



**Organización
Panamericana
de la Salud**

Oficina Regional de la
Organización Mundial de la Salud



REAL EMBAJADA DE NORUEGA

Ministerio de Salud



Canadian International
Development Agency

Agence canadienne de
développement international

Plan Piloto para la Validación de Algoritmo Diagnóstico para Sífilis utilizando pruebas rápidas

Responsables:

Dirección de Vigilancia Sanitaria
Programa Nacional de ITS/VIH-SIDA
Organización Panamericana de la Salud (OPS-OMS/ELS)

San Salvador, Agosto de 2011

SIGLAS

DVS	Dirección de Vigilancia Sanitaria
EED	Evaluación Externa del Desempeño
FTA-ABS	Fluorescent treponemal antibody absorption
ITS	Infecciones de Transmisión Sexual
LCR	Líquido Cefalorraquídeo
MINSAL	Ministerio de Salud
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
RPR	Reaginas Rápidas del Plasma
UVL	Unidad de Vigilancia Laboratorial
VDRL	Venereal Research Disease Laboratory
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana

Índice

	Página
I. Introducción	3
II. Terminología	4
III. Antecedentes	5
3.1 Diagnóstico de la infección por Sífilis	5
IV. Marco Legal	7
V. Situación actual del Inmunodiagnóstico de Sífilis en El Salvador.	8
VI. Algoritmo Inmunodiagnóstico de Sífilis	9
VII. Recomendaciones OMS/OPS	10
VIII. Justificación	11
IX. Objetivos	11
9.1 General	
9.2 Específicos	
X. Metodología de Investigación	12
XI. Consideraciones Éticas	19
XII. Recursos necesarios	20
XIII. Cronograma	22
XIV. Referencias	23
Anexos	24

I. Introducción

En los últimos años la dinámica de las poblaciones y la movilidad de las mismas dentro y fuera de los países, ha hecho necesario mejorar la vigilancia de la salud tanto individual como de la población general, a través de mejoras a los accesos a los servicios de salud, implementación de pruebas diagnósticas, intervenciones educativas para la prevención y control de las diferentes enfermedades.

Dentro de este contexto, una de las prioridades en materia de prevención y control de Infecciones de Transmisión Sexual, es lo relacionado con la Sífilis en población en general y la prevención de la Sífilis Congénita, por lo que los Ministerios de Salud, a través de los Programas Nacionales de ITS/VIH, y las Instituciones de la Seguridad Social que brindan los servicios de laboratorio, vienen desarrollando estrategias, en base a lineamientos internacionales brindados por Organizaciones expertas en el materia como lo son OMS/OPS, que tienen como objetivo mejorar el acceso a los servicios de salud a la población en general, y especialmente aquellas en condiciones de vulnerabilidad para ITS.

Una de estas estrategias es el de diseñar e implementar algoritmos diagnósticos, que provean una respuesta oportuna y de calidad a todas aquellas personas a las cuales se les indique la prueba de Sífilis o la soliciten voluntariamente.

Así también el Ministerio de Salud, con el fin de adoptar y aplicar estrategias en base a las iniciativas Internacionales para el control y erradicación de aquellas enfermedades infecciosas, que afectan especialmente al binomio madre-hijo; ha incluido dentro de la Política Nacional de salud la detección precoz, seguimiento y tratamiento de las ITS y el VIH/SIDA, para lo cual en el marco de la reforma integral de salud se están acercando los servicios a la comunidad, a través de los Equipos Comunitarios de Salud Familiar y Especializados, que ofrecen los servicios preventivos y curativos a la población de forma integral e integrada, contribuyendo al acceso universal y a la intervención oportuna que ayuden a la prevención y control de las enfermedades.

En este sentido el Ministerio de Salud con el apoyo técnico y financiero de la Organización Panamericana de la Salud, han elaborado el presente protocolo para la validación de un algoritmo diagnóstico utilizando pruebas rápidas para Sífilis, con el objetivo de mejorar el acceso a la prueba y al tratamiento oportuno a aquellas poblaciones con dificultades de movilización geográfica, móviles y/ en condiciones de vulnerabilidad para ITS, con énfasis en el binomio madre-hijo.

En la validación del algoritmo diagnóstico el Laboratorio Nacional de Referencia tiene la responsabilidad de conducir, monitorear, analizar y divulgar los resultados obtenidos, así como de garantizar la calidad de los procesos y resultados.

II. Terminología

Con el propósito de evitar confusiones, es necesario definir los siguientes términos:

1. **Algoritmo o flujograma diagnóstico:** Una secuencia lógica de pasos de ensayo para el inmunodiagnóstico de la infección por el Sífilis; es el orden por el cual las pruebas son efectuadas para detectar anticuerpos anti-*Treponema* en un fluido corporal.
2. **Especificidad de una prueba:** La habilidad de un ensayo evaluado que detecta correctamente las muestras que No contiene anticuerpos contra *Treponema pallidum*.
3. **Estándar de oro:** prueba diagnóstica considerada por sus características específicas como la ideal para realizar un determinado análisis.
4. **Evaluación:** El proceso para determinar si una prueba o sistema cumple las necesidades del usuario potencial en su ambiente de trabajo.
5. **Intervalo de Confianza (IC):** Es el intervalo dentro del cual se encuentra la verdadera magnitud del efecto (nunca conocida exactamente) con un grado prefijado de seguridad, suponiendo que el estudio sea válido. A menudo se habla de "intervalo de confianza al 95%" (o "límites de confianza al 95%"). Quiere decir que dentro de ese intervalo se encontraría el verdadero valor en el 95% los casos.
6. **Panel de evaluación:** Muestras que son utilizadas durante la evaluación y de las cuales el estado serológico ha sido definido previamente por el estándar de oro.
7. **Prevalencia:** El porcentaje de personas en una población dada que presentan la enfermedad en un tiempo determinado.
8. **Sensibilidad de una prueba:** La habilidad de un ensayo evaluado que detecta correctamente las muestras conteniendo anticuerpos contra *Treponema pallidum*.
9. **Valor Predictivo Negativo:** En ensayos de Sífilis, la probabilidad de que cuando una prueba es no reactiva, esta no contiene anticuerpos anti- *Treponema pallidum*.
10. **Valor Predictivo Positivo:** En ensayos de Sífilis, la probabilidad de que cuando una prueba es reactiva, esta contiene anticuerpos anti- *Treponema pallidum*.

III. Antecedentes

La sífilis es una infección que se transmite por vía sexual y por una madre infectada a su hija/o durante el embarazo. Esta infección es causada por una espiroqueta llamada *Treponema pallidum*, y se caracteriza por una lesión primaria, una erupción secundaria que afecta la piel y las mucosas, largos períodos de latencia y lesiones tardías en la piel, los huesos, las vísceras y el sistema nervioso central y cardiovascular. (1)

La infección fetal ocasiona sífilis congénita, y se produce con gran frecuencia en las infecciones tempranas no tratadas de las mujeres embarazadas. A menudo ocasiona aborto o muerte fetal, y puede causar la muerte del lactante por parto prematuro y bajo peso al nacer, o por enfermedad generalizada. La infección congénita puede producir manifestaciones tardías, con afección al sistema nervioso central y , a veces, estigmas tales como dientes de Hutchinson, nariz en silla de montar, tibias en sable (periostitis), queratitis intersticial y sordera. La Sífilis congénita puede ser asintomática, especialmente en las primeras semanas de vida. (1)

3.1 Diagnóstico de la infección por Sífilis.

El Diagnóstico de la infección por *Treponema pallidum*, se realiza a través de pruebas Treponémicas y pruebas No Treponémicas, las cuales pueden realizarse en muestras de suero, plasma o material obtenido de las lesiones, de acuerdo a la metodología utilizada.

