



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional

El Pueblo, Presidente!

MINISTERIO DE SALUD

Normativa 091

Guía de Procedimientos para el Diagnóstico y Seguimiento de VIH

Managua, Julio 2012.

N
WC
39
0330
2011

Nicaragua. Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional
Ministerio de Salud. **Guía de Procedimientos para el
Diagnóstico y Seguimiento de VIH** / Dirección Superior del
Ministerio de Salud. Managua: MINSa, Jun. 2011

62 p.

(Normativa 091, contiene soporte jurídico; AM-585-18/06/2012.
Anexos: Algoritmo de Pruebas Diagnósticas del VIH;
Instructivos para el llenado de la Solicitud de la Prueba del VIH)

1. Virus de la Inmunodeficiencia Humana-diagnóstico (descriptor local)
2. Virus de la Inmunodeficiencia Humana-seguimiento (descriptor local)
3. Síndrome de Inmunodeficiencia Humana-diagnóstico
4. Síndrome de Inmunodeficiencia Humana- seguimiento (descriptor local)
5. Técnicas de Laboratorios Clínico- utilización
6. Prueba Elisa- utilización
7. Vigilancia Epidemiológica
8. Monitoreo VIH/SIDA (descriptor local)
9. Toma de Muestras por Punción Venosas (descriptor Local)

Ficha Bibliográfica elaborada por la Biblioteca Nacional de Salud

© MINSa- Junio 2011

CRÉDITOS

Dirección Superior del Ministerio de Salud

Dra. Sonia Castro González
Ministra de Salud

Dr. Elías Guevara
Viceministro de Salud

Dr. Enrique Beteta
Secretario General

Equipo Técnico:

Dr. Angel Balmaseda
Director General Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia.

TM. Justo Reyes
Director Microbiología Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia.

Lic. Crithiam Cerpas Cruz
Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia

Lic. Karla González
Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia

Lic. Felipe Torres
Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia

Comisión Nacional de Normas, Guías Manuales y Protocolos del Sector Salud

Lic. María del Rosario Sandino Montes
Dra. Senobia Sequeira Sevilla
Dra. Katya Jaens Ortiz
Dra. Matilde Román
Lic. Ana Luisa Alvarado
Lic. Lucía Murillo
Lic. Maritza de Jesús Cáceres
Lic. Ana Moya Baltodano
Lic. María Elsa Martínez
Lic. Carolina Flores Hernández

Directora General de Regulación Sanitaria.
Departamento de Información Médica
Departamento de Información Médica,
Dirección General Vigilancia para la Salud.
Dirección General Extensión de la Calidad de la Atención.
Asesoría Legal.
Dirección General de Planificación y Desarrollo.
Dirección General de Docencia e Investigación.
Componente VIH
División Insumos Médicos



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional

El Pueblo, Presidente!



Acuerdo Ministerial No. 585-2012

ACUERDO MINISTERIAL
No. 585 - 2012

SONIA CASTRO GONZALEZ, Ministra de Salud, en uso de las facultades que me confiere la Ley No. 290 "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo", publicada en "La Gaceta", Diario Oficial, No. 102 del tres de Junio de mil novecientos noventa y ocho, Decreto No. 25-2006 "Reformas y Adiciones al Decreto No. 71-98, Reglamento de la Ley No. 290, "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo", publicado en "La Gaceta", Diario Oficial, Nos. 91 y 92 del once y doce de Mayo, respectivamente, del año dos mil seis, la Ley No. 423 "Ley General de Salud", publicada en "La Gaceta", Diario Oficial, No. 91 del diecisiete de mayo del año dos mil dos, el Decreto No. 001-2003, "Reglamento de la Ley General de Salud", publicado en "La Gaceta" Diario Oficial, Nos. 7 y 8 del diez y trece de Enero del año dos mil tres, respectivamente.

CONSIDERANDO:

I

Que la Constitución Política de la República de Nicaragua, en su Arto. 59, partes conducentes, establece que: "Los nicaragüenses tienen derecho, por igual, a la salud. El Estado establecerá las condiciones básicas para su promoción, protección, recuperación y rehabilitación. Corresponde al Estado dirigir y organizar los programas servicios y acciones de salud".

II

Que la Ley No. 290 "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo", en su arto. 26, incisos b), d) y e), establece que al Ministerio de Salud le corresponde: b) Coordinar y dirigir la ejecución de la política de salud del Estado en materia de promoción, protección, recuperación y rehabilitación de la salud; d) Organizar y dirigir los programas, servicios y acciones de salud de carácter preventivo y curativo y promover la participación de las organizaciones sociales en la defensa de la misma; y e) Dirigir y administrar el sistema de supervisión y control de políticas y normas de salud."

III



Que la Ley No. 423 "Ley General de Salud", en su Artículo 1, Objeto de la Ley, establece que la misma tiene por objeto "tutelar el derecho que tiene toda persona de disfrutar, conservar y recuperar su salud, en armonía con lo establecido en las disposiciones legales y normas especiales, y que para tal efecto regulará: a) Los principios, derechos y obligaciones con relación a la salud; y b) Las acciones de promoción, prevención, recuperación y rehabilitación de la salud".

**NICARAGUA
DE VICTORIA
EN VICTORIA!**

CRISTIANA, SOCIALISTA, SOLIDARIA!

MINISTERIO DE SALUD

Complejo Nacional de Salud "Dra. Concepción
Palacios, costado oeste colonia Iero de mayo,
Managua, Nicaragua. PBX (505) 22894700
Apartado Postal 107.

Web: www.minsa.gob.ni



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional

El Pueblo, Presidente!



Acuerdo Ministerial No. 585-2012

IV

Que la Ley No. 423 "Ley General de Salud", en su **Artículo 2, Órgano Competente**, establece que "El Ministerio de Salud es el órgano competente para aplicar, supervisar, controlar y evaluar el cumplimiento de la presente Ley y su Reglamento; así como para elaborar, aprobar, aplicar, supervisar y evaluar normas técnicas, formular políticas, planes, programas, proyectos, manuales e instructivos que sean necesarios para su aplicación."

V

Que la Ley No. 423 "Ley General de Salud", en su **Artículo 4, Rectoría**, señala que: "Corresponde al Ministerio de Salud como ente rector del sector, coordinar, organizar, supervisar, inspeccionar, controlar, regular, ordenar y vigilar las acciones en salud, sin perjuicio de las funciones que deba ejercer frente a las instituciones que conforman el sector salud, en concordancia con lo dispuesto en las disposiciones legales especiales"; y el Decreto No. 001-2003, "Reglamento de la Ley General de Salud", en su Arto. 19, numeral 17, establece: "**Artículo 19.-** Para ejercer sus funciones, el MINSa desarrollará las siguientes actividades: 17. Elaborar las políticas, planes, programas, proyectos nacionales y manuales en materia de salud pública en todos sus aspectos, promoción, protección de la salud, prevención y control de las enfermedades, financiamiento y aseguramiento."

VI

Que el Ministerio de Salud, en virtud de las facultades dadas en los Artos. 2 y 4 de la Ley No. 423, Ley General de Salud", ha elaborado la "**Guía de Procedimientos para el Diagnóstico y Seguimiento de VIH**", a fin de orientar en los procedimientos y metodologías que permitan la capacitación e información de los profesionales de la salud y mejorar la eficacia en los laboratorios de la red nacional que realizan análisis de diagnóstico y seguimiento de VIH / Sida.

VII



Que con fecha 16 de Julio del 2012, la Dirección General de Regulación Sanitaria, solicitó se elaborara el Acuerdo Ministerial que aprobara el documento denominado "**Guía de Procedimientos para el Diagnóstico y Seguimiento de VIH**", cuyo objetivo es establecer los criterios para el diagnóstico y seguimiento de VIH/sida en los laboratorios de los establecimientos proveedores de servicios de salud públicos y privados, así como el uso correcto de los materiales e insumos que garanticen la seguridad del personal de salud y de la población en general a través de la aplicación de lineamientos estandarizados.

**NICARAGUA
DE VICTORIA
EN VICTORIA!**

CRISTIANA, SOCIALISTA, SOLIDARIA!

MINISTERIO DE SALUD

Complejo Nacional de Salud "Dra. Concepción
Palacios, costado oeste colonia Iero de mayo,
Managua, Nicaragua. PBX (505) 22894700
Apartado Postal 107.

Web: www.minsa.gob.ni



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional

El Pueblo, Presidente!



Acuerdo Ministerial No. 585-2012

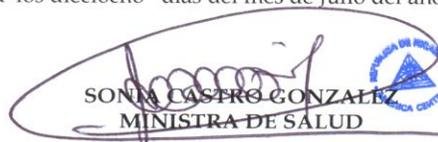
Por tanto, esta Autoridad,

ACUERDA:

- PRIMERO:** Se aprueba el documento denominado "Guía de Procedimientos para el Diagnóstico y Seguimiento de VIH", el cual forma parte integrante del presente Acuerdo Ministerial.
- SEGUNDO:** Se designa a la Dirección General de Regulación Sanitaria, para que dé a conocer el presente Acuerdo Ministerial y el referido documento a los directores de SILAIS y a los directores de establecimientos de salud públicos y privados, que poseen u operan laboratorios en los cuales se realizan las pruebas de diagnóstico y seguimiento de VIH / Sida.
- TERCERO:** Se designa a la Dirección General del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR), para la implementación y monitoreo de la aplicación y cumplimiento de la "Guía de Procedimientos para el Diagnóstico y Seguimiento de VIH", estableciendo en todo caso las coordinaciones necesarias con los SILAIS y directores de establecimientos de salud públicos y privados, que poseen u operan laboratorios en los cuales se realizan las pruebas de diagnóstico y seguimiento de VIH / Sida.
- CUARTO:** El presente Acuerdo Ministerial entrará en vigencia a partir de su firma.

Comuníquese el presente, a cuantos corresponda conocer del mismo.

Dado en la ciudad de Managua, a los dieciocho días del mes de Julio del año dos mil doce.


SONIA CASTRO GONZALEZ
MINISTRA DE SALUD


MINISTERIO DE SALUD

**NICARAGUA
DE VICTORIA
EN VICTORIA!**

**CRISTIANA, SOCIALISTA, SOLIDARIA!
MINISTERIO DE SALUD**

Complejo Nacional de Salud "Dra. Concepción
Palacios, costado oeste colonia lero de mayo,
Managua, Nicaragua. PBX (505) 22894700
Apartado Postal 107.

Web: www.minsa.gob.ni

INDICE

	Contenido	Página
I.	Presentación	08
II.	Introducción	09
III.	Justificación	10
IV.	Soporte Jurídico	11
V.	Glosario	14
VI.	Abreviaturas	17
VII.	Objetivo General	19
VIII.	Objetivos Específico	19
IX.	Campo de Aplicación	19
X.	Población Meta	19
XI.	Disposiciones	20
	1. Descripción del Algoritmo Diagnóstico de VIH	20
	2. Toma, Manejo y Envío de Muestras	21
	a. Procedimiento de toma de muestra por punción venosa	23
	b. Procedimiento de toma de muestra por punción capilar	24
	c. Procedimiento de toma de muestra con papel filtro para ADN Proviral	24
	d. Conservación de la muestra en papel filtro	25
	3. Obtención y Preparación de Muestras	27
	a. Obtención de suero para el diagnóstico serológico de VIH:	27
	b. Obtención de sangre total para el recuento de CD3/CD4/CD8 y ADN Proviral:	27
	c. Obtención de plasma para análisis de carga viral:	27
	4. Envío y Transporte de Muestras de Sangre Total, Muestra Seca, Suero y Plasma	28
	a. Envío de muestras para confirmación y control de calidad de VIH	29
	b. Procedimiento de embalaje de muestras:	31
	5. Procedimientos Analíticos	32
	a. Prueba Rápida A1 “Ensayo para la detección de antígenos y/o anticuerpos VIH1/2”	33
	b. Prueba Rápida A2 “Ensayo para la detección de antígenos y anticuerpos VIH1/2”	34
	c. Ensayo para la detección de Ag p24 y Ac anti-VIH1/2 por ELISA 4ta generación:	36
	d. Ensayo para la detección de anticuerpos VIH 1/2 por western Blot	37
	e. Ensayo para la detección de carga viral de VIH 1 por el método de PCR en tiempo Real	39
	f. Ensayo para el recuento de linfocitos T CD3/CD4/CD8.	41
XII.	Ensayo para la detección de ADN pro viral del VIH 1	43
XIII.	Anexos	46
XIV.	Bibliografía	65

I. PRESENTACIÓN

El Gobierno de reconciliación y Unidad Nacional a través del Ministerio de Salud de Nicaragua, pone a disposición la “Guía de Procedimientos para el Diagnóstico y Seguimiento de VIH “a ser utilizado en los distintos niveles de atención a la población Nicaragüense.

Este documento ha sido elaborado de manera práctica e incluye los más recientes cambios tecnológicos en los diferentes métodos de laboratorio para el diagnóstico y monitoreo de VIH/sida utilizados en Nicaragua, además, contiene una detallada descripción del algoritmo para el diagnóstico de VIH en Nicaragua y los diferentes formatos establecidos por el Ministerio de Salud de Nicaragua para el diagnóstico y monitoreo de VIH/sida.

En su elaboración han participado especialistas en laboratorio en salud coordinados por la dirección general del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia.

Con esta *Guía de Procedimientos para el Diagnóstico y Seguimiento de VIH* el Ministerio de Salud contribuye al mejoramiento del servicio de los laboratorios del País orientando al personal de salud sobre los pasos que deben seguir para el adecuado diagnóstico y seguimiento de VIH/sida y el uso correcto de los materiales para garantizar su seguridad y la de la población en general.

