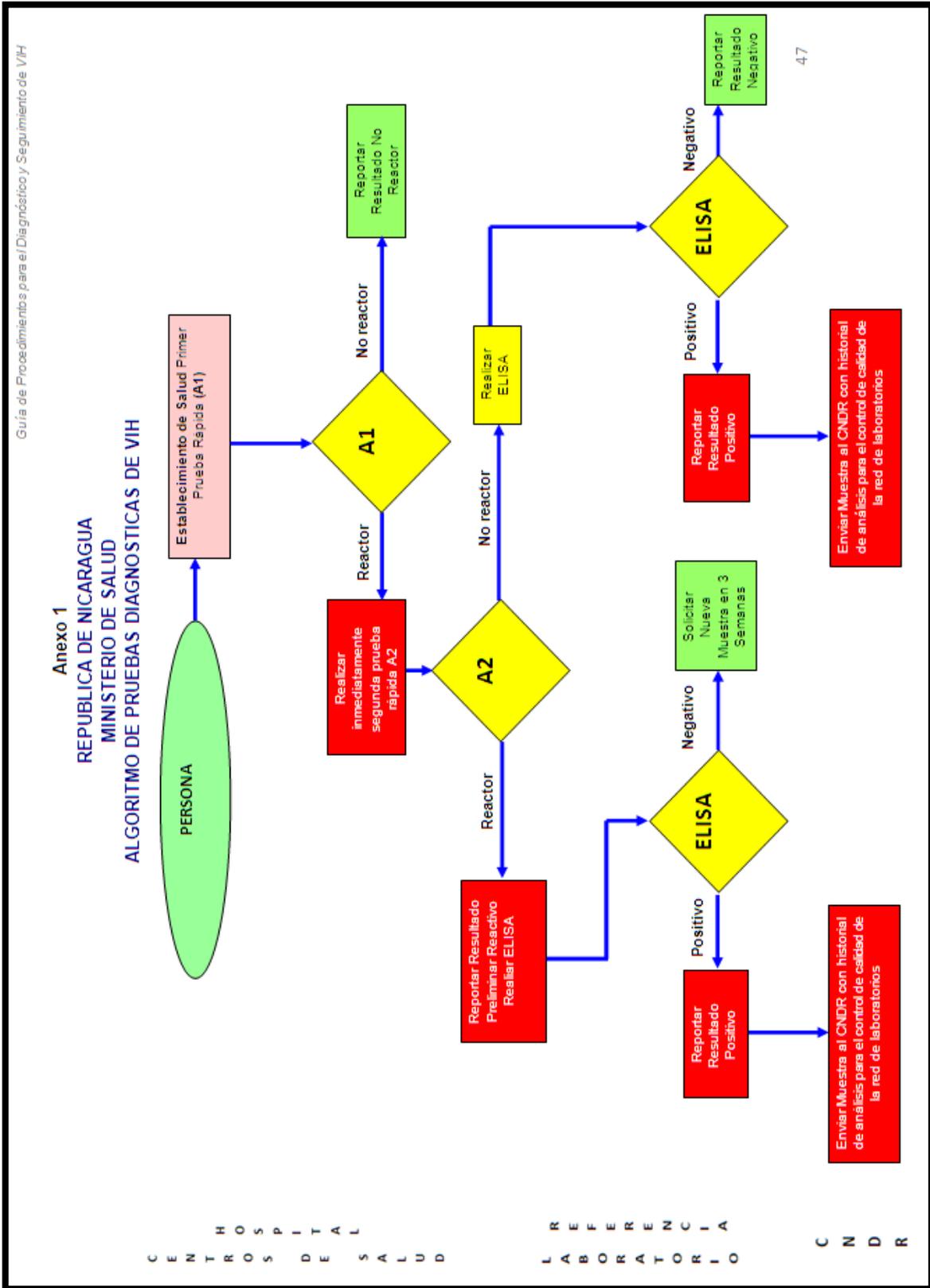


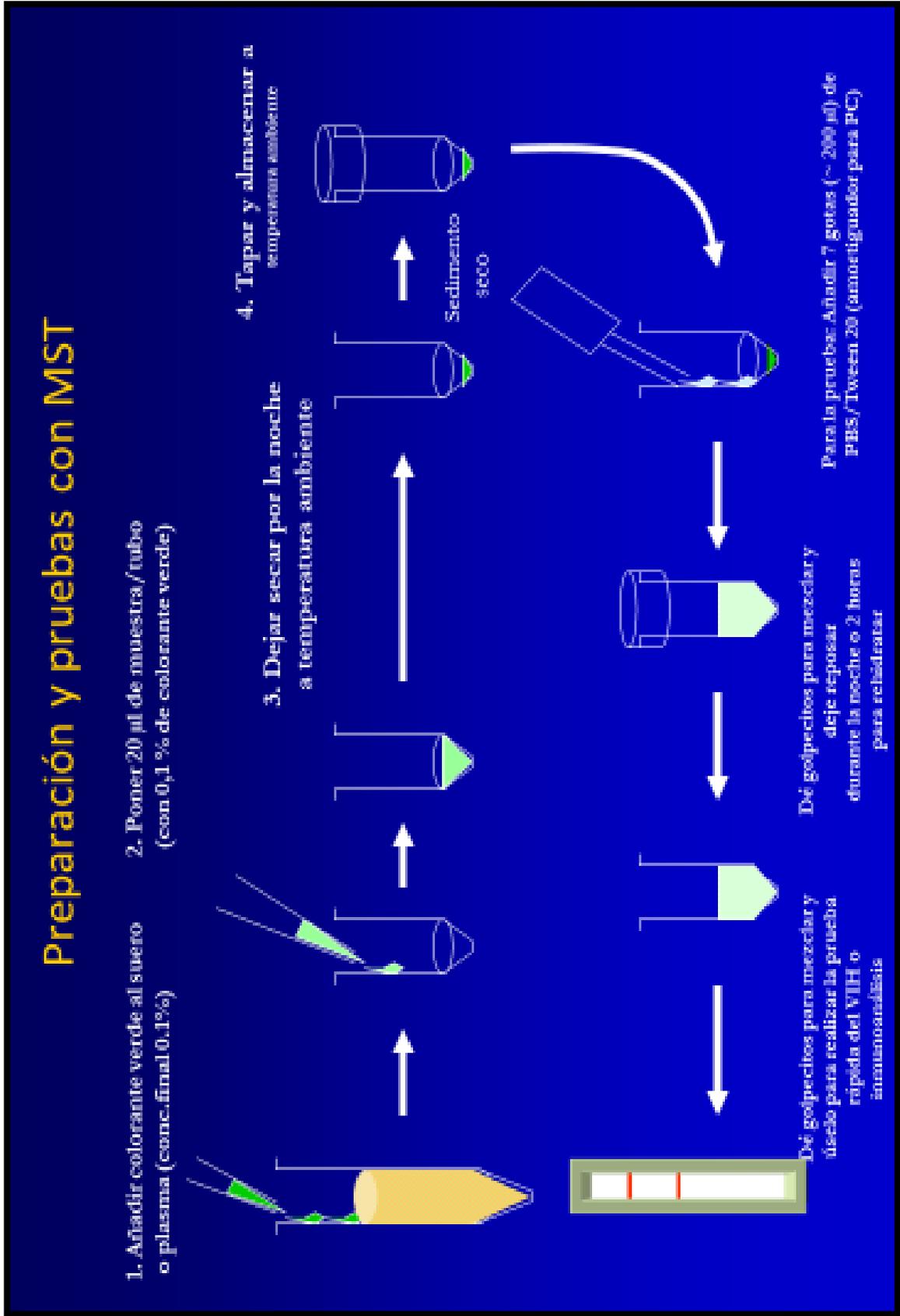




*Ilustración 10 Resultados de pruebas A1 y A2*







## PRESENTACION DE LOS RESULTADOS

### PANEL VIBUMINT

Nombre del beneficiario: \_\_\_\_\_ Fecha de recibido: \_\_\_\_\_ Fecha de emisión: \_\_\_\_\_  
 Fecha de vencimiento: \_\_\_\_\_ Número de lote: \_\_\_\_\_  
 Código de Unidad de Salud: \_\_\_\_\_ Fecha de procesamiento: \_\_\_\_\_

Muestras recibidas en buenas condiciones:  SI  NO

	Prueba rápida de VIH		Comentarios
	Prueba A1	Prueba A2	
Nombre de la prueba			
Número de lote			
Fecha de expiración			
Código de la Muestra	Resultados Prueba A1	Resultados Prueba A2	Estado final
	NR R INV	NR R INV	NR R DIS
	NR R INV	NR R INV	NR R DIS
	NR R INV	NR R INV	NR R DIS
	NR R INV	NR R INV	NR R DIS
	NR R INV	NR R INV	NR R DIS
	NR R INV	NR R INV	NR R DIS

Seleccione el resultado de cada una de las pruebas individuales y el estado final, una vez que se finalice la prueba para cada muestra.  
 NR - No reactivor      INV - Invalido      DIS - Discrepante  
 R - Reactor

Firma el analista	Comentarios adicionales:
Grado Académico del Analista	
Fecha de envío de resultado	
Responsable de Laboratorio	