3.1.1 Pruebas No Treponémicas:

Dentro de las pruebas No Treponémicas se encuentran:

- **V.D.R.L.** (*Venereal Research Disease Laboratory*). Únicamente puede emplearse con suero; es un antígeno no particulado. La reacción que se obtiene con la muestra positiva es de floculación. Lectura microscópica.
- **R.P.R.** (*Rapid Plasma Reagin*). Puede emplearse con suero y plasma. Es un antígeno con partículas de carbón.
- **TRUST.** (*Toluidine Red Unheated Serum Test*). Puede realizarse con suero o plasma. Es el mismo antígeno del VDRL con partículas coloreadas con rojo de toluidina.
- **U.S.R.** (*Unheated Serum Reagin*). Puede emplearse con suero. El antígeno no es particulado y la reacción es de floculación. Lectura microscópica.
- **E.L.I.S.A.** Se emplea con suero. Utiliza en la fase sólida antígenos del tipo VDRL.

Todas ellas se basan en antígenos compuestos de soluciones alcohólicas con cantidades predeterminadas de cardiolipinas, colesterol y lecitinas. Miden simultáneamente inmunoglobulinas IgG e IgM frente a estas sustancias que son producidas en los tejidos dañados por el treponema o por otras enfermedades. Puesto que no miden anticuerpos específicos frente a *T. pallidum* su positividad no asegura la enfermedad sifilítica.

Las pruebas no treponémicas pueden presentar fenómenos de prozona - **falsos negativos** - cuando las muestras son fuertemente reactivas, por lo que es conveniente titularlas siempre. Esto es especialmente cierto cuando la prueba se realiza con muestra no diluida y con un procedimiento incorrecto (como dispensar el antígeno sobre la muestra no extendida en el círculo de reacción). La temperatura de los reactivos es igualmente importantísima en relación con la sensibilidad. También

puede obtenerse un resultado negativo en las fases muy tempranas del período primario, incluso cuando la visualización de los treponemas es positiva.

Los **falsos positivos** no superan por lo general los títulos de 1:4 y pueden ser transitorios o permanentes según persistan o no más de seis meses. Las muestras hemolizadas o lipémicas pueden producir también este tipo de resultados. La prueba RPR tiende a dar títulos más elevados que la prueba VDRL.

Las pruebas reagínicas son fundamentales para evaluar la eficacia de los tratamientos. Si es eficaz los títulos deberán disminuir significativamente (hasta 8 veces) durante los 6-12 meses siguientes a su inicio. Suele persistir reactividad a títulos muy bajos o en suero no diluído. Si el tratamiento se inicia en estadios latentes o tardíos lo habitual es conseguir una disminución de los títulos, de forma muy lenta, y sólo en un 25-40 % de los pacientes. En el resto, la persistencia de la seropositividad no indica ni fallo del tratamiento ni reinfección. (4)

3.1.2 Pruebas treponémicas

Dentro de las pruebas Treponémicas se encuentran:

- **FTA-ABS 200.** (*Inmunofluorescencia indirecta con absorción del suero*) Antígeno de *Treponema* cepa Nichols y absorbente de la cepa Reiter. Puede realizarse sobre con suero y L.C.R.
- **FTA-ABS 200 DS.** (*Inmunofluorescencia indirecta con absorción y doble tinción*). Utiliza el mismo antígeno y absorbente que en la prueba anterior y puede llevarse a cabo sobre el mismo tipo de muestras. Emplea como antisuero una IgG marcada con isotiocianato de tetrametil rodamina y como contraste un suero antitreponema marcado con isotiocianato de fluoresceína.
- **TPHA.** (*Microhemaglutinación*). Solo homologada para suero. Utiliza eritrocitos sensibilizados con antígenos de *Treponema* cepa Nichols y absorbente de cepa Reiter.
- **Captia Syphilis M.** (*ELISA de captura anti cadena pesada*). Se realiza en suero.
- **ELISA IgG.** Para utilizar con suero. Existen muchos estudios que demuestran su alta sensibilidad y especificidad.
- **FTA-ABS 19S IgM.** Para suero.
- **FTA-ABS LCR.** Utilizar LCR diluido a 1/5
- **Western blot.** Debe utilizarse como prueba de confirmación.

Estas pruebas se utilizan principalmente para confirmar los resultados positivos obtenidos con las pruebas reagínicas, debido a su especificidad y sensibilidad produciendo escasos falsos positivos, un 1% FTA-ABS y muy pocos TPHA.

Los falsos positivos pueden presentarse especialmente en pacientes con mononucleosis, lepra, enfermedades del colágeno, borreliosis y otras treponematoses patógenas, así como en los adictos a drogas por vía parenteral. Todas estas pruebas deben realizarse previa absorción del suero para eliminar la reacción cruzada con otros treponemas.

Su utilidad es limitada en el seguimiento de los tratamientos, ya que suelen permanecer positivas en el 85-90% de los pacientes tratados y curados.

La FTA-ABS, en sus diferentes variantes, es una prueba compleja y es vulnerable a diferentes causas de error si no se estandarizan previamente todos los reactivos entre si, los procedimientos y se garantiza el control de calidad adecuado; así también la lectura es menos objetiva y presenta aproximadamente un 1% de falsos positivos.

Diferentes estudios han demostrado la variabilidad de sensibilidad y especificidad que tienen las pruebas treponémicas, por lo que es importante que se consideren factores como la población a la cual será aplicada, la complejidad de la técnica, la competencia técnica de quién la realiza, la estabilidad de los reactivos, las posibles reacciones cruzadas y el tipo de muestra a utilizar; ya que estos son determinantes en el desempeño de la prueba.

En las sífilis congénitas asintomáticas la sensibilidad de todas las pruebas para IgM son muy bajas de tal forma **que sólo un resultado positivo confirma el diagnóstico**. En cualquier caso los resultados negativos obtenidos con esta prueba deberán interpretarse junto con los datos que se tengan sobre el periodo de la enfermedad en el que inició el tratamiento en la madre, si este fue correcto o no y los signos y síntomas del recién nacido. Su negatividad no descarta la enfermedad congénita.

Las pruebas de ELISA IgG pueden emplearse en sustitución de las treponémicas TPHA y FTA-ABS ya que diferentes estudios han demostrado su excelente sensibilidad y especificidad en la detección de este tipo de anticuerpos. Estas pruebas permiten la automatización de grandes cantidades de muestras y lecturas objetivas.(4)

IV. Marco Legal

La Salud es un derecho universal de todo ser humano y en la Constitución de la República, en su artículo 65, define la salud de los habitantes como un bien público, sobre el cual el Estado y todas las personas están obligados a conservar y a restablecer.

En lo referente a la Salud de la mujer embarazada y la prevención y control de la ITS, el Código de Salud establece los siguientes artículos:

Art. 48.- Es obligación ineludible del Estado promover, proteger y recuperar la salud de la madre y del niño, por todos los medios que están a su alcance.

Para los efectos del inciso anterior, los organismos de salud correspondientes prestarán atención preventiva y curativa a la madre durante el embarazo, parto o puerperio, lo mismo que al niño desde su concepción hasta el fin de su edad escolar.

Art. 153.- El control de las enfermedades venéreas será realizado por el Ministerio. Los pacientes de enfermedades venéreas y sus contactos deberán acatar las órdenes de observación, vigilancia o tratamiento, por el tiempo o en la forma que determine este Código y sus reglamentos.