II. INTRODUCCION

En Nicaragua el diagnóstico de VIH se ha realizado desde los años 90's, desde esa época hasta la actual se han utilizado diferentes técnicas diagnósticas, desde hemoaglutinación hasta, Western Blot, pruebas de inmunocromatografía, ELISA de 4ta generación y métodos moleculares. Actualmente las personas con VIH son monitoreadas por medio de técnicas de biología molecular (carga viral) y técnicas de citometría de flujo (CD3, CD4, CD8).

A partir del año 2007 el Ministerio de Salud conformó la red de diagnóstico de VIH en todo el país, con el objetivo de permitir a todas las personas que tomen la decisión de realizarse la prueba de diagnóstico de VIH, la tengan disponible de forma eficiente, gratuita y oportuna cerca de sus comunidades, además, el Ministerio de Salud publica el primer manual de laboratorios para el diagnóstico de VIH en Nicaragua como un esfuerzo para estandarizar la metodología diagnóstica de VIH en la red de laboratorios del país.

En el 2011 se elaboró un proceso de actualización del mismo, plasmando lo más actualizado dentro del Algoritmo para la realización de las pruebas de diagnóstico del VIH en Nicaragua. Cabe mencionar que además en este documento está reflejado todas las técnicas así como insumos necesarios para un oportuno y rápido método de diagnóstico dirigido a toda la población.

III. JUSTIFICACION

El principal interés del personal de salud y del especialista en laboratorio en salud es proporcionar a las personas la mejor atención y el mejor resultado diagnóstico posibles, sin embargo, pese a todas las ventajas que ofrecen los reactivos actuales y equipos automatizados, el personal de laboratorio debe ser correctamente instruido sobre el objeto de las pruebas, el aporte que brindan y también debe estar consiente y familiarizado con los pasos que debe seguir desde el momento en que se atiende al paciente hasta la entrega del resultado.

Lo anterior es posible si utilizamos adecuadamente los recursos, si se realiza correctamente los procedimientos involucrados en el diagnóstico y seguimiento de VIH. Esta guía reúne todos los parámetros necesarios para el cumplimiento de lo expresado y está dirigida a todo el personal de salud para optimizar los recursos, realizar el correcto diagnóstico y seguimiento de VIH y contribuir a la mejora continua de la salud de todos los nicaragüenses.

IV. SOPORTE JURIDICO

La presente Guía de Procedimientos para el Diagnóstico y Seguimiento de VIH se sustenta dentro del marco jurídico y regulatorio existente para el sector salud principalmente lo dispuesto en:

1. CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE NICARAGUA

Artículo 59.- [Derecho a la salud]

Los nicaragüenses tienen derecho, por igual, a la salud. El Estado establecerá las condiciones básicas para su promoción, protección, recuperación y rehabilitación.

Corresponde al Estado dirigir y organizar los programas, servicios y acciones de salud y promover la participación popular en defensa de la misma.

Los ciudadanos tienen la obligación de acatar las medidas sanitarias que se determinen.

Artículo 105. [Servicios públicos] (Párrafos segundo y tercero).

Los servicios de educación, salud y seguridad social, son deberes indeclinables del Estado, que está obligado a prestarlos sin exclusiones, a mejorarlos y ampliarlos. Las instalaciones e infraestructura de dichos servicios propiedad del Estado, no pueden ser enajenadas bajo ninguna modalidad.

Se garantiza la gratuidad de la salud para los sectores vulnerables de la población, priorizando el cumplimiento de los programas materno - infantil. Los servicios estatales de salud y educación deberán ser ampliados y fortalecidos. Se garantiza el derecho de establecer servicios privados en las áreas de salud y educación.

2. LEY No. 423, LEY GENERAL DE SALUD, PUBLICADA EN LA GACETA No. 91 DEL 17 DE MAYO DEL 2002.

Artículo 1.- Objeto de la Ley: La presente Ley tiene por objeto tutelar el derecho que tiene toda persona de disfrutar, conservar y recuperar su salud, en armonía con lo establecido en las disposiciones legales y normas especiales.

Artículo 2.- Órgano Competente: El Ministerio de Salud es el órgano competente para aplicar, supervisar, controlar y evaluar el cumplimiento de la presente Ley y su Reglamento; así como para elaborar, aprobar, aplicar, supervisar y evaluar normas técnicas, formular políticas, planes, programas, proyectos, manuales e instructivos que sean necesarios para su aplicación.

Artículo 4.- Rectoría: Corresponde al ministerio de Salud como ente rector del Sector, coordinar, organizar, supervisar, inspeccionar, controlar, regular, ordenar y vigilar las acciones en salud, sin perjuicio de las funciones que deba ejercer frente a las instituciones que

conforman el sector salud, en concordancia con lo dispuesto en las disposiciones legales especiales.

Artículo 5.- Principios Básicos: Son principios de esta Ley:

7. Calidad: Se garantiza el mejoramiento continuo de la situación de salud de la población en sus diferentes fases y niveles de atención conforme la disponibilidad de recursos y tecnología existente, para brindar el máximo beneficio y satisfacción con el menor costo y riesgo posible.

10. Responsabilidad de los Ciudadanos: Todos los habitantes de la República están obligado a velar, mejorar y conservar su salud personal, familiar y comunitaria, así como las condiciones de salubridad del medio ambiente en que viven y desarrollan sus actividades.

Artículo 7.- Son Competencias y Atribuciones del Ministerio de Salud:

1.- Regular, Supervisar, e intervenir en el sector de Sector de Salud, y en particular ser la autoridad competente para la aplicación y el control del cumplimiento de las disposiciones de la presente Ley, su reglamento o normas que de ella emanen, sin perjuicio de las facultades y obligaciones que leyes especiales otorguen a otros organismos públicos dentro de sus respectivas competencias. Para estos efectos, se entiende como autoridades en salud, las personas o instituciones con funciones, facultades o competencias expresadas de expedir o aplicar la regulación en materia de políticas en salud.

6.- Expedir las normas de organización y funcionamiento técnico administrativo, operativo y científico de las Instituciones Proveedoras de Servicios de Salud de naturaleza pública.

12.- Regular, cuando resulte necesario para los principios de esta Ley, las actividades con incidencia directa o indirecta sobre la salud de la población, que realice o ejecute toda persona natural o jurídica, pública o privada.

3. DECRETO No. 001-2003, REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD, PUBLICADO EN LA GACETA No. 7 y No. 8 DEL 10 y 13 DE ENERO DEL 2003.

Artículo 19.- Para ejercer sus funciones, el MINSA desarrollará las siguientes actividades:

1. Regular la provisión de los servicios de salud.

4. Orientar, regular y coordinar los integrantes del sector salud en la realización de acciones dirigidas a:

4.1- Promoción, prevención, tratamiento y rehabilitación.

6. Liderar y desarrollar procesos de seguimiento, vigilancia, control y evaluación sobre la aplicación de políticas de salud, incluyendo acciones de vigilancia de la salud y metas de cobertura.

7. Promover la participación de la comunidad del sector salud en el diseño de las políticas, planes y programas de salud necesarios para su implementación.

Artículo 73.- Son proveedores de servicios de salud, las personas naturales o jurídicas, públicas, privadas o mixtas, que estando habilitados por el MINSA, tienen por objeto la provisión de servicios en sus fases de promoción, protección, recuperación y rehabilitación de la salud que requiera la población. Se incluye cualquier otro establecimiento cuya actividad sea brindar servicios que incidan de manera directa o indirecta en la salud del usuario.

4. LEY NO. 238, LEY DE PROMOCION, PROTECCION Y DEFENSA DE LOS DERECHOS HUMANOS ANTE EL SIDA, PUBLICADA EN LA GACETA No. 232 DEL 06 DE DICIEMBRE DEL 1996.

Artículo 1.- Garantizar el respeto, promoción, protección y defensa de los derechos humanos, en la prevención de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y en el tratamiento del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (sida).

Artículo 3.- En la prevención y control de VIH/sida se deben garantizar los derechos humanos, la no discriminación, la confidencialidad y la autonomía personal.

Artículo 5.- Nadie podrá ser sometido a pruebas para detectar la presencia de anticuerpos al VIH sin su consentimiento. Las personas que soliciten dicha prueba darán su autorización por escrito.

Artículo 7.- Los resultados de la prueba de anticuerpos al VIH deben comunicarse de manera confidencial, personal o mediante consejería de conformidad con las disposiciones dictada para tal efecto.

Artículo 10.- Las entidades públicas y privadas que por su naturaleza cumplan funciones de información, comunicación o educación formal, incorporaran en sus planes la prevención del VIH/sida para toda la población.

V. GLOSARIO

ADN Proviral:	Acido nucleicos que forma parte de todas las células.
Alcohol etílico:	Compuesto químico del etanol. Puede mezclarse con agua.
Algoritmo:	Conjunto pre escrito de instrucciones bien definidas, ordenadas y finitas que permite realizar una actividad mediante pasos sucesivos que no generen dudas a quien deba realizar dicha actividad.
Alícuotas:	Parte que se toma de un volumen inicial para ser usada en una prueba del laboratorio cuyas propiedades físicas y químicas representa las de la sustancia original.
Analito:	Componente de interés analítico de una muestra.
Anticoagulante:	Sustancia endógena o exógena que interfiere o inhibe la coagulación de la sangre.
Anticuerpo:	Glicoproteínas del tipo gamma globulina empleados por el sistema inmunitario para identificar y neutralizar elementos extraños tales como virus o parásitos.
Antígeno:	Sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria.
Buffer:	Tampón químico que puede oponerse a grandes cambios de ph en una disolución acuosa.
Carga viral:	Cuantificación de la infección por virus que se calcula por estimación de la cantidad de partículas virales en los fluidos corporales como por ejemplo ARN viral por milímetros de sangre.
Centrifuga:	Máquina que pone en rotación una muestra para acelerar por fuerza centrífuga la decantación o sedimentación de sus componentes o fases en función de su densidad.
Citometría de flujo:	
Cut off:	Valor de corte de la prueba, indica el valor en densidad óptica necesario para considerar una prueba como positiva o negativa.
Discrepancia:	Diferencia, especialmente la existencia entre distintos datos, informaciones u opiniones.

Embalaje:	Recipiente o envoltura que contiene productos de manera temporal principalmente para agrupar unidades de un producto pensando en su manipulación, transporte y almacenaje.
Enzimas:	Moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, siempre se sean termodinámicamente posibles.
Facs Count:	Nombre de equipo para realizar citometría de flujo.
Facs flow:	Nombre de reactivo utilizado en equipo de citometría de flujo.
Hemaglutinación:	Agglutinación de hematíes o glóbulos rojos.
Hemolisis:	La hemólisis (eritrocateresis) es el fenómeno de la desintegración de los eritrocitos(glóbulos rojos o hematíes).
Hipoclorito de sodio:	Compuesto químico, fuertemente oxidante, cuya disolución en agua es conocida popularmente como agua lavandina, cloro, lejía, agua de Javel, agua Jane o blanqueador.
Homogenizar:	Proceso por el que se hace que una mezcla presente las mismas propiedades en toda la sustancia.
Indeterminado:	Resultado no concluyente por Western Blot que requiere de una nueva muestra en los 3 meses posteriores a la emisión del resultado de VIH.
Inmunoensayo:	Conjunto de técnicas inmunoquímicas analíticas de laboratorio que tienen en común el usar complejos inmunes como referencias de cuantificación de un analito determinado.
Linfocitos:	Tipo de leucocito (glóbulo blanco) comprendidos dentro de los agranulocitos.
Negativo:	Definición dada a una muestra a la que no se ha detectado antígeno p 24 y anticuerpos anti-VIH mediante la prueba de ELISA o anticuerpos anti-VIH mediante la prueba de western Blot.
Nitrocelulosa:	Sólido parecido al algodón, o un líquido gelatinoso ligeramente amarillo.
No Reactor:	Definición dada a una muestra presuntamente negativa. No se han detectado anticuerpos anti- VIH mediante el uso de las pruebas rápidas A1 y A2 no confirmatorias.
Plasma:	Componente líquido de la sangre.
Polimerasa:	Enzima capaz de transcribir o replicar ácidos nucleicos.

Positivo:	Definición dada a una muestra con evidente presencia de anticuerpos anti-VIH y antígeno p24 por la técnica de ELSIA y/o presencia de anticuerpos anti-VIH por la técnica de Western Blot.
Punción capilar:	Es el acto de pinchar la punta de un dedo para obtener una muestra de sangre capilar.
Punción venosa:	Es el acto de puncionar una vena para obtener una muestra de sangre venosa.
Reactor:	Definición dada a una muestra presuntamente Positiva. Se han detectado anticuerpos anti- VIH mediante el uso de las pruebas rápidas A1 y A2 no confirmatorias.
Sedimento:	Material o resto biológico que se encuentra derivado de la acción de centrifugar una muestra.
sida:	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.
Solución RNasa:	Enzima (nucleasa) que cataliza la hidrólisis de ARN en componentes más pequeños.
Suero:	Componente de la sangre resultante tras permitir la coagulación de ésta y eliminar el coagulo resultante.
Venopunción:	Extracción de sangre de una vena, generalmente tomada por un bioanalista, un laboratorista, un personal de enfermería, un paramédico o un estudiante de estas profesiones.
Vial:	Frasco pequeño para contener medicamentos inyectables.
Vortex:	Equipo de laboratorio utilizado para la mezcla de sustancias líquidas.
Western Blot:	Técnica analítica usada para detectar proteínas específicas en una muestra determinada.