Ilustración 15 Normativa 091

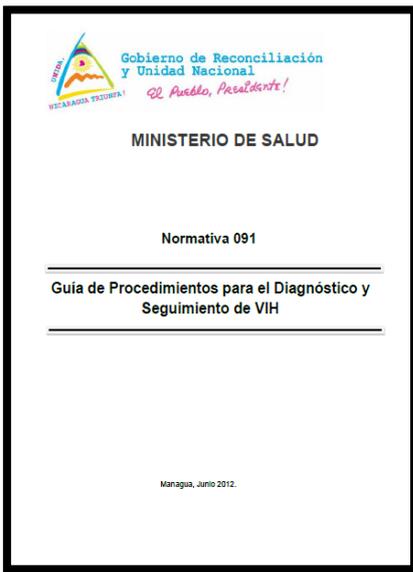
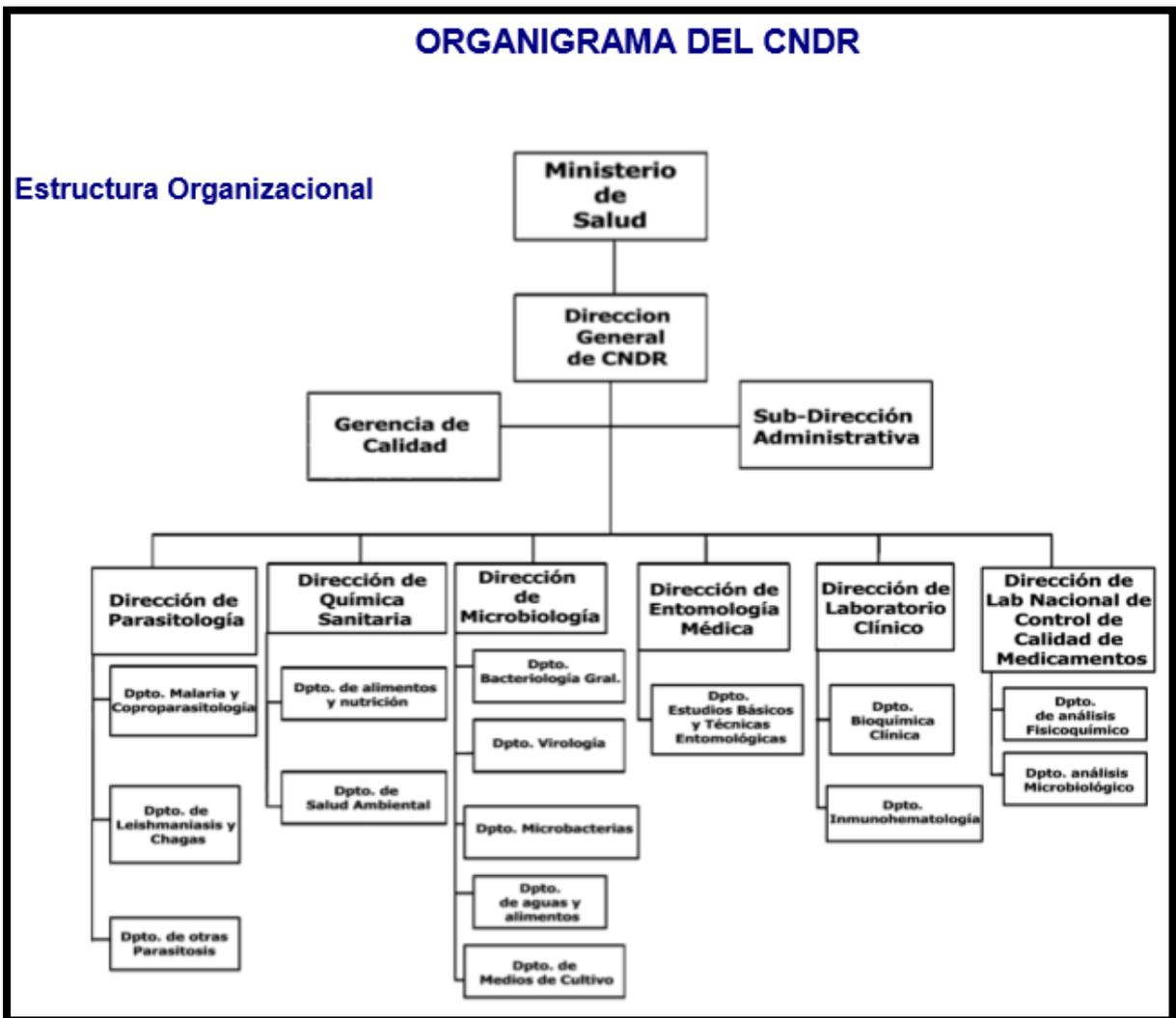


Ilustración 16 Organigrama CNDR



**Ministerio de Salud**  
**Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia**  
**Departamento de Virología**  
**Área de Serología de VIH**  
**Programa de Control de Calidad en Pruebas Rápidas**

**Check List**

Por favor, indique la fecha y sus iniciales cuando la acción haya sido completada.