Las autoridades de Seguridad Pública darán todo su apoyo a los organismos de salud para el cumplimiento de estas disposiciones, sin perjuicio de la responsabilidad penal que resultare.

Art. 154.- El Ministerio dictará las normas para prevención de las enfermedades venéreas y para el Tratamiento, control y rehabilitación de los enfermos. Estas normas y las acciones correspondientes deberán ser cumplidas en todos los establecimientos de salud públicos y privados y por todas aquellas entidades u organizaciones que brinden servicio de atención médica.

Finalmente el inciso 30 del **Art. 285** del Código de Salud establece como una falta, aunque de menor gravedad, el “Omitir el examen serológico para la investigación de la sífilis en toda mujer embarazada”.

Así también la Política Nacional de Salud, en su Estrategia 15 recomienda: “Detección precoz, seguimiento y tratamiento de ITS, VIH y el sida”, la cual ha sido incluida en los planes estratégicos de reducción de la Mortalidad Materna perinatal y neonatal, así como en el Plan Estratégico Multisectorial de VIH/sida 2011-2014.

Todo lo antes mencionado constituye el marco legal de referencia para la planificación, ejecución y evaluación de acciones y/o intervenciones que contribuyan a la prevención y control de enfermedades que afecten a la población, especialmente al binomio madre-hijo/a, siendo el caso específico el de mejorar el Diagnóstico serológico de la Sífilis para brindar tratamiento oportuno y disminuir la incidencia de la Sífilis congénita.

V. Situación Actual del inmunodiagnóstico de Sífilis en El Salvador

En El Salvador el MINSAL cuenta con una red de 191 laboratorios a nivel nacional que realizan pruebas serológicas para el diagnóstico de Sífilis, y 1 Laboratorio Nacional de Referencia que realiza la confirmación de los resultados positivos enviados por los laboratorios locales y Bancos de Sangre, así como el control de calidad y la EED.

La serología de Sífilis también es realizada a través de los Laboratorios Móviles de VIH/sida, que realizan pruebas en poblaciones de alto riesgo como trabajadoras/es sexuales, HSH, y privados de libertad.

La metodología utilizada en los Laboratorios locales es la prueba No Treponémica de RPR, y la prueba confirmatoria normada es el FTA-ABS, la cual únicamente se realiza en la UVL. Ambas pruebas se realizan únicamente en muestras de suero.

En el año 2010 se realizaron 269,808 serologías para Sífilis, de las cuales el 54.53% fueron realizadas a embarazadas. Durante ese mismo año la UVL realizó un total de 1578 pruebas de FTA-ABS para confirmación y control de calidad.

Todos los laboratorios que realizan pruebas serológicas de sífilis participan en la Evaluación Externa del Desempeño, la cual es realizada una vez al año, esta evaluación es preparada y enviada por la UVL, los resultados son discutidos y analizados con el equipo de supervisores regionales, y en base a dichos resultados se prioriza el seguimiento a los laboratorios con resultados discordantes.

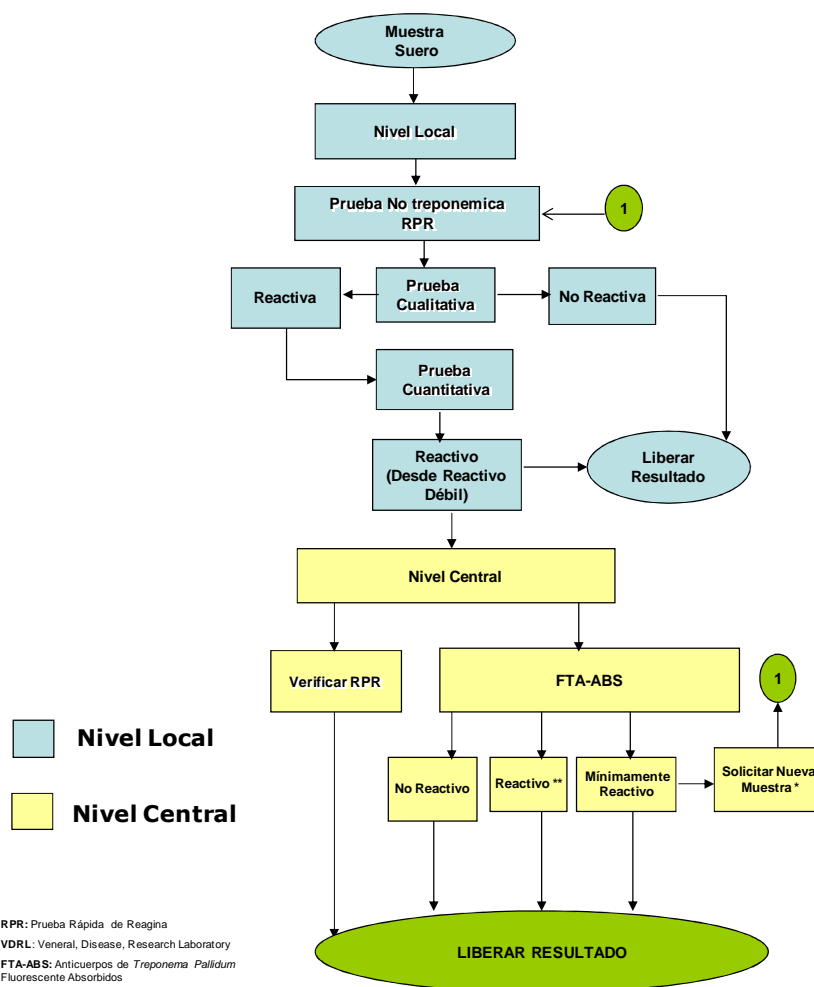
Al igual que los laboratorios locales, la UVL participa en programas de EEC, que respalda la calidad de los resultados, estas evaluaciones se realizan una vez al año. Sumado a esto, en cada grupo de muestras que se procesan para FTA-ABS se incluyen sueros control interno negativo y positivo.

Actualmente se tienen limitantes en el cumplimiento del algoritmo diagnóstico por el 100% de los laboratorios locales, esto se evidencia al analizar la información del sistema que registra el número de pruebas por establecimiento, especialmente las que tienen resultado reactivo y se compara con el número de muestras que recibe la UVL para confirmación, los cuales no coinciden. Las limitantes pueden estar asociadas a los aspectos logísticos de transporte de muestras, a la calidad y cantidad de muestras enviadas, o a la pérdida de oportunidad con los pacientes de los cuales se requiere una segunda muestra.

VI. Algoritmo inmunodiagnóstico de Sífilis:

Actualmente el algoritmo normado para el diagnóstico de Sífilis en los establecimientos del MINSAL es el Siguiendo:

FIGURA No. 1
ALGORITMO PARA EL DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE SIFILIS UTILIZADO ACTUALMENTE EN LA RED DE LABORATORIOS DEL MINSAL.



En el nivel local la muestra es procesada por RPR y se reporta el resultado cualitativo, si este es Reactivo se procede a realizar la prueba cuantitativa con las correspondientes diluciones, y la muestra se remite a la UVL para su confirmación.

La UVL verifica los resultados de la prueba de RPR reportados por los laboratorios locales que refieren la muestras, y procede a realizar la prueba Treponémica de y FTA-ABS. Se emite el informe y se entrega al nivel local que refirió la muestra.