VI. ABREVIATURAS

°C:	Grado centígrado.
A1:	Primer prueba rápida
A2:	Segunda prueba rápida.
Ac Anti-VIH:	Anticuerpo dirigido contra el virus de inmunodeficiencia humana.
Ac:	Anticuerpo.
ADN:	Acido desoxirribonucleico:
Ag:	Antígeno
CD3:	Linfocito tipo T con presencia de cluster de diferenciación 3.
CD4:	Linfocito tipo T con presencia de cluster de diferenciación 4.
CD8:	Linfocito tipo T con presencia de cluster de diferenciación 8.
cm:	Centímetro.
CNDR:	Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia.
EDTA K ₂ /K ₃ :	Anticuagulante ácido etilendiaminotetracético
ELISA:	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima.
gp 41:	Proteína de la envoltura del virus de inmunodeficiencia humana.
Kit:	Conjunto de las piezas de un objeto o reactivo que se venden con un folleto de instrucciones para montar con facilidad.
MINSA:	Ministerio de Salud.
ml:	Mililitro.
mm:	Milímetro.
nm:	Nanómetro.
p24:	Proteína del núcleo del virus de inmunodeficiencia humana.
p31:	Proteína de la capsida del virus de inmunodeficiencia humana.
PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa.
ph:	Medida de acidez o alcalinidad de una disolución.
rpm:	Revoluciones por minuto.

Sida: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.
SILAIS: Sistema Local de Atención en Salud.
ul: Microlitros.
VIH: Virus de inmuno deficiencia humana.
VIH ½: Virus de inmuno deficiencia humana tipo 1 y 2.

VII. OBJETIVO GENERAL:

Establecer los criterios para el diagnóstico y seguimiento de VIH/sida en los laboratorios de los establecimientos proveedores de servicios de salud públicos y privados. así como el uso correcto de los materiales e insumos que garanticen la seguridad del personal de salud y de la población en general a través de la aplicación de lineamientos estandarizados.

VIII. OBJETIVO ESPECÍFICO:

Asegurar el uso correcto de los materiales e insumos que garantizan la seguridad del personal de salud y población en general.

Describir el flujo del algoritmo diagnóstico de VIH utilizado a nivel nacional.

Orientar en los procedimientos y metodologías que permitan la capacitación e información del profesional de salud, que realiza análisis de diagnóstico y seguimiento de VIH/sida.

Mejorar la eficacia en los laboratorios de la red nacional que realizan las pruebas de diagnóstico y seguimiento de VIH/sida.

IX. CAMPO DE APLICACIÓN:

El cumplimiento de esta guía es de carácter obligatorio y debe ser aplicada en todos los establecimientos proveedores de servicios de salud públicos.

X. POBLACIÓN META:

Todos los especialistas de laboratorio en salud de los establecimientos prestadores de servicios del Ministerio de Salud, profesionales y técnicos que proveen atención en salud y los funcionarios encargados del sistema de vigilancia epidemiológica del VIH/sida.

XI. DISPOSICIONES:

1. 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.

Responsable:

- Personal del Centro de Diagnóstico y Referencia del Ministerio de Salud.
- Profesionales y técnicos que trabajan en los establecimientos del Ministerio de Salud, e instituciones públicas y privadas que realizan el diagnóstico del VIH/sida.

Materiales:

- Guía de procedimientos de VIH.
- Flujo grama Algoritmo de Pruebas Diagnósticas 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.

2. 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.

Alcance:

Este procedimiento debe ser ejecutado por personal de toma de muestra de los diferentes establecimientos de salud, laboratorios de la red diagnóstica de VIH e instituciones públicas y privadas que trabajan en el diagnóstico del VIH/sida.

Responsable:

Profesionales y técnicos que trabajan en los establecimientos del Ministerio de Salud, e instituciones públicas y privadas que realizan el diagnóstico del VIH/sida.

Muestra:

- Sangre total.
- Suero.
- Plasma.

Materiales:

- Jabón o gel anti bacterial.
- Toallas descartables.
- Guantes descartables.
- Gabachas.
- Bolígrafos.
- Marcadores permanentes.
- Torniquete.
- Algodón en motas.
- Recipiente con tapa (para motas de algodón).
- Camisas para agujas de extracción de sangre.
- Agujas para extracción de sangre de 21G x 1 ½ " (80x38 mm).
- Lancetas.
- Tubo de ensayo al vacío 16 x 100 mm sin anticoagulante.
- Tubos de ensayo al vacío con anticoagulante EDTA K2/K3 12 x 75 mm.
- Gradillas para tubos 16 mm.
- Tarjetas de Papel filtro.
- Gasa estéril.
- Recipiente para descarte de agujas o material corto punzante.
- Curas.
- Soporte para secado de tarjetas de papel filtro.
- Formatos de registros.

Reactivos:

- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Hipoclorito de sodio al 0.5%.

Para garantizar un volumen adecuado de muestra para el envío al laboratorio de referencia correspondiente leer Anexo 2. Se recomienda de ser posible realizar siempre la toma por el método de venopunción.

Si en la unidad de salud se realiza la toma de muestra capilar, debe considerar lo siguiente:

- Si al realizar la prueba se obtiene un resultado reactor, proceder a tomar la muestra por punción venosa para asegurar el volumen adecuado y completar el proceso diagnóstico.
- Por cada 10 tomas por el método capilar se debe tomar una muestra por el método de venopunción para ser enviada como control de calidad al laboratorio de referencia correspondiente.

a. Procedimiento de toma de muestra por punción venosa (Anexo 3):

- Verifique que cuenta con todos los materiales y reactivos necesarios para realizar la toma de muestra.
- Lávese las manos y séquese con toallas descartables.
- Póngase guantes descartables ajustados al tamaño de la mano.
- Verifique la identificación del usuario, respetando la privacidad del paciente.
- Rotule los tubos y asegúrese que correspondan con los datos de la orden médica del usuario(a) antes de la toma de muestra.
- Revise que el área de punción no muestre lesiones ni signos de infección.
- Localice la vena que va a puncionar (preferiblemente que sea visible y fácilmente palpable).
- Si la vena no es muy visible ni palpable, realice un suave masaje en el antebrazo, con movimientos desde la muñeca hacia el codo.
- Limpie un área de 4 cm utilizando un algodón impregnado con alcohol etílico o isopropílico al 70 %. con movimientos circulares concéntricos desde el centro a la periferia.
- Coloque la aguja en la camisa para agujas de toma de muestra.
- Coloque el torniquete con suficiente tensión a una distancia de 10 a 15 cm por encima del pliegue del codo, evitar que esté muy apretado ya que puede producir hemólisis, colapso venoso, dolor, etc.
- Coloque la aguja sobre la vena, con el bisel hacia arriba formando un ángulo de 30°C con la piel, e introduzca la aguja en la vena.
- Inserte el tubo en la parte posterior de la aguja, una vez lleno, retírelo e introduzca un nuevo tubo según los análisis a realizar (anexo 2).

- Retire el torniquete de 10 a 15 segundos después de la punción.
- Si el tubo contiene anticoagulante, homogenizar suavemente por inversión para evitar que la muestra se coagule, en caso contrario cuando el tubo no contiene anticoagulante inmediatamente colocarlo en reposo en posición vertical para permitir la coagulación.
- Retire la aguja y ponga una mota de algodón seco en el lugar de la punción, Indique al paciente que debe permanecer sentado y ejercer presión en el lugar de la punción al menos 5 minutos.
- Retire la mota de algodón y deposítela en un recipiente para desechos de material biológico.
- Coloque una cura sobre el sitio de la punción.
- Si la persona pierde el conocimiento durante el procedimiento, retire inmediatamente la aguja del lugar de la punción.
- Evite que la persona caiga y se golpee, solicite ayuda, coloque un apósito, algodón o gasa sobre la herida de la punción y ejerza presión, para evitar que fluya la sangre. Acueste a la persona en el suelo o en una camilla con piernas levantadas.
- Coloque un algodón impregnado con alcohol frente a la nariz de la persona. Una vez recuperado, proporciónele un vaso con agua.

b. Procedimiento de toma de muestra por punción capilar:

- Coloque el material a utilizar sobre una superficie limpia y plana.
- Escoja el área donde se va realizar la punción, se recomienda el dedo índice o medio de la mano izquierda, en niños muy pequeños el dedo gordo del pie o el talón. Si se opta por el dedo índice, la punción se hará en el costado del dedo en vez de la yema.
- Realice una limpieza del área con algodón humedecido en alcohol.
- Dejar secar el área e Introducir la lanceta hasta realizar una perforación en la piel.
- Deseche la lanceta en un contenedor adecuado para objetos corto punzantes.
- Elimine la primera gota de sangre con un algodón seco estéril.
- Mantenga el dedo por debajo de la altura del codo o el talón hacia abajo, presione suavemente varias veces en intervalos cortos.
- Toque con la punta del tubo capilar con anticoagulante la gota de sangre.
- Llene 1 tubo capilar hasta que el nivel de sangre se sitúe entre las 2 líneas marcadas del capilar. (evite la formación de burbujas de aire)
- Seque el área de la punción con algodón seco.
- Una vez que deje de sangrar retire el algodón y coloque una curita.

c. Procedimiento de toma de muestra con papel filtro para ADN Proviral (Anexo 4):

- Coloque el material utilizado para toma de muestra capilar y una tarjeta de papel filtro sobre una superficie limpia, plana y seca.
- Antes de tomar la muestra escriba claramente en la tarjeta el código del paciente, edad, sexo, procedencia (SILAIS) y fecha de recolección.
- Siga el procedimiento de toma de muestra capilar descrito anteriormente para obtener la muestra.
- Una vez realizada la punción, presione suavemente varias veces hasta que se acumule una gota grande de sangre (aproximadamente 50ul).
- Sin tocarlo con el dedo coloque la gota sobre el primer círculo del papel filtro, dejar absorber la gota de sangre hasta quedar impregnada totalmente en el interior del círculo.
- Mantener el dedo/pie presionado a intervalos hasta completar los 5 círculos de la tarjeta (en casos difíciles llenar al menos 3 círculos).
- La muestra debe cubrir completamente el área delimitada del papel filtro (aproximadamente 6mm de diámetro)
- Limpie el área de punción con un algodón seco o gasa estéril
- Coloque la tarjeta de papel filtro en posición horizontal en el soporte de secado sin tocar el área donde está la muestra.

d. Conservación de la muestra en papel filtro (Anexo 5):

- Deje secar las tarjetas de papel filtro en el soporte por 24 horas a temperatura ambiente y en un área seca, limpia, libre de polvo u otros contaminantes, sin exponerlas al sol.
- No coloque una muestra encima de otra.
- No deje que la muestra se ponga en contacto con ningún objeto mientras se esté secando.
- Almacenar las tarjetas después de haber sido debidamente secadas en bolsas con desecantes y con la solicitud de la prueba correspondiente.

3. 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 (Anexo 2).

Alcance:

Este procedimiento debe ser ejecutado por personal capacitado de los diferentes

establecimientos de salud, laboratorios de la red diagnóstica de VIH e instituciones públicas y privadas que trabajan en el diagnóstico del VIH/sida.

Responsable:

Profesionales y técnicos que trabajan en los establecimientos del Ministerio de Salud, e instituciones públicas y privadas que realizan el diagnóstico del VIH/sida.

Muestra:

- Sangre total.
- Suero.
- Plasma.

Formularios y Registros:

- Libro de registro.
- Solicitud de prueba de ADN Proviral, Carga viral, CD3, CD4, CD8 (Formularios 4,5 en Anexos).
- Solicitud de prueba de VIH (Formulario 6 en Anexos).

Equipos:

- Centrifuga de tubos de ensayo 16x100 y 12x75 mm.
- Pipetas automáticas 200-1000 µl.

Materiales:

- Puntas para pipetas automáticas 200-1000 µl.
- Viales 1.5 – 2 ml.
- Gradillas para tubos 16 mm.
- Bolígrafos.
- Marcadores permanentes.
- Guantes descartables.

Reactivos:

- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Hipoclorito de sodio al 0.5%.

Formularios y Registros:

- Libro de registro.
- Solicitud de prueba de ADN Proviral, Carga viral, CD3, CD4, CD8 (Formularios 4,5 en Anexos).
- Solicitud de prueba de VIH (Formulario 6 en Anexos).

a. Obtención de suero para el diagnóstico serológico de VIH:

- Rotule el tubo con el código del paciente que aparece en la solicitud de la prueba.
- Realice el procedimiento de toma de muestra siguiendo los pasos indicados en el capítulo II de esta guía, según el método de toma de muestra utilizado para la extracción de sangre garantice el correcto llenado de los tubos de ensayo al vacío (plástico o de vidrio) de 16 x 100 mm sin anticoagulante o tubos capilares, para obtener el volumen de sangre deseado leer Anexo 3.
- Si la técnica de extracción de sangre utilizada es venosa, mantenga el tubo a temperatura ambiente y en posición vertical hasta que se retraiga el coágulo (aproximadamente 30 minutos).
- Centrifugue a 3000 rpm durante 5 minutos.
- Distribuya el volumen de suero obtenidos tras la centrifugación, en tubos o viales limpios, siguiendo las indicaciones de distribución de volumen según anexo 2.
- Asegúrese de tapar y rotular adecuadamente los tubos o viales con el código del paciente.

Nota: En la toma de sangre por punción venosa se debe tomar aproximadamente 5 a 6 ml de muestra para garantizar el volumen de suero indicado en el anexo 3.

b. Obtención de sangre total para el recuento de CD3/CD4/CD8 y ADN Proviral:

- Rotule el(los) tubo(s) con el código del paciente que aparece en la solicitud de la prueba correspondiente.
- Realice el procedimiento de toma de muestra por venopunción utilizando tubos de ensayo al vacío con anticoagulante EDTA K2/K3 de 12 x 75 mm, según se indica en el capítulo II de esta guía. El volumen de sangre requerido es indicado en el anexo 2.
- Mezcle los tubos por inversión para evitar formación de coágulo.

c. Obtención de plasma para análisis de carga viral:

- Rotule el(los) tubo(s) con el código del paciente que aparece en la solicitud de la

prueba correspondiente.

- Realice el procedimiento de toma de muestra por venopunción utilizando tubos de ensayo al vacío con anticoagulante EDTA K2/K3 de 12 x 75 mm, según se indica en el capítulo II de esta guía. El volumen de sangre requerido es indicado en el anexo 2.
- Mezcle los tubos por inversión para evitar formación de coágulo.
- Centrifugue a 2500 rpm durante 20 minutos.
- Utilice puntas nuevas estériles para pasar el plasma a 2 viales estériles debidamente rotulados con el código de la muestra. Cada vial debe contener al menos 1.5 ml de plasma.