Iniciales	Fecha	Acción	Observación
		Realizar pruebas del programa de Control de Calidad de acuerdo a sus procedimientos operativos estándar, establecidos en su laboratorio.	

Instrucciones de formato de resultados

Iniciales	Fecha	Acción	Observación
		<b>Rellenar los campos en blanco en la parte superior del formulario</b>	
		Proporcionar interpretación final de su laboratorio para cada una de las muestras del panel procesadas. (Reactor, No-reactor, indeterminado)	
		Proporcionar información para las muestras que no pudieron ser procesadas por razones tales como: Poca muestra, vial sin muestra, muestra no se disolvió en el buffer, vial llegó sin ser tapado adecuadamente etc.	
		Revisar formulario de resultados y compruebe si hay errores de transcripción, compruebe que todos los campos del formulario de resultados están correctamente llenados.	
		Enviar los resultados del panel procesado en físico en la fecha indicada Dirigido a Lic. Felipe Torres, Analista del Departamento de Virología, Área de VIH, Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia.	
		El formulario de resultados del programa de Control de Calidad debe ser revisado y firmado por el Analista y el Responsable del laboratorio de la unidad de Salud.	

Si tiene alguna pregunta, comentario o inquietud por favor envíe dicha información al correo: [avir06cndr@minsa.gob.ni](mailto:avir06cndr@minsa.gob.ni). O a los teléfonos 2289-7723, 8998-2998.

Gracias por su participación y colaboración en la implementación y desarrollo del control de calidad en pruebas rápidas de VIH, utilizando muestra seca en tubo. En Nicaragua.

## Programa de control de calidad en pruebas rápidas de VIH

### Instrucciones de uso y lista de verificación para Muestra seca en tubo.

Fecha y Las iniciales	ACCION	Observación
	<p>Cuando reciba los materiales del programa de control de calidad, por favor escriba la fecha y las iniciales. Cada paquete de pruebas incluye:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 viales de muestra seca en tubo</li> <li>• Un vial de amortiguador (Buffer) (2ml)</li> <li>• Una pipeta Pasteur plástica (cuenta gotas para decantar el buffer)</li> <li>• Un formulario de registro de resultados.</li> <li>• Un instructivo para procesar las muestras.</li> </ul>	
	<p><b>MANEJO</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Si cualquiera de los componentes del paquete de pruebas está dañado o incompleto, notificar al Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia.</li> <li>• Almacenar las muestras a temperatura ambiente hasta el día en que las procesara.</li> <li>• No utilizar las muestras después de la fecha de caducidad impresa en el paquete de pruebas.</li> <li>• Use cada vial sólo una vez y luego descártelo.</li> <li>• Todos los viales MST están diseñados para ser utilizados una sola vez.</li> <li>• Procese las muestras en la fecha indicada.</li> <li>• Envíe el formulario de resultados en la fecha establecida.</li> </ul>	
	<p><b>PRECAUCIONES</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Muestras del panel contienen material infeccioso y deben ser manipuladas con las precauciones de bioseguridad establecidas en el laboratorio.</li> <li>• Use el equipo de protección personal al manipular todos los componentes del panel.</li> <li>• Deseche todos los residuos de acuerdo con las normativas locales.</li> </ul>	
	<p><b>PREPARACION Y ENSAYO DE MUESTRAS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Usando una pipeta Pasteur de plástico, añada 7 gotas de amortiguador a cada tubo.</li> <li>• Dé golpecillos en los tubos para mezclar bien.</li> <li>• Deje los tubos en posición vertical, tapados a temperatura ambiente durante la noche.</li> <li>• Al día siguiente, dé unos golpecillos en los tubos, mezcle y realice las pruebas siguiendo el algoritmo nacional.</li> <li>• Realizar pruebas de acuerdo con el procedimiento operativo estándar de su laboratorio, junto</li> </ul>	

	<p>con sus muestras de pacientes, para que los resultados sean verdaderamente indicativos del desempeño diario de su laboratorio.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Orientarse con la normativa 091 (guía de procedimientos para el diagnóstico de VIH). En la página 33 aparecen los procedimientos analíticos.</li> <li>• Anote los resultados en el formulario de presentación de resultados y envíelos al CNDR.</li> </ul>	
	<p style="text-align: center;"><b>PRESENTACION DE RESULTADOS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Una vez recibido el panel de muestras, éstas deben ser procesadas en un tiempo máximo de 5 días.</li> <li>• Después de procesado el panel, deben enviar en físico al CNDR los resultados obtenidos de las muestras procesadas, en un tiempo máximo de 3 días.</li> <li>• Después de recibidos los resultados, El CNDR estará enviando el informe de evaluación en un máximo de 15 días hábiles.</li> </ul>	