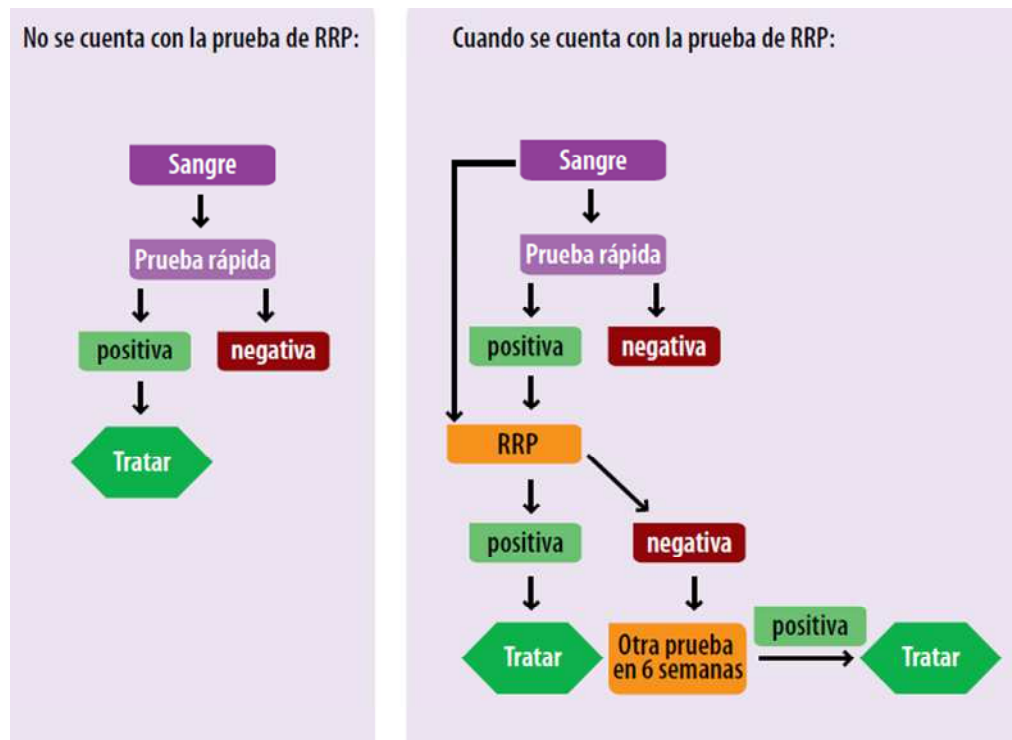
VII. Recomendaciones OMS/OPS.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) ha definido el objetivo de eliminar la sífilis congénita como problema de salud pública llevando la incidencia a 0,5 casos o menos por 1.000 nacidos (incluidos mortinatos). Para lograr este objetivo es necesario que más de 95% de las gestantes infectadas sean detectadas y tratadas, con lo que se logre reducir la prevalencia de sífilis durante la gestación a menos de 1,0%. (7)

Para lograr la cobertura diagnóstica en la población de embarazadas y la población en general, es necesario el fortalecimiento de los servicios de laboratorio, para brindar una respuesta oportuna y de calidad, que permita el tratamiento y monitoreo de los casos detectados.

En este sentido la OMS ha publicado la Guía para el Uso de Pruebas Rápidas de Sífilis, en la cual se recomienda brindar tratamiento a aquellos casos en los cuales la prueba rápida treponémica o la combinación de pruebas rápidas treponémicas y no treponémicas, tuvieron resultado Reactivo, según se detalla en la figura No.2.

FIGURA No. 2



FUENTE: El Uso de Pruebas Rápidas para Sífilis. OMS

Así también es importante considerar que, para poder implementar un flujograma de diagnóstico basado en pruebas que detecten anticuerpos, la OMS recomienda que la selección de los ensayos más apropiados deba ser con base a tres criterios:

1. El objetivo de la prueba
2. La sensibilidad y especificidad de la prueba a ser utilizada
3. La prevalencia de la infección en la población a ser utilizada

Todo esto acompañado de un adecuado programa de aseguramiento de la calidad durante todo el proceso.

VIII. Justificación

Con el fin de mejorar la capacidad de respuesta a nivel local y central de la Red de Laboratorios, que contribuya al logro de los objetivos de mejorar la notificación de casos y la intervención oportuna de las embarazadas y sus parejas para la prevención de sífilis congénita, se ha elaborado el presente protocolo para la validación de un algoritmo diagnóstico introduciendo el uso de una prueba rápida treponémica, combinándola con la prueba serológica que actualmente se realiza en los laboratorios locales.

Con la realización de la prueba rápida treponémica y de la prueba No Treponémica de RPR a nivel local, se espera que el médico pueda tomar una decisión respecto a la aplicación de tratamiento en aquellos pacientes con resultado positivo, siguiendo los protocolos normados, mientras la muestra sigue el proceso normal de confirmación a nivel central.

Como valor agregado, con el plan piloto de validación se evaluará el desempeño de la prueba rápida seleccionada, tomando como parámetros la sensibilidad, especificidad y valores predictivos,

IX. Objetivos

9.1 General

- Diseñar y validar un algoritmo diagnóstico para Sífilis, introduciendo el uso de una prueba rápida Treponémica, para apoyar la prevención y control oportuno de la infección por *Treponema pallidum* en embarazadas y población en general.

9.2 Específicos

- Determinar los Valores de Sensibilidad, especificidad y Valores predictivos de la Prueba Rápida Treponémica para serología de Sífilis.
- Determinar el índice de concordancia entre los resultados obtenidos en el nivel local y el nivel central.

- Evaluar los resultados Sensibilidad, especificidad y Valores predictivos del algoritmo diagnóstico de Sífilis propuesto, para definir la mejor combinación de pruebas que permita brindar una respuesta rápida para el tratamiento oportuno de Sífilis.

X. Metodología

10.1 Metodología

Se realizará la evaluación de un algoritmo inmunodiagnósticos para el diagnóstico de Sífilis con la combinación de prueba rápida treponémica, Prueba de RPR (No Treponémica) y Confirmación a través de FTA-ABS, basados en las recomendaciones de OMS.

10.1.1 Población.

Para la presente evaluación se tomaron en cuenta todos aquellos establecimientos de salud que reportaron y enviaron muestras Reactivas a la prueba de RPR para su confirmación a la UVL.

10.1.2 Muestreo

Se procesará un total de 450 muestras, que representa aproximadamente el 10% de las muestras procesadas anualmente, provenientes de los establecimientos seleccionados, en base a los criterios detallados en la sección 10.1.4 del presente protocolo.

El número de muestras a ser colectadas por los establecimientos seleccionados, será proporcional de acuerdo al número potencial de muestras positivas que se espera coleccionar en un período de mínimo de 4 meses, el cual puede extenderse hasta un máximo de 6 meses.

Todas las muestras Reactivas detectadas durante la ejecución del presente protocolo serán incluidas en el muestreo, las muestras No Reactivas serán seleccionadas al azar, y el número de muestras a recolectar será el equivalente al complemento de la cuota establecida según se muestra en el siguiente cuadro.