4. 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.

Alcance:

Este procedimiento debe ser ejecutado por personal capacitado de los diferentes establecimientos de salud, laboratorios de la red diagnóstica de VIH e instituciones públicas y privadas que trabajan en el diagnóstico del VIH/sida.

Responsable:

Profesionales, técnicos, personal del componente de VIH y/o vigilancia epidemiológica de los diferentes establecimientos del Ministerio de Salud, e instituciones públicas y privadas que realizan el diagnóstico del VIH/sida.

Muestra:

- Sangre total.
- Suero.
- Plasma.

Formularios y Registros:

- Libro de registro.
- Formulario de Solicitud de pruebas.
- Solicitud de prueba de VIH (Anexos).
- Formato de envío de muestras para control de calidad y confirma del diagnóstico Serológico de VIH (Formato 7 en Anexos).

Equipos:

- Freezer -20°C.
- Refrigeradora 2-8°C.

Materiales:

- Guantes descartables.
- Bolígrafos.
- Marcadores permanentes.
- Recipientes de envíos de muestras, primarios y secundarios.
- Papel absorbente.
- Termo.
- Refrigerante.
- Termómetro de 1 a 25 °C.
- Bolsas con cierre hermético impermeables.
- Sobres de papel cera.
- Tarjetas indicadoras de humedad.
- Paquetes de sílica gel.
- Sobres tamaño carta.
- Bolsas plásticas.
- Engrapadora.

a. Envío de muestras para confirmación y control de calidad de VIH

Muestras reactivas por pruebas rápidas (confirmación en SILAIS): Anexo 6

;

- Siga los pasos indicados para la toma de muestra de sangre en el capítulo 2 de la presente guía de procedimientos.
- Si tiene centrifuga de laboratorio, centrifugue a 3000 rpm durante 5 minutos, si no la tiene deje en reposo al menos por 30 minutos a temperatura ambiente para permitir la separación del coágulo.
- Separe 3 alícuotas (viales) de las muestras de suero o plasma que resulten

reactivas.

- Distribuya de la siguiente manera; 2 alícuotas con 0,5 ml de suero o plasma cada una y una con 1 ml de suero o plasma con las siglas CNDR en la tapa del vial.
- Escriba el código del usuario(a) en el costado a los tres tubos o viales.
- Enviar dos alícuotas, la primera de 0.5 ml de suero o plasma y la segunda de 1 ml de suero o plasma, con el código del usuario al laboratorio del SILAIS para realizar las pruebas de confirmación.
- La alícuota de 1 ml debe almacenarse en el SILAIS y de ser necesario se enviará al CNDR para su respectiva confirmación.
- Guarde el tercer tubo o vial de 0.5 ml en su laboratorio a -20°C al menos durante 2 meses, (o hasta obtener el resultado del laboratorio de referencia correspondiente) si no cuenta con freezer, almacene la muestra a 4°C al menos 1 semana.

Muestras no reactivas por pruebas rápidas (control de calidad en el SILAIS): Anexo 7

- Envíe mensualmente al laboratorio de referencia del SILAIS, el 10 % de las muestras no reactivas para su control de calidad, es decir: por cada 10 muestras no reactivas por prueba rápida A1 seleccione una al azar, separe la muestra en 3 alícuotas.
- Envíe 1 alícuota con 0.5 ml de suero o plasma y otra con 1ml de suero o plasma con las siglas CNDR al laboratorio de referencia del SILAIS para realizar el control de calidad.
- Guarde la tercer alícuota con 0.5 ml de suero o plasma en su laboratorio a 4°C.
- Si el resultado del control de calidad es NEGATIVO descarte la muestra del tubo número 3.

Muestras positivas por ELISA o discrepantes en alguna de las pruebas (Confirmación en CNDR): Anexo 8

- Envíe todas las muestras Positivas por ELISA o aquellas que tengan alguna discrepancia diagnóstica entre las pruebas rápidas y la prueba ELISA VIH en un término no mayor a de tres días hábiles.
- Separe 2 alícuotas en viales o tubos, de las muestras que resulten positivas a ELISA VIH.
- Almacene una alícuota con 0,5 ml de suero y plasma en su laboratorio, envíe la segunda alícuota con 1 ml de suero o plasma al CNDR para realizar confirmación de resultado
- Guarde la alícuota de 0.5 ml en su laboratorio a -20°C al menos durante 2 meses, si no cuenta con freezer almacene la muestra a 4°C por al menos 1 semana.

Muestras negativas por ELISA (Control de calidad en CNDR): Anexo 9

- Seleccione 1 de cada 10 muestras negativas y realice 2 alícuotas por muestra, envíe una al CNDR de 1 ml de suero o plasma y guarde la otra con 0.5 ml de suero o plasma como respaldo, en caso de proceder de los Centro de Salud envíe la muestra marcada como CNDR.
- Descarte las muestras cuando obtenga los resultados.

Envío de muestra para la cuantificación de linfocitos T CD3, CD4, CD8:

- Para la toma de muestra proceda acorde a los pasos indicados en el capítulo II de la presente guía de procedimiento.
- En el tubo escriba el código tal como aparece en la solicitud de prueba con marcador permanente y con letra legible.
- Tome la muestra en un tubo que contenga EDTA K2/K3.
- Obtenga el volumen de muestra tal y como lo indica en el anexo 2.
- Mezcle inmediatamente la muestra para evitar la formación de fibrina o coágulo invirtiendo de 8 a 10 veces el tubo.
- Realice embalaje de la muestra en un recipiente primario y después en uno secundario como se describió anteriormente.
- Coloque las muestras en un termo que contenga refrigerante que alcance temperaturas entre 15-20°C.
- Envíe la muestra con su respectiva ficha al CNDR - MINSA por la mañana en un lapso no mayor de 6 horas después de la extracción de la muestra. Transporte las muestras protegidas del sol.
- Coloque el material contaminado en hipoclorito de sodio al 0.5%. No congelar las muestras, ni someterlas a altas temperaturas.

Envío de muestra para la cuantificación de carga viral:

- Para la toma de muestra proceda acorde a los pasos indicados en el capítulo II de la presente guía de procedimiento.
- Codifique el tubo y la orden médica con código de barra o marcador indeleble.
- Obtenga el volumen de muestra tal y como lo indica en el anexo 2.
- Mezcle inmediatamente la muestra para evitar la formación de fibrina y/o coágulo, invirtiendo el tubo 8 a 10 veces.
- Centrifugue la muestra a 2500 rpm durante 20 minutos.
- Transfiera el plasma obtenido a 2 viales de 1.5 ml cada uno.
- Realice embalaje de dos alícuotas por muestra como se describe en el tema b. del presente capítulo.

Nota: Asegúrese de realizar cada uno de los envíos de muestras a los diferentes laboratorios de referencia acompañados con el formulario de Envío de muestras para control de calidad y confirma del diagnóstico Serológico de VIH (anexo 19).

b. Procedimiento de embalaje de muestras

Plasma, Suero y/o Sangre Total:

- Coloque la muestra en un recipiente primario a prueba de agua, bien cerrado (tubo pequeño ó vial). Antes de embalarlo para su envío, la parte externa del recipiente debe ser examinada cuidadosamente y limpiarse en caso de que haya sangre u otros contaminantes.
- Introduzca el recipiente primario con la muestra en un recipiente secundario, el cual debe ser a prueba de agua y de material resistente.
- Llene el espacio entre los recipientes primario y secundario con material absorbente (papel toalla o algodón), para absorber el contenido del recipiente primario en caso que ocurra una pérdida durante el transporte. Luego, el recipiente secundario debe taparse bien y fijarse con cinta.
- Coloque refrigerantes dentro de un termo y espere aproximadamente 30 minutos que alcance la temperatura adecuada para el transporte de muestras.
- Introduzca el recipiente secundario previamente empacado con las muestras en el termo.
Asegúrese de colocar los formatos de solicitud de prueba y el formulario de envío de muestras para control de calidad y confirma del diagnóstico Serológico de VIH (anexo 19) con la información completa y con la codificación correspondiente a cada una de las muestras a ser enviadas, insértelas en un sobre identificado con el nombre del destinatario y remitente, este debe colocarse, dentro de una bolsa de plástico y pegarse con cinta adhesiva en el exterior del termo.
- Cierre el termo herméticamente.
- Al transportar las muestras en el termo, debe evitar que este entre en contacto con el sol, de lo contrario puede afectar la calidad de las muestras.

Muestra de sangre seca en papel filtro: Anexo 10

- Una vez seca la muestra (inciso c y d capítulo II) coloque la tarjeta de papel filtro dentro de un sobre de papel de cera.
- Coloque el sobre de papel de cera doblado dentro de una bolsa plástica de cierre hermético (Se pueden guardar hasta 5 muestras en una misma bolsa).
- Inserte de 3-5 desecantes dentro de la bolsa y una tarjeta para medir la humedad.
- Presione la bolsa para sacar todo el aire y ciérrela. Asegúrese que la bolsa este bien cerrada.
- Mantenga las tarjetas de muestras en la bolsa plástica cerrada, en un lugar fresco y seco a temperatura ambiente hasta ser enviadas al laboratorio.

- Coloque la bolsa que contiene las muestras dentro de un sobre de manila protector para evitar que sufra maltrato en el envío.
- Coloque las fichas de solicitud en el sobre. Engrape el sobre para que se mantenga cerrado y envíe al CNDR.
- Evite dejarlo en el vehículo a plena luz del sol.

5. 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 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 inmunocromatográfico.

Alcance:

Personal de laboratorio en los diferentes establecimientos de salud e instituciones públicas y privadas que trabajan en el diagnóstico del VIH/sida. Personal capacitado para realizar pruebas rápidas de laboratorio.

Responsable:

Profesionales y técnicos de los diferentes establecimientos del Ministerio de Salud, e instituciones públicas y privadas que realizan el diagnóstico del VIH/sida.

Muestra:

- Sangre total.
- Suero.

- Plasma.

Formularios y Registros:

- Libro de registro.
- Formulario de Solicitud de pruebas (anexo 18).
- Formato de resultado (anexo 13).

Materiales:

- Pipetas descartables.
- Cronómetros.
- Marcadores permanentes.
- Bolígrafo.
- Tubos capilares o tubos de ensayo
- Instructivos del ensayo.
- Dispositivo de ensayo

Reactivos:

- Buffer de corrida.
- Controles internos (Positivo y Negativo).
- Hipoclorito de sodio al 0.5%.

Procedimiento:

- Leer instructivo del Kit. Ensayo 4ta generación. Combo Ag/ Ac.
- Leer instructivo del Kit. Ensayo 3ra generación. Detección de Ac.
- Debe seguirse estrictamente los procedimientos detallados en los instructivos de las casas comerciales autorizadas por el CNDR-MINSA.
- Respetar tiempos y temperaturas de almacenamiento del kit.
- Mantener el kit a una temperatura estable de 2-8°C protegidos de la luz y de la humedad.
- Una vez abierto el kit mantener las pruebas restantes en su bolsa de cierre hermético, con el desecante del kit, cerrar la bolsa inmediatamente después de que se saca la prueba a utilizar.
- Para una rápida vista de la interpretación de la prueba leer anexo 11.

b. Prueba Rápida A2 “Ensayo para la detección de antígenos y anticuerpos VIH1/2”:

El uso de 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 inmunocromatográfico.

Alcance:

Personal de laboratorio en los diferentes establecimientos de salud e instituciones públicas y privadas que trabajan en el diagnóstico del VIH/sida. Personal capacitado para realizar pruebas rápidas de laboratorio.

Responsable:

Profesionales y técnicos de los diferentes establecimientos del Ministerio de Salud, e instituciones públicas y privadas que realizan el diagnóstico del VIH/sida.

Muestra:

- Sangre total
- Suero
- Plasma

Formularios y Registros:

- Libro de registro
- Formulario de solicitud de prueba de VIH (anexo 18)
- Formato de resultado (anexo 13)

Materiales:

- Cronómetros
- Marcadores permanentes
- Bolígrafo
- Tubos capilares o tubos de ensayo
- Instructivos del ensayo
- Dispositivo de ensayo

Reactivos:

- Buffer de corrida.
- Controles internos (Positivo y Negativo)
- Hipoclorito de sodio al 0.5%

Procedimiento:

- Leer instructivo del Kit.
- Debe seguirse estrictamente los procedimientos detallados en los instructivos de las casas comerciales autorizadas por el CNDR-MINSA.
- Respetar tiempos y temperaturas de almacenamiento del kit.
- Mantener el kit a una temperatura estable de 2-8°C protegidos de la luz y de la humedad.
- Para una rápida vista de la interpretación de la prueba leer anexo 12.

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

El uso de 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.

Alcance:

Personal de laboratorio clínico de los diferentes establecimientos que funcionan como centros de referencia regional o nacional para el diagnóstico de VIH/sida del MINSA y personal de las instituciones públicas o privadas que trabajan en el diagnóstico del VIH/sida realizando la técnica de ELISA.

Responsable:

Profesionales y técnicos de los establecimientos del Ministerio de Salud que funcionan como centro de referencia regional o nacional para el diagnóstico de VIH/sida e instituciones públicas y privadas que realizan el diagnóstico del VIH/sida utilizando la técnica de ELISA.