CUADRO No. 1

ESTABLECIMIENTOS	Muestras Reactivas Esperadas	Muestras No Reactivas Esperadas	Total
HOSPITAL NACIONAL ROSALES	139	44	183
HOSPITAL NACIONAL BENJAMIN BLOOM	10	73	83
UNIDAD DE SALUD DE ACAJUTLA	9	14	23
UNIDAD DE SALUD DE SONZACATE	8	22	30
HOSPITAL NACIONAL DE MATERNIDAD	8	103	110
UNIDAD DE SALUD "CARLOS DIAZ DEL PINAL"	7	10	17
UNIDAD DE SALUD CONCEPCION	6	9	15
TOTAL	185	276	460

10.1.3 Determinación del algoritmo inmunodiagnóstico a evaluar:

La UVL, con el apoyo técnico de OPS/OMS-ELS, desarrollará el algoritmo inmunodiagnóstico ha evaluar, tomando en cuenta los siguientes aspectos:

- a. El Algoritmo será construidos tomando en cuenta las recomendaciones de la OMS respecto a la implementación de pruebas rápidas para sífilis..
- b. La prueba rápida treponémica a ser utilizada, ha sido considerada en base a la referencias bibliográficas de la guía de OMS y otros artículos científicos que proporcionan información referente a la sensibilidad, especificidad y Valores Predictivos.
- c. La segunda prueba a ser realizada en el nivel local será la prueba de RPR (No treponémica) que es utilizada actualmente como prueba de tamizaje inicial en la Red de Laboratorios del MINSAL.
- d. La prueba confirmatoria será la prueba de FTA-ABS, la cual únicamente es realizada en la UVL, al igual que la prueba de FTA-ABS IgM para la diferenciación de infecciones agudas.

10.1.4 Determinación de los laboratorios de la red nacional que participarán en la validación:

Los criterios a tomar en cuenta en la selección son que el laboratorio atienda a:

- a. Laboratorios con alta producción de pruebas serológicas para Sífilis
- b. Laboratorios con alto porcentaje de positividad en muestras procesadas para Sífilis
- c. Laboratorios que puedan contar con población de embarazadas y población en general.

También se considerarán aspectos tales como:

- a. Accesibilidad a la UVL.
- b. Infraestructura del Laboratorio.
- c. Laboratorios que cuenten con la capacidad técnica para la realización de prueba rápida en tira y RPR.
- d. Equipo necesario para el desarrollo de los análisis.
- e. Condiciones adecuadas para almacenaje de los reactivos a utilizar.
- f. Condiciones adecuadas para almacenaje de las muestras.
- g. Entorno adecuado para trabajar con bioseguridad.
- h. Aspectos logísticos

10.1.5 Laboratorios seleccionados para la validación

Los Laboratorios seleccionados para participar en la presente evaluación son los siguientes:

- Hospital Nacional Rosales

- Hospital Nacional de Maternidad
- Hospital nacional de Niños Benjamín Bloom
- Unidad de Salud de Concepción
- Unidad de Salud Díaz del Pinal
- Unidad de Salud de Sonzacate

En el caso de los Hospitales de 3er. Nivel, las muestras a ser consideradas para la presente validación serán captadas en los Bancos de Sangre y en el Laboratorio Clínico.

10.1.6 Evaluación del algoritmo para el diagnóstico de Sífilis en los laboratorios seleccionados (Ver Anexo 1):

Actividades a realizar en los laboratorios evaluadores:

- a. Toma de muestra de rutina en los pacientes con indicación médica de serología para Sífilis, siguiendo el procedimiento detallado en el anexo 2.
- b. A todas las muestras de suero de la población que sea asignada, se les realiza la prueba rápida Treponémica.
- c. Si la muestra es NO REACTIVA, se considera “negativa para anticuerpos anti Treponema pallidum”, deberá reportar y liberar resultado.
- d. Si la muestra es REACTIVA o INDETERMINADA es reanalizada con la prueba de No Treponémica RPR.
- e. Si el resultado de RPR es REACTIVA, proceder a realizar las diluciones correspondientes para establecer el título de Reactividad
- f. Todas las Muestras a las cuales se les realice RPR, deberán ser enviadas a la UVL para su respectiva confirmación.
- g. Las muestras que obtenga un resultado REACTIVO en la prueba rápida treponémica y en la prueba No treponémica RPR, deberán reportarse al médico responsable en el establecimiento local para que pueda tomar las decisiones de tratamiento que correspondan según las normas establecidas.
- h. Solo para efecto del presente protocolo, el 100% de las muestras con resultado NO REACTIVO, deberán ser enviadas a la UVL para ser procesadas por FTA-ABS.

Actividades a realizar en la UVL:

- i. Las muestras referidas de los Laboratorios Locales, serán procesadas por FTA-ABS (IgM-IgG).
- j. Si el resultado del FTA-ABS es:
 - NEGATIVO se reportará y liberará el resultado.
 - POSITIVO ó INDETERMINADO: se procederá a realizar la prueba de FTA-ABS específica para IgM.
- k. Si el resultado de FTA-ABS IgM es:

- INDETERMINADO se deberá solicitar al nivel local que tome una nueva muestra en un período de 2 a 6 semanas; y deberá procesarse siguiendo el algoritmo diagnóstico desde su inicio.
- NEGATIVO se reportará y liberara el resultado.
- POSITIVO se reportará y liberara el resultado.

10.2 Materiales a utilizar

10.2.1 Equipo

10.2.1.1 Laboratorios evaluadores

- Centrífuga para tubos de 5-10mL
- Pipetas automáticas de volumen variable (10-200µL)
- Refrigeradora de 4 °C a 8 °C
- Congelador a -20 °C
- Rotador Serológico mecánico a 100+-5 RPM con un diámetro de ¾ de pulgada
- Cronómetro
- Baño de María

10.2.1.2 Unidad de Vigilancia Laboratorial

- Pipetas automáticas (10-200 µL, 100-1,000 µL)
- Refrigeradora de 4 °C a 8 °C
- Congelador a -20 °C
- Congelador a -70 °C
- Incubadora con temperatura graduable
- Microscopio para Inmunofluorescencia
- Equipo de oficina para generar reportes

10.2.2 Insumos

10.2.2.1 Laboratorios evaluadores

- Gabacha
- Guantes descartables
- Ligaduras
- Alcohol 70%
- Algodón
- Tubos sin aditivo para extracción de sangre al vacío con capacidad de 10 mL
- Agujas de 21 X 1 ½ para tubos de extracción de sangre al vacío
- Adaptador estándar para agujas vacutainer
- Gradillas de 12x75mm.
- Jeringa descartable de 1 o 3 ml, con una precisión de +- 5%.
- Camara humidificante.

- Puntas descartables para pipeta (2-200 μ L)
- Gradillas de metal para tubos de 10 mL
- Gradillas para tubos de 12 x 75 mm
- Crioviales de polipropileno de 2.0 mL (para guardar las alícuotas)
- Criobox para crioviales de 2.0 mL
- Papel Toalla
- Contenedores de desechos para material punzocortantes
- Bolsas para desecho de material biológico.
- Hipoclorito de sodio al 5%
- Hielera
- Geles refrigerantes
- Recipientes para transporte de muestras (Recipientes Secundarios)
- Marcadores indelebles
- Lentes de protección

10.2.2.2 Unidad de Vigilancia Laboratorial

- Gabachas descartables
- Guantes descartables
- Lentes de protección
- Puntas descartables para pipeta (2-200 μ L, 50-1,000 μ L)
- Contenedores de desechos para material punzocortantes
- Bolsas para desechos autoclavable
- Hipoclorito de sodio al 5%
- Crioviales de polipropileno de 2.0 mL (para guardar las alícuotas)
- Criobox para crioviales de 2.0 mL
- Marcadores indelebles
- Insumos de oficina para emitir reportes

10.2.3 Reactivos

10.2.3.1 Laboratorios evaluadores

- Pruebas rápidas Treponémicas para Sífilis
- Kit para la realización de RPR para Sífilis
- Solución Salina al 0.85%.
- Sueros Controles Internos reactivos y no reactivos a RPR y a prueba rápida Treponémica

10.2.3.2 Unidad de Vigilancia Laboratorial

- Pruebas rápidas para Sífilis marca Determine
- Kit para la realización de RPR para Sífilis
- Kit para FTA-ABS (IgM-IgG)
- Kit para FTA-ABS IgM 19S

10.3 Capacitación

Se programará una capacitación teórica-práctica al personal técnico de los laboratorios seleccionados y que participará en la evaluación del algoritmo diagnóstico. En la capacitación se considerará lo siguiente:

- a. Importancia de la evaluación e implementación de algoritmos inmunodiagnósticos.
- b. Bioseguridad.
- c. Toma, manejo y envío de muestras.
- d. Uso e interpretación de la prueba rápida Treponémica.
- e. Uso e interpretación de la prueba RPR (No Treponémica).
- f. Algoritmos inmunodiagnóstico propuesto.
- g. Control de calidad.
- h. Llenado de formularios oficiales.

10.4 Realización del control de calidad:

Es muy importante el control de calidad y el aseguramiento de los procesos en los laboratorios seleccionados a fin de maximizar la exactitud de los resultados de laboratorio. El control de calidad estará a cargo de la UVL, la logística será la siguiente:

- a. Los laboratorios evaluadores almacenarán a -20°C todas las muestras analizadas con el algoritmo en evaluación.
- b. Referirán Semanalmente a la UVL todas las muestras, positivas y negativas, en cadena de frío.
- c. La UVL analizará el 100% de las muestras positivas siguiendo el algoritmo normado y el 100% de las negativas con prueba rápida No Treponémica y prueba de RPR.
- d. El Laboratorio Nacional de Salud informará a los laboratorios evaluados el resultado del control de calidad, con las medidas correctivas sugeridas cuando así sea pertinente.
- e. Las muestras serán almacenadas a -70°C por 1 año.

10.5 Análisis de Resultados

Las muestras de suero serán procesadas simultáneamente utilizando dos técnicas de tamizaje inicial (Prueba Rápida Treponémica y Prueba de RPR No Treponémica); la prueba de FTA-ABS se utiliza como gold standard. Los resultados serán almacenados en el sistema de información de laboratorio.

El análisis de los datos se realizará utilizando tablas 2x2, determinando sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

10.5.1 Sensibilidad, Especificidad Y Valores Predictivos.

Para determinar la Sensibilidad, Especificidad y Valores Predictivos se realizará el cálculo en base al siguiente cuadro:

CUADRO No. 2

Resultado	Estado Real de Anticuerpos		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	Positivo Verdadero (A)	Falso Positivo (B)	Todas las Positivas (A+B)
Negativo	Falso Negativo (C)	Negativo Verdadero (D)	Todas las Negativas (C+D)
Total	Total con Anticuerpo (A+C)	Total Sin Anticuerpo (B+D)	Total (A+B+C+D)

El esquema 1 permitirá establecer la definición algebraica de los siguientes términos:

Sensibilidad: Probabilidad de que el resultado de la prueba sea positivo cuando se aplica a las personas que en realidad tienen el anticuerpo. Algebraicamente expresada así : $S = A / (A+C)$

Especificidad: Probabilidad de que el resultado de la prueba sea negativo cuando se aplica a personas que en realidad no tienen el anticuerpo. Algebraicamente expresada así: $E = D / (B+D)$

Valor Predictivo Positivo (VPP) : Probabilidad de que una persona con resultado de prueba de tamizaje positivo en realidad tenga el anticuerpo. Algebraicamente expresado así: $VPP = A / (A+B)$

Valor Predictivo Negativo: Probabilidad de que una persona con resultado de prueba de tamizaje negativo en realidad no tenga el anticuerpo. Algebraicamente expresada así: $VPN = D / (C+D)$

10.6 Elaboración de informe y divulgación:

La UVL con el apoyo de OPS/OMS-ELS, elaborarán un informe con los resultados obtenidos de la evaluación de la validación del algoritmo para el inmunodiagnóstico de Sífilis utilizando prueba rápida y RPR, con base a lo recomendado en la Guía de la OMS.

Este informe será divulgado con las partes involucradas en el manejo de lo relacionado con el control y prevención de la Sífilis, especialmente con la Dirección de Vigilancia Sanitaria y el Programa Nacional de VIH.

XI. Consideraciones Éticas.

11.1 Protección de la Confidencialidad.

Se mantendrá la confidencialidad de datos de las personas incluidas en el presente protocolo, utilizando para ello los códigos establecidos con el equipo nacional, también se realizará capacitación de los profesionales de la salud que participaran en este proceso de validación; para garantizar la calidad y confiabilidad de los resultados.

Protección de la Confidencialidad.

Los registros, libros y documentos de los pacientes no serán sustraídos de los servicios de salud.

Para acceder al sistema de información de laboratorio, la DVS asignará una clave de acceso como usuario, para poder extraer la información requerida.

Todo el personal relacionado con la validación del algoritmo, será entrenado en la importancia de la confidencialidad y la seguridad de los datos.

La información colectada será de uso y manejo exclusivo de las Autoridades del Ministerio de Salud a través de la Dirección de Vigilancia Sanitaria, con el único fin de tomar decisiones que permitan la mejora continua de la detección y tratamiento oportuno de la Sífilis.

11.2 Consentimiento Informado

El consentimiento informado no será obtenido debido a la naturaleza de la evaluación, ya que se estará realizando la investigación serológica solicitada por el médico como parte del protocolo de atención correspondiente al motivo de consulta del paciente. No se extraerá muestra adicional y no será utilizada para ninguna prueba diferente a la ordenada por el médico consultante.

XII. Recursos Necesarios

ITEM	Presentación	Cantidad	Costo unitario	Costo total
INSUMOS				
Microtubos de 2 mililitros, color natural, fondo plano, con tapadera de rosca	Bolsa de 100	10	\$45.00	\$450.00
Caja de policarbonato para almacenar tubos criogénicos, (1 - 2) mililitros, capacidad 81 tubos, temperatura hasta 196 grados centígrados.	Unidad	30	\$25.00	\$ 750.00
Marcador punto fino permanente para escribir en vidrio de color rojo	Unidad	12	\$ 1.00	\$ 12.00
Marcador punto fino permanente para escribir en vidrio de color negro	Unidad	12	\$ 1.00	\$ 12.00
Marcador punto fino permanente para escribir en vidrio de color azul	Unidad	12	\$ 1.00	\$ 12.00
Punta de plástico universal para pipeta automática, capacidad (1 - 200) microlitros, descartable	Bolsa de 500	6	\$ 50.00	\$300.00
Rollo de papel toalla lavable reutilizable, 21x28 cms x 85 hojas peso neto 318 g	Rollo	100	\$ 1.00	\$100.00
Guante de latex, bajo en polvo, descartable, talla pequeña, caja 100 unidades.	Caja	5	\$ 10.00	\$ 50.00
Protector facial autoajustable traslucido de 19 cm de alto x 33 de ancho descartable con banda hipoalergénica (material de espuma 7 mm de espesor)	Unidad	100	\$ 5.00	\$ 500.00
Tubos tapón rojo tipo Vacutainer para toma de muestra	Rack de 50	15	\$15	\$ 225.00
TOTAL INSUMOS (1)				\$ 2,411.00
REACTIVOS				
Pruebas rápidas Sífilis por inmunocromatografía.	Kit de 100 Pruebas	10	\$ 100.00	\$1,000.00