Muestra:

- Suero
- Plasma

Formularios y Registros:

- Libro de registro
- Formulario de solicitud de prueba de VIH (anexo 18)
- Formato de resultado (anexo 14)

Equipos:

- Lector ELISA, longitud de onda única 450+ 5nm y 620-700nm.
- Incubadora
- Mezclador vortex
- Micro agitador, velocidad aproximada 900 rpm.
- Lavador ELISA con sistema de aspiración y lavado de micro pozos.
- Recipiente para almacenar los desechos aspirados por el lavador ELISA.
- Pipeta multicanal 5-50µl
- Pipeta automática 10-100µl
- Pipeta automática 1000µl

Materiales:

- Marcadores permanentes
- Bolígrafo
- Recipiente de desechos biológicos peligrosos
- Papel absorbente
- Guantes desechables
- Cronómetro
- Recipientes desechables para la preparación de sustrato
- Punta de pipeta automática de 5-100µl
- Punta de pipeta automática de 50-200µl
- Punta de pipeta automática de 100-1000µl

Reactivos:

- Kit ELISA de trabajo
- Alcohol isopropílico al 70%
- Agua destilada o desionizada
- Hipoclorito de sodio al 0.5%
- Controles internos (Positivo y Negativo)

- Hipoclorito de sodio al 0.5%

Procedimiento:

- Leer instructivo del Kit.
- Debe seguirse estrictamente los procedimientos detallados en los instructivos de las casas comerciales autorizadas por el CNDR-MINSA.
- Respetar tiempos y temperaturas de almacenamiento del kit.
- Mantener el kit a una temperatura estable de 2-8°C protegidos de la luz y de la humedad.

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

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

Alcance:

Al personal del Departamento de Virología del CNDR que realiza la prueba de Western blot de VIH.

Responsable:

Coordinador del departamento de virología del CNDR y personal que realiza la técnica.

Muestra:

- Suero
- Plasma

Formularios y Registros:

- Libro de registro
- Formulario de solicitud de prueba de VIH (anexo 18)
- Formato de resultado (anexo 15)

Equipos:

- Pipetas de transferencia
- Pipeta automática de 50-200µl

- Pipeta automática de 1-5ml
- Rotador serológico

Materiales:

- Marcadores permanentes
- Bolígrafo
- Recipiente de desechos biológicos peligrosos
- Papel absorbente
- Guantes desechables
- Cronómetro
- Recipientes desechables para la preparación de sustrato
- Punta de pipeta automática de 1-5 ml
- Viales de 1.5ml
- Beakers
- Erlenmeyer
- Probetas
- Pipeta automática de 1 a 5 ml

Reactivos:

- Tiras de nitrocelulosa
- Kit de western blot
- Agua destilada o desionizada
- Hipoclorito de sodio al 0.5%
- Guantes descartables
- Bandeja de incubación

Procedimiento:

- Leer instructivo del Kit.
- Debe seguirse estrictamente los procedimientos detallados en los instructivos de las casas comerciales autorizadas por el CNDR-MINSA.
- Respetar tiempos y temperaturas de almacenamiento del kit.
- Mantener el kit a una temperatura estable de 2-8°C protegidos de la luz y de la humedad.

Nota:

- Un resultado Negativo no constituye una garantía de la ausencia del agente causal del Sida. Se recomienda repetir la muestra indeterminada (Dudosa) del tubo original y de una nueva muestra seriada. Se debe repetir la toma de muestras 3 meses después de emitido el resultado.
- Los anticuerpos frente a la p24 y la p31 disminuyen durante el curso del Sida lo que provoca un desplazamiento de la interpretación de positiva a dudosa por consiguiente, en tales circunstancias, la interpretación de los resultados debe basarse en las transferencias posteriores y en las evaluaciones clínicas.

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 VIH-1 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.

Alcance:

Al personal del Departamento de Virología del CNDR que realiza la prueba de carga viral de VIH.

Responsable:

Coordinador del departamento de virología del CNDR y personal que realiza la técnica.

Muestra:

- Plasma

Formularios y Registros:

- Libro de registro
- Formulario de solicitud de prueba de VIH (anexo 16)

Equipos:

- Equipo de extracción de ARN/ARN automatizado
- Equipo de cuantificación de ARN/ADN en tiempo real
- Cabina para PCR tipo II
- Refrigerador 2 – 8°C
- Freezer – 80 °C
- Pipeta automática de 50-200µl
- Pipeta automática de 100-1000µl

Materiales:

- Guantes sin talco
- Guantes para almacenamiento en frío (-80°C)
- Bolígrafos
- Marcadores permanentes
- Formatos de registros
- Viales 1.5 ml
- Papel absorbente
- Pipetas de transferencia
- Puntas para micropipeta con filtro de 50-200µl
- Puntas para micropipeta con filtro de 100-1000µl
- Campos de trabajo desechables
- Bolsas de descarte (riesgo biológico) 8"x12"
- Bolsas de descarte (riesgo biológico) 25"x35"
- Cajas almacenadoras de 81 posiciones
- Racks de almacenamiento

Reactivos:

- Kit de carga viral
- Alcohol al 70%
- solución RNAsa
- Hipoclorito de sodio al 0.5%

Procedimiento:

- Leer instructivo del Kit.
- Debe seguirse estrictamente los procedimientos detallados en los instructivos de

las casas comerciales autorizadas por el CNDR-MINSA.

- Respetar tiempos y temperaturas de almacenamiento del kit.
- Mantener el kit a una temperatura estable de 2-8°C protegidos de la luz y de la humedad.

Nota: Rango de referencia del método es de 20 - 10, 000,000 cp/ml HIV ARN.

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.

Alcance:

Personal de laboratorio clínico de los diferentes establecimientos que funcionan como centros de referencia regional o nacional del MINSA para el monitoreo de VIH/sida mediante el recuento de CD3/CD4/.

Responsable:

Profesionales y técnicos de los establecimientos del Ministerio de Salud que funcionan como centro de referencia regional o nacional.

Muestra:

- Sangre total con anticoagulante EDTA K2/K3

Formularios y Registros:

- Libro de registro
- Formulario de solicitud de prueba de VIH (anexo 16)

Equipos:

- Citómetro de flujo
- Mezclador de sangre tipo vortex

- Refrigeradora 2-8 °C
- Pipeta automática de 50-200µl
- Pipeta automática de 100-1000µl

Materiales:

- Guantes descartables
- Contenedor de desechos
- Papel térmico
- Viales 1.5ml
- Marcadores permanentes
- Bolígrafos
- Formatos de registros
- Termo
- Puntas para micropipeta con filtro de 50-200µl
- Puntas para micropipeta con filtro de 100-1000µl
- Papel absorbente
- Campos de trabajo desechables
- Bolsas de descarte (riesgo biológico) 8"x12"
- Bolsas de descarte (riesgo biológico) 25"x35"

Reactivos:

- Reactivos del Kit
- Controles internos
- Solución líquida
- Alcohol isopropílico al 70%
- Agua destilada
- Hipoclorito de sodio al 0.5%

Procedimiento:

- Leer instructivo del Kit.
- Debe seguirse estrictamente los procedimientos detallados en los instructivos de las casas comerciales autorizadas por el CNDR-MINSA.

- Respetar tiempos y temperaturas de almacenamiento del kit.
- Mantener el kit a una temperatura estable de 2-8°C protegidos de la luz y de la humedad.

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.

Alcance:

Al personal del Departamento de Virología del CNDR que realiza la prueba de carga viral de VIH.

Responsable:

Coordinador del departamento de virología del CNDR y personal que realiza la técnica.

Muestra:

- Sangre total con EDTA K2/K3
- Muestra seca en papel filtro

Formularios y Registros:

- Libro de registro
- Formulario de solicitud de prueba de VIH (anexo 17)

Equipos:

- Equipo de extracción de ARN/ARN automatizado
- Equipo de cuantificación de ARN/ADN en tiempo real
- Cabina para PCR tipo II
- Refrigerador 2 – 8°C

- Freezer – 80 °C
- Pipeta automática de 50-200µl
- Pipeta automática de 100-1000µl

Materiales:

- Guantes sin talco
- Guantes para almacenamiento en frío (-80°C)
- Bolígrafos
- Marcadores permanentes
- Formatos de registros
- Viales 1.5 ml
- Papel absorbente
- Pipetas de transferencia
- Puntas para micropipeta con filtro de 50-200µl
- Puntas para micropipeta con filtro de 100-1000µl
- Campos de trabajo desechables
- Bolsas de descarte (riesgo biológico) 8"x12"
- Bolsas de descarte (riesgo biológico) 25"x35"
- Cajas almacenadoras de 81 posiciones
- Racks de almacenamiento

Reactivos:

- Kit de ADN Proviral
- Alcohol al 70%
- solución RNAsa
- Hipoclorito de sodio al 0.5%

Procedimiento:

- Leer instructivo del Kit.
- Debe seguirse estrictamente los procedimientos detallados en los instructivos de las casas comerciales autorizadas por el CNDR-MINSA.
- Respetar tiempos y temperaturas de almacenamiento del kit.
- Mantener el kit a una temperatura estable de 2-8°C protegidos de la luz y de la humedad.

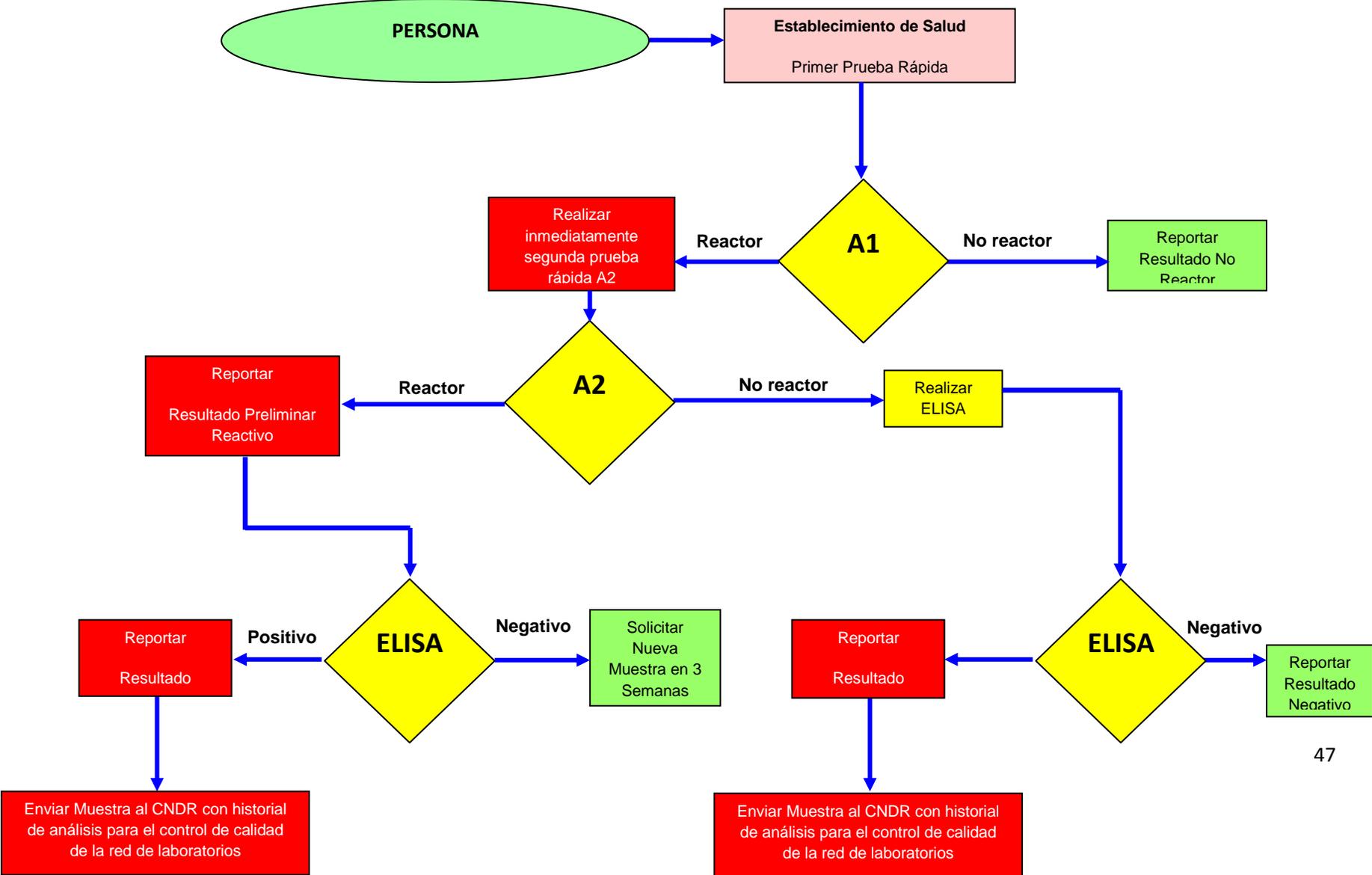
XII. Anexo

Anexo 1
REPUBLICA DE NICARAGUA
MINISTERIO DE SALUD
ALGORITMO DE PRUEBAS DIAGNOSTICAS DE VIH

C
E
N
T
R
O
S
D
E
S
A
L
U
D

L
A
B
O
R
A
T
O
R
I
O

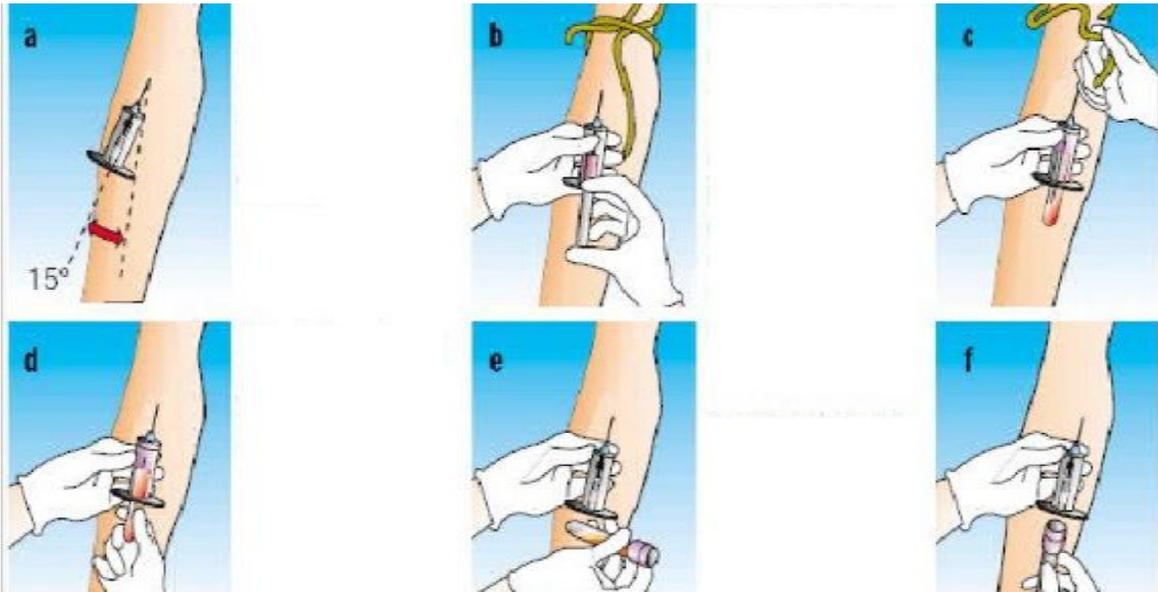
C
N
D
R



Anexo 2
Distribución del Volumen de Muestra Requerido Según Tipo de Análisis

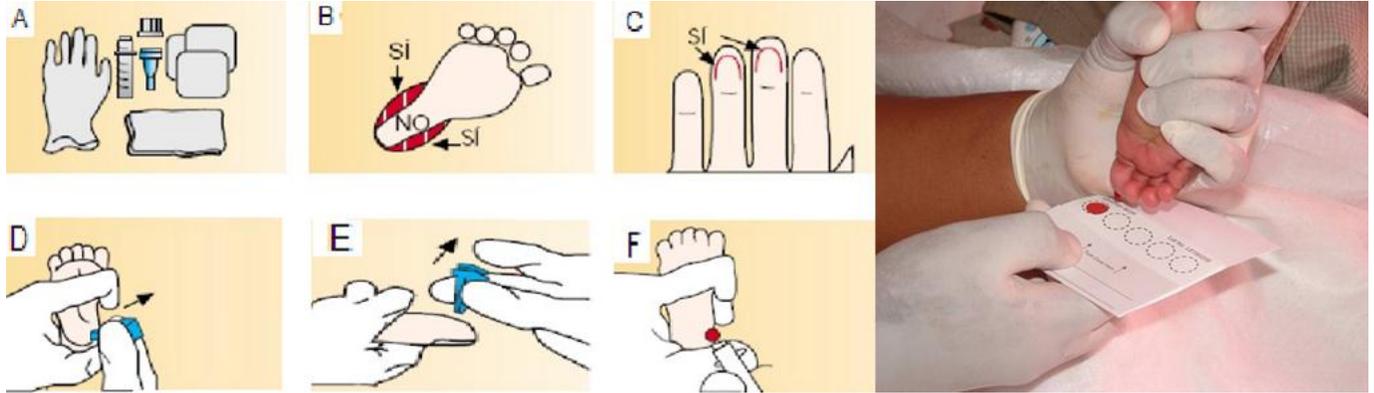
Propósito	Tipo de Muestra	Volumen
Diagnóstico Serológico de VIH por venopunción (Prueba Rápida, ELISA, Western Blot)	Suero	2 ml
	Plasma	2 ml
ADN Proviral	Sangre total	5 ml 2-3ml en niños
	Sangre seca en papel filtro	5 círculos completos (mínimo 3)
Carga viral	Sangre total	5 ml
	Plasma	2 viales de 1 .5 ml cada uno
Recuento de linfocitos T CD3, CD4, CD8	Sangre total	5 ml en adultos 2-3 ml en niños

Anexo 3
Toma de muestra venosa



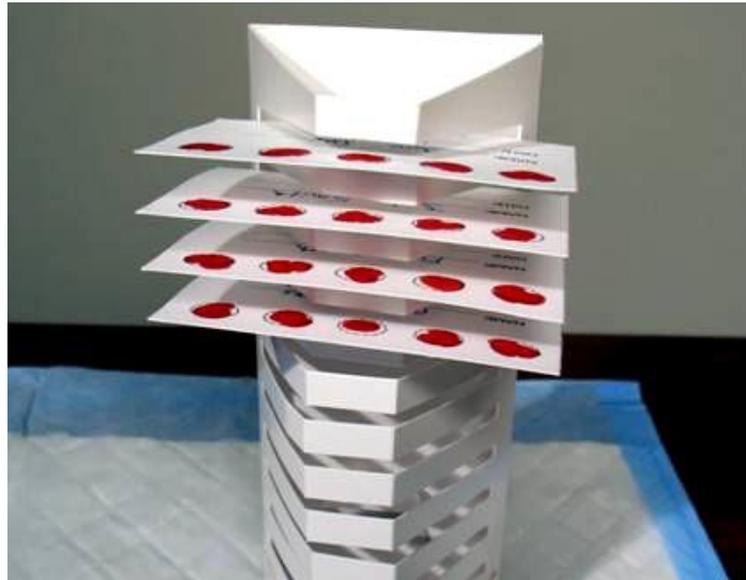
Fuente: Material didáctico CNDR-MINSA

Anexo 4 Toma y recolección de muestra en papel filtro



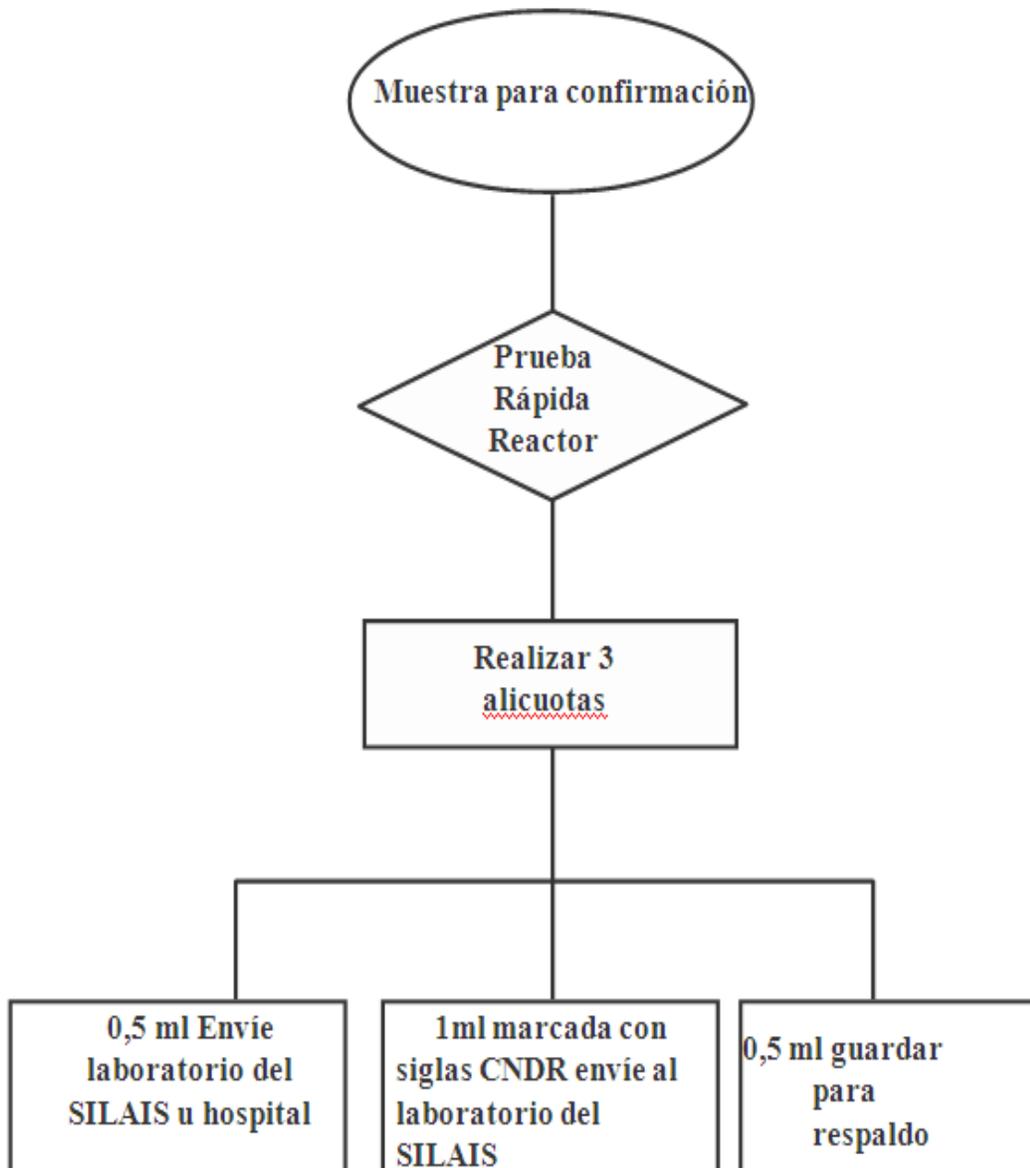
Fuente: Material didáctico departamento de virología CNDR MINSA.

Anexo 5 Secado de muestra en el soporte para papel filtro



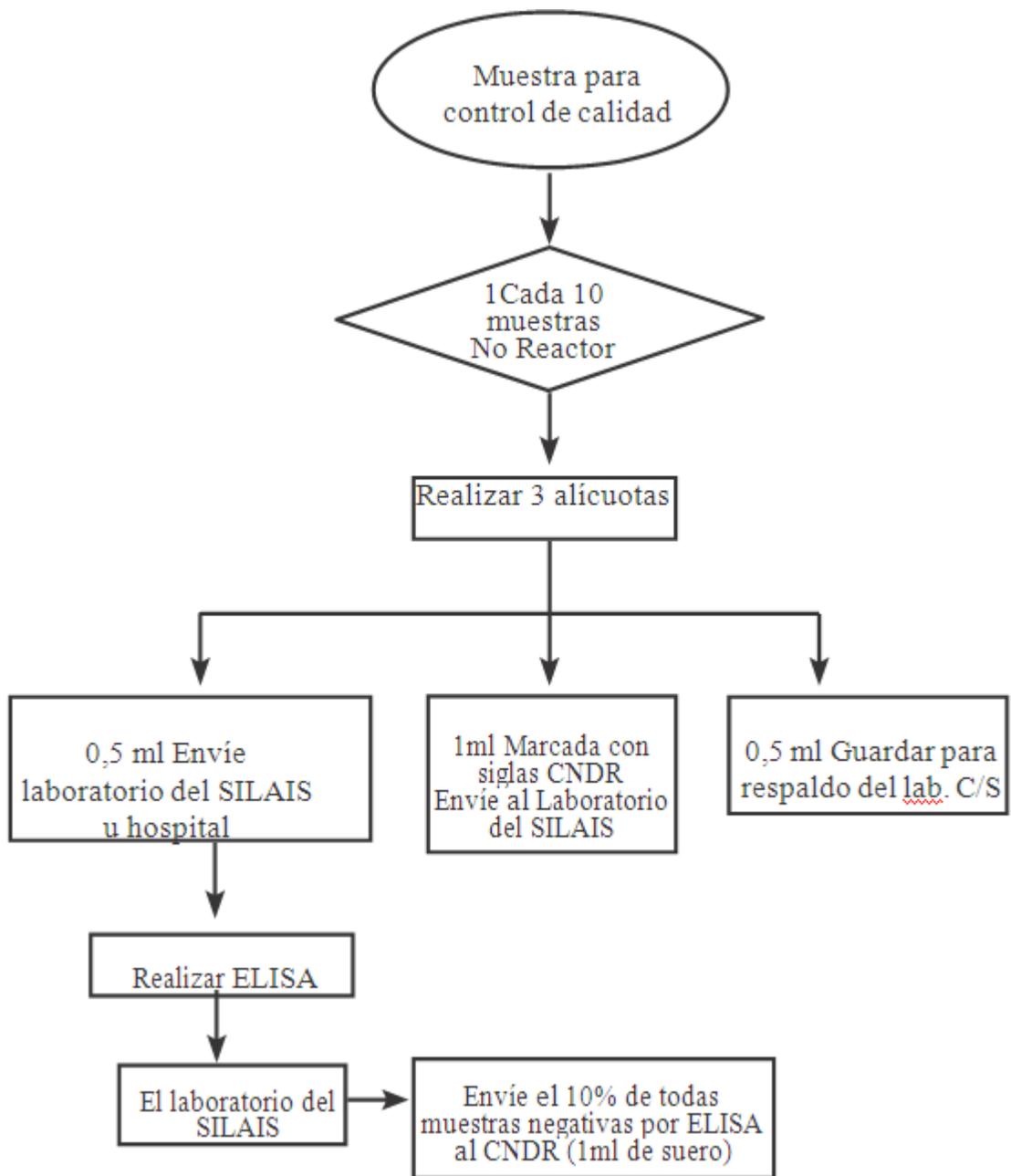
Fuente: Material didáctico departamento de virología CNDR MINSA.