Prueba rápida sífilis (RPR) para detección de reaginas, en suero o plasma, con partícula de carbón, pipeta descartables, frasco con tapón, aguja dispensadora, tarjetas y sueros controles reactivo y no reactivo, set 500 pruebas	Set de 500 pruebas	7	\$ 75.00	\$ 525.00
Set para Diagnóstico de Anticuerpos Treponema pallidum, método Inmunofluorescencia Indirecta con anticuerpos absorbidos, (FTA-ABS), SET (100 - 200) pruebas	Set de 100-200 pruebas	4	\$ 450.00	\$ 1,800.00
FTA-ABS IGM 19S. Set para diagnóstico de anticuerpos Treponema pallidum, método Inmunofluorescencia Indirecta con anticuerpos absorbidos, IGM 19S (FTA-ABS), SET (100 - 200)	Set de 100 – 200 pruebas	2	\$450.00	\$ 900.00
TOTAL REACTIVOS (2)				\$ 4,225.00
EQUIPO				
Micropipeta automática, volumen variable (10 - 100) microlitros, con eyector de puntas, cono largo, incremento 1 microlitros, exactitud \pm (0.35 - 0.80) %, precisión \leq (0.3 - 0.8) %, certificado de calidad y calibración.	Unidad	6	\$ 450.00	\$ 2,700.00
TOTAL EQUIPO (3)				\$ 2,700.00
EQUIPO Y MATERIAL DE OFICINA				
Papelería y artículos de oficina			\$500.00	\$ 500.00
TOTAL EQUIPO Y MATERIAL DE OFICINA (4)				\$ 500.00
TOTAL (1+2+3+4)				\$ 9,836.00

XIII. Cronograma

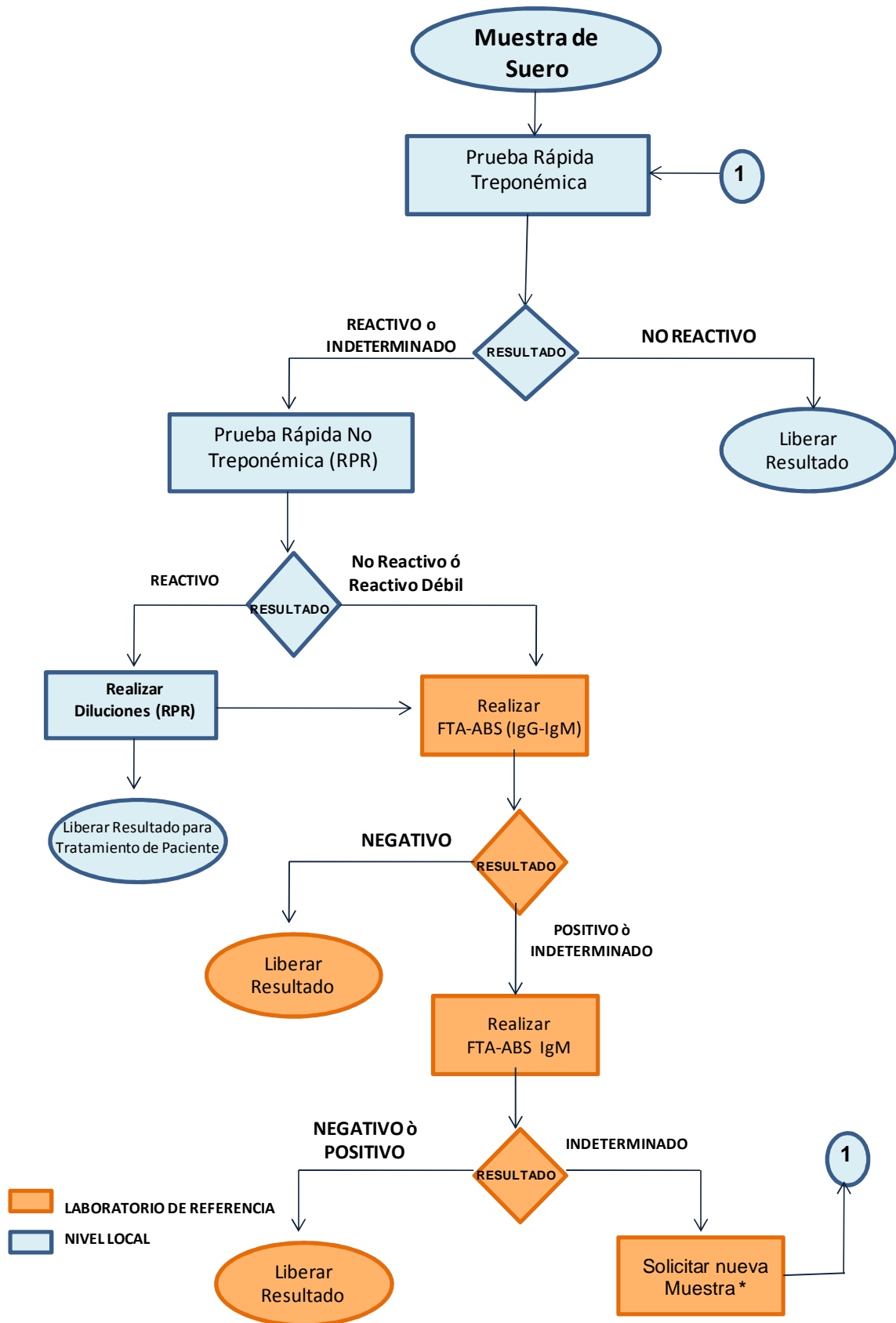
Actividad	2011						2012					
	Jul.	Ago.	Sept.	Oct.	Nov.	Dic.	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.
Determinación del algoritmo inmunodiagnóstico a evaluar.	X											
Elaboración del Protocolo para el Plan Piloto de Validación	X	X										
Adquisición de Reactivos e Insumos			X	X	X							
Capacitación de los Recursos Humanos					X							
Ejecución del protocolo para la Validación del algoritmo diagnóstico de Sífilis en los laboratorios seleccionados					X	X	X	X	X	X		
Análisis de muestras en la UVL					X	X	X	X	X	X		
Realización del control de calidad					X	X	X	X	X	X		
Análisis de Resultados										X		
Elaboración de informe y divulgación									X	X		

XIV. Referencias Bibliográficas

1. El Control de las enfermedades transmisibles. 18ª. Edición. Organización Panamericana de la Salud. 2005
2. Código de Salud. República de El Salvador.
3. Constitución de la República de El Salvador. 1983
4. Diagnóstico Serológico de la Sífilis. Dr. Antonio Fuertes. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid, España. 2004.
5. Eliminación de la Sífilis Congénita en América Latina y el Caribe. Marco de Referencia para su Implementación. Organización Panamericana de la Salud. 2005
6. El Uso de las pruebas rápidas para Sífilis. Organización Mundial de la Salud. 2007
7. Iniciativa Regional para la Eliminación de la transmisión materno-infantil del VIH y de la Sífilis congénita en América Latina y el Caribe. Documento Conceptual. Organización Panamericana de la Salud. 2009
8. Manual de procedimientos técnicos de laboratorio clínico del primer nivel de atención. 1ra. Edición. Ministerio de Salud. 2007
9. Política Nacional de Salud “Construyendo la Esperanza” 2009 – 2014”. Estrategias y recomendaciones en Salud. Ministerio de Salud El Salvador.

ANEXO 1

ALGORITMO PROPUESTO PARA EL PLAN PILOTO DE VALIDACIÓN



* Nueva Muestra en 2-6 semanas

ANEXO 2

PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA VENOSA

PROPÓSITO:

Obtener sangre venosa para realizar pruebas de inmunología.