Anexo 6
Muestras Reactivas por Pruebas Rápidas (Confirmación en SILAIS)

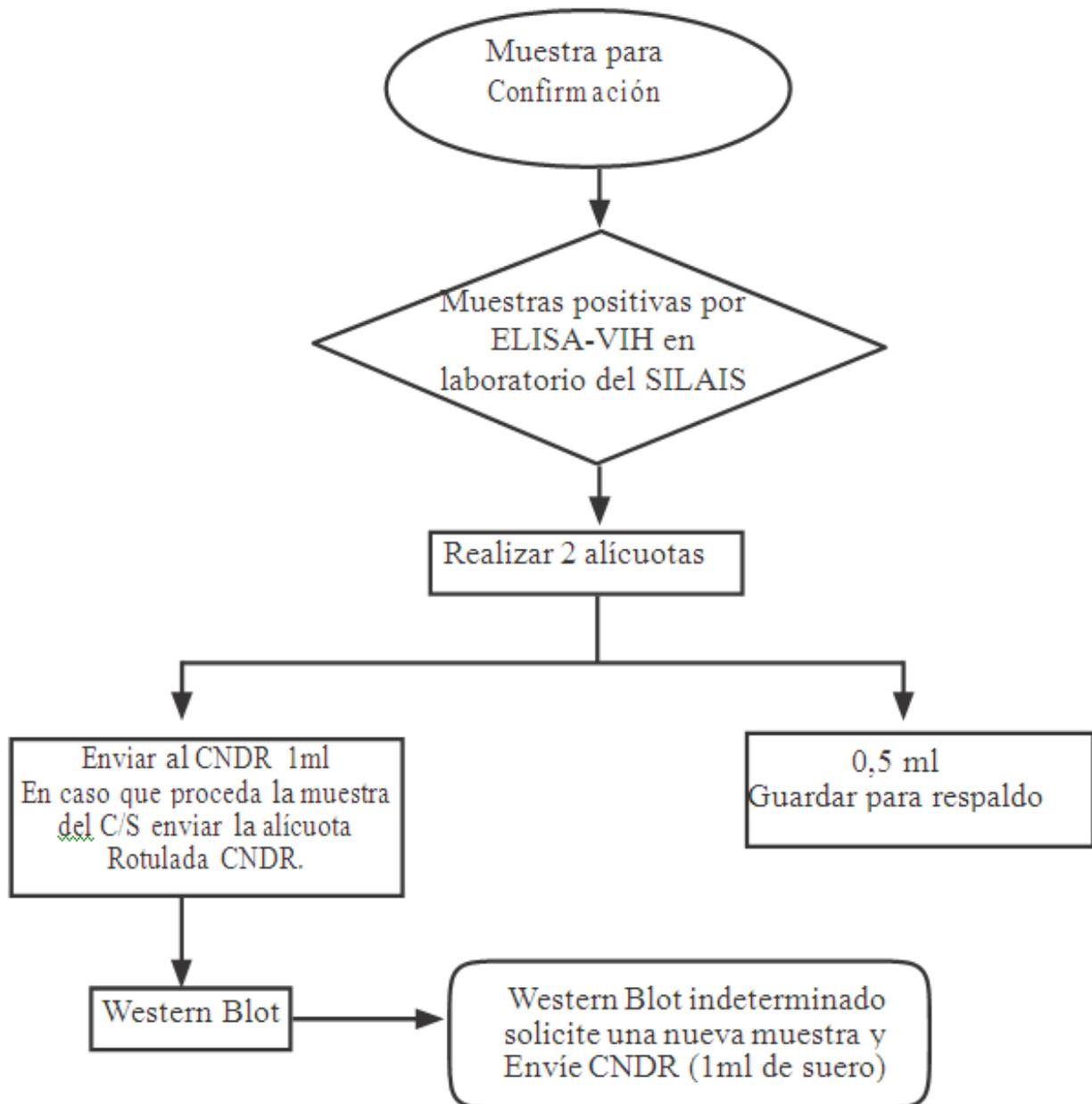


Anexo7

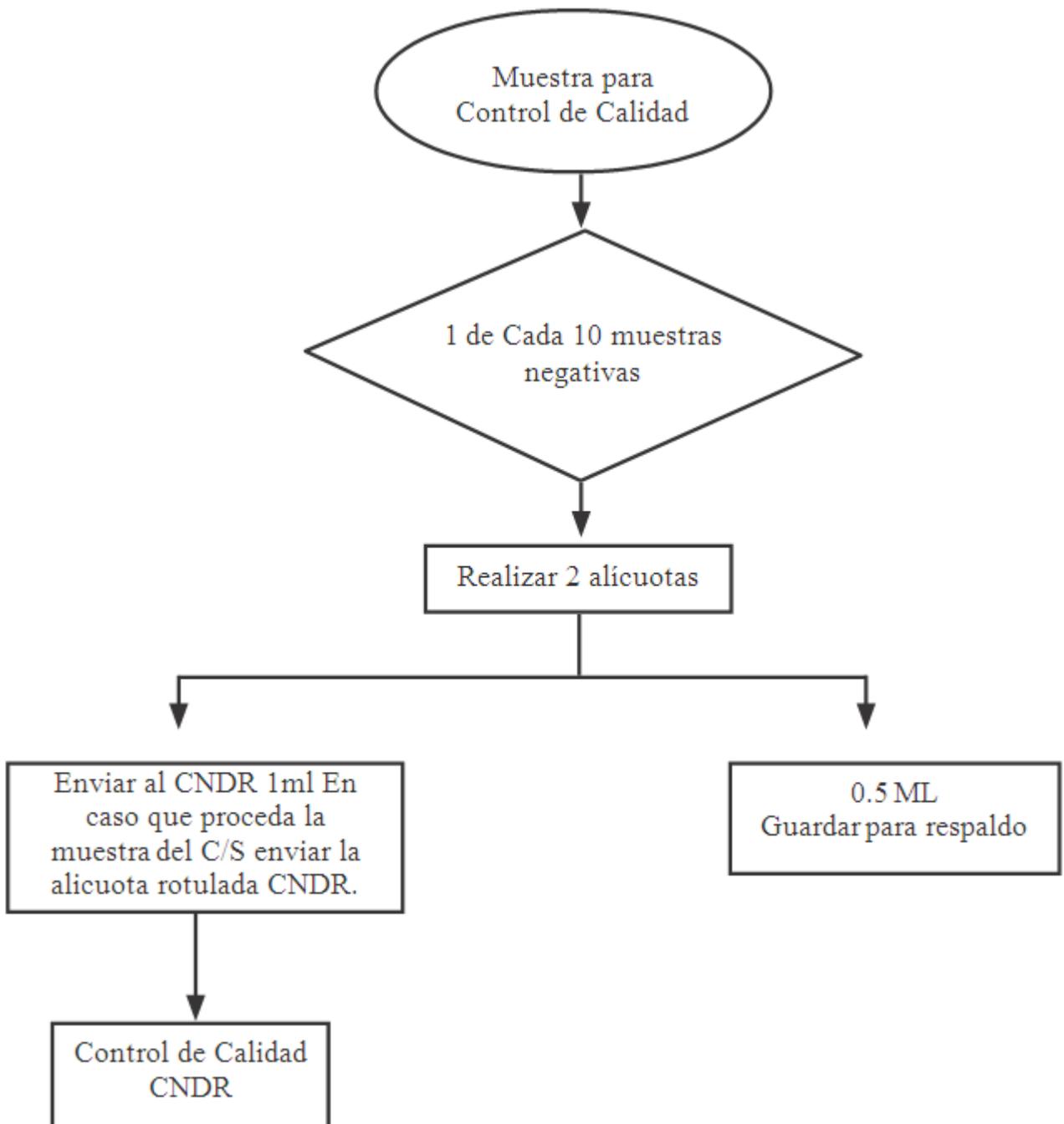
Muestras no reactivas por pruebas rápidas Control de calidad en SILAIS)



Anexo 8
Muestras positivas por ELISA (Confirmación en CNDR)



Anexo 9
Muestras negativas por ELISA (Control de calidad en CNDR)

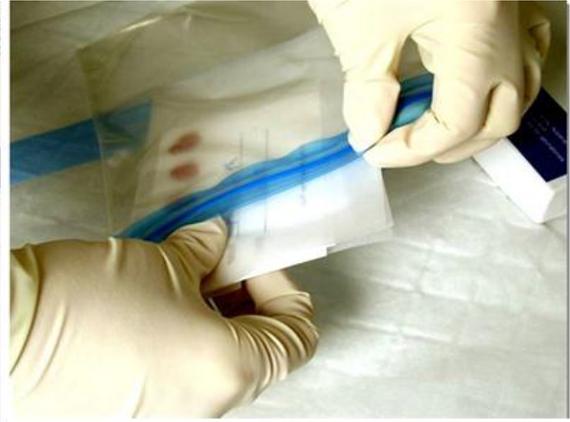


Anexo 10
Embalaje de sangre seca en papel filtro

A



B



C



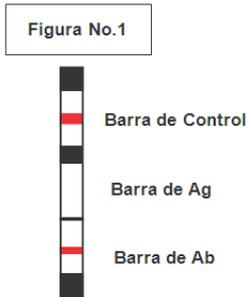
D



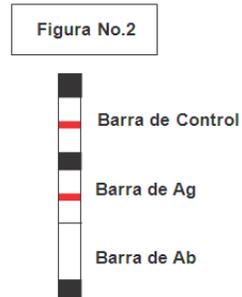
Fuente: Material didáctico departamento de virología CNDR MINSU.

Anexo 11 Interpretación de resultados prueba rápida A1

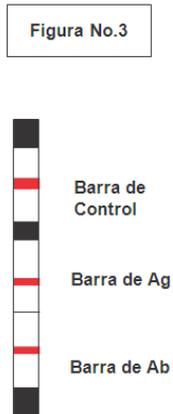
Prueba rápida 4ta Generación



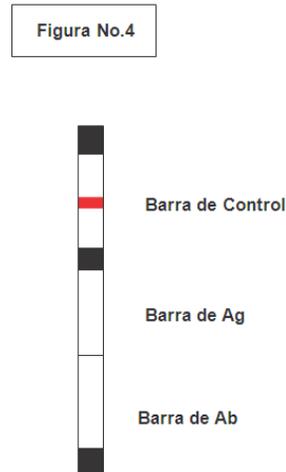
POSITIVO A ANTICUERPOS (dos barras: la barra de control y la de anticuerpos) Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "control") y en la ventana de la barra de anticuerpos (identificada con la etiqueta "Ab") de la tira. Cualquier color claramente rojo (o rojo grisáceo) en la ventana del paciente se debe interpretar como resultado positivo.



POSITIVO AL ANTIGENO (p24) (dos barras: la barra de control y la de antígeno) Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "control") y en la ventana de la barra de antígeno (identificada con la etiqueta "Ag") de la tira. Cualquier color claramente rojo (o rojo grisáceo) en la ventana del paciente se debe interpretar como resultado positivo. La presencia únicamente de una respuesta al antígeno indica que la infección se encuentra en una fase temprana. Se pueden proponer pruebas complementarias para hacer el seguimiento de la futura detección de anticuerpos prevista.



POSITIVO A ANTICUERPOS Y POSITIVO AL ANTIGENO (p24) (tres barras: la barra de control y la de antígeno) Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "control"), en la ventana de la barra del antígeno (identificada con la etiqueta "Ag") y en la ventana de la barra del anticuerpo (identificada con la etiqueta "Ab") de la tira. Cualquier color claramente rojo (o rojo grisáceo) en la ventana del paciente se debe interpretar como resultado positivo. La presencia únicamente de una respuesta al antígeno indica que la infección se encuentra en una fase temprana.

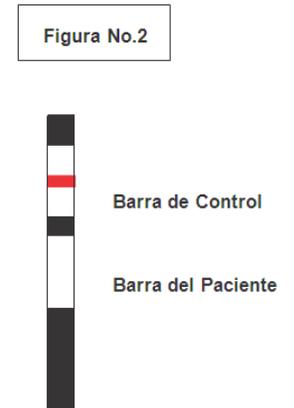


NEGATIVO (p24) (Una barra: la barra de control) Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "control"), y no aparece ninguna barra de color rojo en las ventanas del paciente de la tira (identificadas con la etiqueta "Ag" y "Ab").

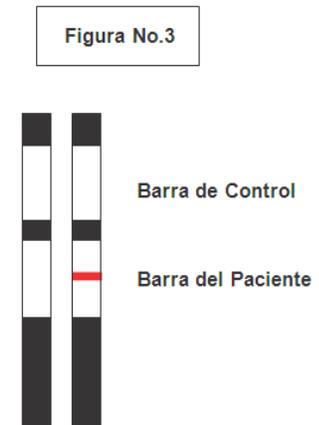
Prueba rápida 4ta Generación



POSITIVO (dos barras: la barra de control y la barra del paciente) Tanto en la ventana de control como en la ventana de resultados del paciente (patient) Aparecen barras rojas. Cualquier tipo de tonalidad roja que pueda aparecer en la ventana de resultados del paciente implica que el resultado es positivo.

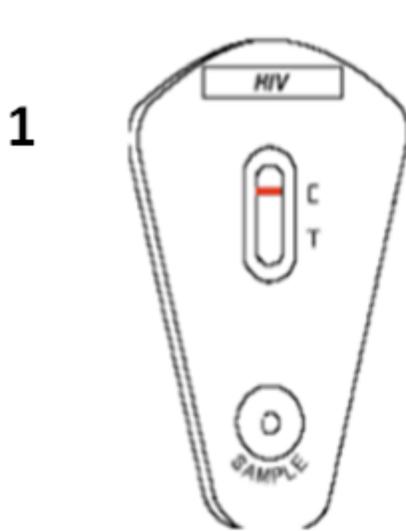


NEGATIVO (Una barra): En la ventana de control (control) aparece una banda roja y en la ventana de resultado de paciente (paciente) no aparece una banda roja.

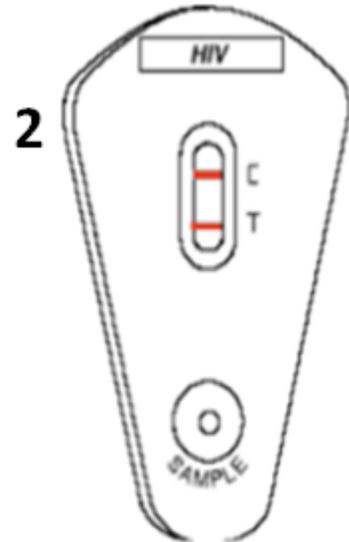


No válido (ninguna barra). Si no aparece una barra roja en la ventana de control del ensayo, el resultado no es válido y se debe repetir el ensayo (aunque haya aparecido una barra roja en la ventana de resultado del paciente).

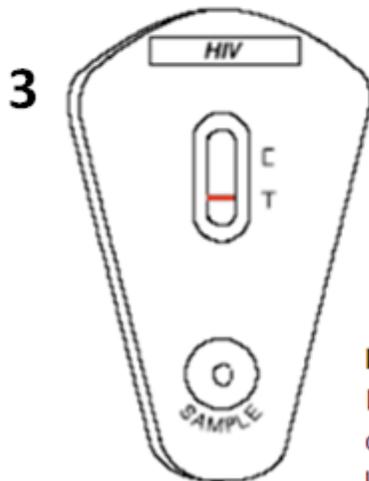
Anexo 12 Interpretación de Resultados Prueba Rápida A



No Reactor: es indicada por una línea en la Región de control (C).



Reactor: indicado por una línea de Cualquier intensidad que se forma En la región de ensayo (T) mas una Línea que se forma en la región de Control (C).



Indeterminado: No aparece ninguna Línea en la región (C) independiente de cualquier línea que pudiera en la región (T) . Repetir la prueba con un dispositivo nuevo.



Anexo 13

	Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional <i>El Pueblo, Presidente!</i>	REPUBLICA DE NICARAGUA MINISTERIO DE SALUD REPORTE DE ESULTADOS DE PRUEBAS RAPIDAS VIH 1/2												
Unidad de Salud que realiza la Prueba: _____														
REPORTE DE RESULTADOS DE PRUEBAS RAPIDAS VIH 1/2 SILAIS														
SILAIS: _____ MUNICIPIO: _____ FECHA: _____														
COD DE LA MUESTRA: _____ EDAD: _____ SEXO: _____ CODIGO LAB: _____														
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 40%;">PRUEBA SOLICITADA</th> <th colspan="3">RESULTADO</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PRUEBA RAPIDA A1</td> <td>No Reactor: <input type="checkbox"/></td> <td>Reactor: <input type="checkbox"/></td> <td>Invalido: <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>PRUEBA RAPIDA A2</td> <td>No Reactor: <input type="checkbox"/></td> <td>Reactor: <input type="checkbox"/></td> <td>Invalido: <input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>			PRUEBA SOLICITADA	RESULTADO			PRUEBA RAPIDA A1	No Reactor: <input type="checkbox"/>	Reactor: <input type="checkbox"/>	Invalido: <input type="checkbox"/>	PRUEBA RAPIDA A2	No Reactor: <input type="checkbox"/>	Reactor: <input type="checkbox"/>	Invalido: <input type="checkbox"/>
PRUEBA SOLICITADA	RESULTADO													
PRUEBA RAPIDA A1	No Reactor: <input type="checkbox"/>	Reactor: <input type="checkbox"/>	Invalido: <input type="checkbox"/>											
PRUEBA RAPIDA A2	No Reactor: <input type="checkbox"/>	Reactor: <input type="checkbox"/>	Invalido: <input type="checkbox"/>											
Firma Analista: _____ Sello Lab: _____														
Observaciones: _____ _____ _____														

Resultado de Prueba Rápida

Anexo 14 Resultado de ELISA

 <p>Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional <i>El Pueblo, Prevalece!</i></p>	<p>REPUBLICA DE NICARAGUA MINISTERIO DE SALUD REPORTE DE RESULTADOS DE ELISA</p>
Unidad de Salud que realiza la Prueba: _____	
REPORTE DE RESULTADOS DE PRUEBA DE ELISA VIH 1/2 SILAIS	
SILAIS: _____ MUNICIPIO: _____ FECHA: _____	
COD DE LA MUESTRA: _____ EDAD: _____ SEXO: _____ CODIGO LAB: _____	
PRUEBA SOLICITADA	RESULTADO
ELISA	Negativo: <input type="checkbox"/> Positivo: <input type="checkbox"/> Invalido: <input type="checkbox"/>
Firma Analista: _____	Sello Lab: _____
Observaciones: _____	

Anexo 15
Resultado de Western Blot



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional
El Pueblo, Prevalece!

REPUBLICA DE NICARAGUA
MINISTERIO DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE DIAGNOSTICO Y REFERENCIA
REPORTE DE RESULTADOS DE ELISA

REPORTE DE DE PRUEBAS DE VIH ELISA, WESTERN BLOT CNDR

SILAIS: _____ MUNICIPIO: _____ FECHA: _____

COD DE LA MUESTRA: _____ EDAD: _____ SEXO: _____ CODIGO LAB: _____

PRUEBA SOLICITADA	RESULTADO		
ELISA	Negativo: <input type="checkbox"/>	Positivo: <input type="checkbox"/>	Indeterminado: <input type="checkbox"/>
WESTERN BLOT	Negativo: <input type="checkbox"/>	Positivo: <input type="checkbox"/>	Indeterminado: <input type="checkbox"/>

Firma Analista: _____

Sello Lab: _____

Observaciones:

Anexo 16
Solicitud de Prueba de Carga Viral y Recuento de CD3, CD4 y CD8



MINISTERIO DE SALUD
Solicitud de Prueba Carga Viral y/o Recuento de CD3, CD4, CD8

CARGA VIRAL CD3/CD4/CD8 Fecha: _____

DATOS GENERALES DEL PACIENTE

Sexo: M F Edad: _____ Fecha de Nacimiento: _____ Ocupación: _____

Código del Paciente: _____ Nº Expediente: _____

SILAIS: _____ Municipio: _____

INFORMACIÓN CLÍNICA BÁSICA

Fecha de Diagnóstico VIH: _____ Embarazo: SI NO

Estado Clínico: Asintomático Agudo Sida

Infecciones Oportunistas: SI NO _____

Paciente en Tratamiento: SI NO _____

Tiempo que lleva en Tratamiento: _____

Fecha de Toma de Muestra: _____ Hora de Toma de Muestra: _____

DATOS DE LABORATORIO

Primer Carga Viral: SI NO Resultado: _____ Fecha: _____

Primer conteo CD3/CD4/CD8: SI NO Resultado: _____ Fecha: _____

Médico solicitante (Nombre): _____ Sello: _____

Unidad de Salud: _____ SILAIS: _____

Observaciones: _____

Anexo 17
Solicitud de Prueba de ADN Proviral



MINISTERIO DE SALUD
Solicitud de Prueba ADN PROVIRAL

DATOS GENERALES DEL PACIENTE

Sexo: **M** **F** Edad: _____ Fecha de Nacimiento: _____

Código del Paciente: _____ N° Expediente: _____

SILAIS: _____ Municipio: _____

Análisis de ADN Proviral No: _____ Fecha: _____

INFORMACIÓN BÁSICA

Exposición Perinatal: SI NO

Cesaria: SI NO

Paciente en tratamiento con ARV: SI NO

Tiempo que lleva en tratamiento: _____

Fecha Toma de muestra: _____ Hora de la Toma de muestra: _____

Resultado ADN PROVIRAL anterior: _____ Fecha: _____

Médico solicitante (Nombre): _____ Sello: _____

Unidad de Salud: _____ SILAIS: _____

Observaciones: _____

Anexo 18

Hoja de consentimiento y Solicitud de Prueba de Diagnóstico Serológico de VIH



HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DE LA PRUEBA AL VIH

PARTE I		Fecha: / /
SILAIS		
Municipio		
Unidad de Salud		
1. DATOS PERSONALES		
Código		
Sexo (M) (F)	Edad	
Yo,		
doy autorización para que se me realice la prueba de VIH, después de recibir información general sobre la enfermedad y diagnóstico.		
Firma del Paciente.		
Nombre, firma y código del Médico Tratante		



PARTE II INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO DE LA SOLICITUD DE LA PRUEBA DEL VIH

Llenar con letra clara y legible cada uno del acápite correspondientes.
Fecha: Se anotará el día, mes y año en que está llenando la ficha.
SILAIS: Anote el nombre del SILAIS a que pertenece la unidad de salud que está atendiendo al paciente
Municipio: Nombre del Municipio en donde está ubicada la unidad de salud
Unidad de Salud: Anote el nombre de la unidad en que se está atendiendo el paciente.
Código: Anote el código que le asignaron al paciente. Este debe estar compuesto por las siglas de los nombres y apellidos, fecha de nacimiento, día, mes, año, y el sexo (M) (F) de la persona que se le envía la prueba. Ejemplo: **Juan José García Delgado:** Nombre del paciente sus iniciales serían: **JJGD; 04 de mayo 1959:** Fecha de Nacimiento del paciente **04559.** El Código de este paciente será **JJGD/04559/M.**
Sexo: Anotar el que corresponda biológicamente. Si es femenina (F), y si es masculino (M).
Edad: Anotar años y/o meses que el paciente ha cumplido.

MUESTRA PARA: DIAGNÓSTICO ___ CONFIRMACIÓN ___ CONTROL DE CALIDAD ___
 Anotar una X, en el espacio que corresponda según sea la causa por la que usted está enviando la muestra al Laboratorio.
Nombre, Firma y Código del Médico: Aquí deberá identificarse el médico que está solicitando al paciente la prueba del VIH.



SOLICITUD DE LA PRUEBA DEL VIH

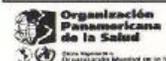
PARTE II		Fecha: / /
SILAIS		
Municipio		
Unidad de Salud		
Código del Paciente:	Sexo (M) (F)	Edad

Muestra para

Diagnóstico <input type="checkbox"/>	Confirmación <input type="checkbox"/>	Control de Calidad <input type="checkbox"/>
--------------------------------------	---------------------------------------	---

Nombre Completo, Firma y Código del Médico del que envía la Prueba:

--	--



INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO DE LA HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DE LA PRUEBA DEL VIH

Este instrumento consta de dos partes con copia. Las partes están identificadas con números romanos la parte "I", la componen el consentimiento informado de la prueba de detección del VIH, la cual certifica que para toda prueba enviada se debe de garantizar la Consejería bajo toda la confidencialidad
 La parte "II" la compone la solicitud de la prueba, la cual es la que va a ser dada a la persona que solicite o que se le envíe la prueba

PARTE I HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DE LA PRUEBA DE DETECCIÓN DEL VIH

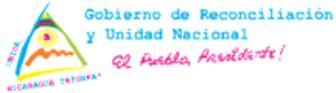
Llenar con letra clara y legible cada uno del acápite correspondientes.
Fecha: Se anotará el día, mes y año en que está llenando la ficha.
SILAIS: Anote el nombre del SILAIS a que corresponde la unidad de salud que está atendiendo al paciente.
Municipio: Nombre del Municipio en donde está ubicada la unidad de salud.
Unidad de Salud: Anote el nombre de la unidad en que se está atendiendo al paciente y colocara el sello de la misma.
1. DATOS PERSONALES
Código: anote el código que le asignaron al paciente, Este debe estar compuesto por las siglas de los nombres y apellidos, fecha de nacimiento, día, mes, año, y el sexo (M) (F) de la persona que se le envía la prueba. Ejemplo: **Juan José García Delgado:** Nombre del paciente sus iniciales serían: **JJGD; 04 de mayo 1959:** Fecha de Nacimiento del paciente **04559.** El Código de este paciente será **JJGD/04559/M.**

Sexo: Anotar el que corresponda biológicamente. Si es femenina (F), y si es masculino (M).
Edad: Anotar años y/o meses que el paciente ha cumplido.
Yo... Completar el espacio donde la persona va a poner su nombre después de la consejería Yo
Firma del Paciente: Pida a su paciente que coloque su firma en el espacio en limpio, si este no tiene firma que escriba su nombre, en caso de no poder escribir, que ponga su huella digital en ese espacio, esto nos permitirá tener una autorización legal para proceder a realizarle la prueba de detección del VIH

Nombre, Firma y Código del Médico: Aquí deberá identificarse el médico que está solicitando al paciente, la prueba del VIH por supuesto, previa consejería y consentimiento firmado por el paciente

Anexo 19

Formato de Envío de muestras para control de calidad y confirma del diagnóstico Serológico de VIH



MINISTERIO DE SALUD

ENVIO DE MUESTRAS PARA CONTROL DE CALIDAD Y CONFIRMA DE VIH

Municipio: _____

SILAIS: _____

Año: _____

MES: _____

CENTRO DE REFERENCIA: _____

N°	CODIGO DE MUESTRA	C.C	CON	DX.	EDAD	SEXO	RESULTADOS UNIDAD DE SALUD						RESULTADOS LAB. DE REFERENCIA		
							A1			A2			ELISA		
							R	NR	IN	R	NR	IN	P	N	I
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															
11															
12															
13															
14															
15															

NOTA: R: REACTOR, NR: NO REACTOR, IN: INVALIDO, P: POSITIVO, N: NEGATIVO, I: INDETERMINADO

RESPONSABLE DE LABORATORIO: _____

BIBLIOGRAFIA:

Guía para la toma, identificación, manejo, conservación y transporte de muestras para laboratorios de Salud. Edición 2010, CNDR/MINSA, Managua, Nicaragua.

Manual Para el Control de Calidad de las pruebas de VIH. 2da Edición, 2010, Ministerio de Salud, El Salvador.

Manual de procedimientos para la detección y diagnóstico de la infección por VIH. Edición 2009, Ministerio de Salud, Santiago de Chile.

Manual de procedimientos para el diagnóstico de VIH. Edición 2007, CNDR/MINSA, Managua, Nicaragua.

Manual de procedimientos para el diagnóstico de VIH. Edición 2005, CNDR/MINSA, Managua, Nicaragua.

Manual de procedimientos de bioseguridad. Edición 2007, Laboratorio Regional de Referencia VIH/Sida Centroamérica, LRR-VIH/Sida.

Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ra edición, 2005. Organización Mundial de la Salud (OMS). ISBN 92 4 354650 3.

Safety in health-care laboratories. Geneva, World Health Organization, 1997, (http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_LAB_97.1.pdf).