MUESTRA REQUERIDA:

5 mL de sangre venosa sin anticoagulante.

MATERIALES:

- Jeringa estéril para extraer 5 mL con aguja 21 X 1 ½ o sistema de extracción al vacío.
- Torundas de algodón.
- Alcohol etílico (70%).
- Marcador de vidrio.
- Torniquete.
- Tubos sin anticoagulante 13 x 100 mm y tapón de hule o tubos del sistema de extracción al vacío.
- Gradilla para tubos.
- Guantes descartables.

PROCEDIMIENTO:

1. Lavar y secar las manos y colocarse los guantes.
2. Identificar el tubo de acuerdo a la solicitud.
3. Explicar al paciente sobre el procedimiento que se le va a realizar.
4. Sentar cómodamente al paciente para la extracción tomando en cuenta que el área de sangría debe contar con suficiente iluminación.
5. Seleccionar la vena apropiada para la punción.
6. Realizar asepsia con torunda de algodón humedecida con alcohol etílico al 70% de adentro hacia fuera.
7. Colocar el torniquete firmemente alrededor del brazo, y pedir al paciente que abra y cierre la mano varias veces para favorecer la dilatación de las venas.
8. Proceder a puncionar la vena seleccionada.
9. Colocar la aguja con el bisel hacia arriba sobre la vena a puncionar.
10. Introducir la aguja en el centro de la vena y penetrar a lo largo de la vena de 1 a 1.5 cm.
11. Tirar hacia atrás el émbolo de la jeringa muy lentamente para que penetre la sangre en la jeringa hasta llenar con la cantidad de sangre necesaria. Si utiliza sistema de sangrado al vacío introducir el tubo en el dispositivo (holder) de manera que al ejercer presión se atravesase el extremo inferior de la aguja, para que la sangre fluya hacia el tubo por efecto del vacío.
12. Retirar torniquete tirando del extremo doblado y colocar una torunda de algodón sobre la piel donde se encuentra oculta la punta de la aguja.
13. Extraer la aguja con un movimiento rápido por debajo de la pieza de algodón, pedir al paciente que presione firmemente la torunda durante 3 minutos con el brazo extendido.
14. Separar la aguja de la jeringa o del holder cuidadosamente, llenar los tubos deslizando la sangre por las paredes del mismo.
15. Esperar que la muestra se coagule a temperatura ambiente.
16. Centrifugar la muestra a 3000 rpm por 10 minutos.
17. Separar el suero del paquete globular.
18. Verificar nuevamente la identificación del paciente.

FUENTES DE ERROR:

- Prolongada aplicación del torniquete.

- Extracción violenta de la sangre, que puede provocar hemólisis.
- Empleo de tubos mal lavados.
- Depositar la sangre en el tubo en forma violenta.
- Dejar los tubos con muestras destapados.
- Que el paciente no cumpla con las indicaciones de acuerdo al análisis químico a realizar.
- Separación inadecuada del coagulo antes de centrifugar (no poner en baño de María).
- Centrifugación inadecuada de la muestra.

RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

ANEXO 3

INDICACIONES PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS A LA UNIDAD DE VIGILANCIA LABORATORIAL

Tipo de muestra: Suero

Volumen de muestra: 1.5 ml. mínimo

Conservación de la muestra:

- Conserve la muestra en refrigeración (2-8°C), hasta el momento de ser enviada a la UVL.
- Evite congelar y descongelar la muestra, ya que esto afecta la calidad de los componentes de la misma.

Embalaje de la muestra:

Para el envío de la muestra de suero a la UVL, se utilizarán los microviales con tapadera de rosca que fueron proporcionados para la presente validación.

Envíe un vial conteniendo 1.5 ml de suero, debidamente rotulado con el número de expediente y las iniciales del paciente.

Los viales conteniendo las muestras serán embalados de acuerdo a las normas de bioseguridad, utilizando un recipiente secundario el cual se colocará en el termo que mantendrá la cadena de frío, tomando todas las medidas necesarias para evitar derrames.

Documentación:

Cada muestra deberá registrarse en el formulario de para solicitud de examen por enfermedad objeto de vigilancia sanitaria anexo al presente lineamiento, el cual debe ser completado adecuadamente con toda la información solicitada, y además agregar el resultado de la prueba rápida y el resultado del RPR con su correspondiente dilución.

El formulario debe entregarse en la recepción de muestras de la UVL, en donde será revisado contra las muestras entregadas.

Periodicidad de envío:

Las muestras serán enviadas según la logística que cada establecimiento utiliza rutinariamente para la referencias de muestras a la UVL.

Causas de Rechazo de Muestras:

Toda muestra que presente una o más de las siguientes características será rechazada y por lo tanto no procesada para esta validación:


- Muestras derramadas.
- Muestras lipémicas, hemolizadas y/o contaminadas.
- Muestras identificadas inadecuadamente
- Muestras con pérdida de cadena de frío.

- Muestras sin documentación

Recepción de muestras:

Las muestras se reciben en recepción de muestras del área de Laboratorio Clínico, ubicada en la 2da. Planta de la UVL de lunes a viernes, en un horario de 7:30 a.m. a 3:30 p.m.

Formulario a utilizar:

 República de El Salvador 	
SISTEMA NACIONAL DE SALUD / COMISIÓN INTERSECTORIAL DE SALUD (CISALUD) FORMULARIO PARA SOLICITUD DE EXAMEN POR ENFERMEDAD OBJETO DE VIGILANCIA SANITARIA	
1. Nombre del Establecimiento: _____	2. Fecha de Consulta: ____ / ____ / ____
3. No. Expediente/ No. de Afiliación: _____	
4. No. DUI: _____	5. Edad: Años ____ Mes ____ Días ____
6. Sexo: Mas. <input type="checkbox"/> Fem. <input type="checkbox"/>	
7. Apellidos _____	Nombres _____
8: Si es menor de edad, nombre completo de la persona responsable _____	
9. Fecha de inicio de síntomas ____ / ____ / ____	
10. Diagnóstico clínico / sospecha diagnóstica _____	11. Embarazada: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
12. Nombre del médico que notifica: _____	
13. No J.V.P.M: _____	
LABORATORIO DEL NIVEL LOCAL	
USO EXCLUSIVO DE LABORATORIO	
14. Nombre de Laboratorio que toma la muestra: _____	15. Fecha de toma de muestra ____ / ____ / ____
	16. Fecha de envío de muestra ____ / ____ / ____
17. Nombre de Laboratorio que proceso la muestra: _____	18. Fecha de procesamiento ____ / ____ / ____
	19. Fecha de resultado de muestra ____ / ____ / ____
20: Resultado de laboratorio: Confirmado <input type="checkbox"/> Descartado <input type="checkbox"/> No procesado <input type="checkbox"/>	
Indeterminado <input type="checkbox"/> No concluyente <input type="checkbox"/> Inadecuadamente investigado <input type="checkbox"/>	
LABORATORIO DE REFERENCIA	
21. Nombre de Laboratorio que proceso la muestra: _____	22. Fecha de procesamiento ____ / ____ / ____
	23. Fecha de resultado de muestra ____ / ____ / ____
24: Resultado de laboratorio: Confirmado <input type="checkbox"/> Descartado <input type="checkbox"/> No procesado <input type="checkbox"/>	
Indeterminado <input type="checkbox"/> No concluyente <input type="checkbox"/> Inadecuadamente investigado <input type="checkbox"/>	
25. Nombre de Profesional _____	26. No J.V.P.: _____ Sello



REAL EMBAJADA DE NORUEGA

