



*Ministerio de Salud y  
Deportes  
Bolivia*

**PROTOCOLO PARA EL ESTABLECIMIENTO  
DE LA VIGILANCIA CENTINELA DEL VIRUS DE  
LA INFLUENZA EN EL HOSPITAL MUNICIPAL  
BOLIVIANO HOLANDES DEL 2006 AL 2008**

**SERIE: DOCUMENTOS DE TRABAJO  
Subserie: N° 7 SISTEMA DE VIGILANCIA**

**BOLIVIA, 2005**

### **Preparación**

Dra. Aleida Nina  
Dr. Mario Lagrava  
Dr. Ricardo Batista

### **Revisión**

Dr. Virgilio Prieto  
Dra. Georgina Calvimontes  
Dr. Rafael Machicado  
Dra. Claudia Portugal  
Dr. Edgar Chávez

<p>Este documento fue preparado por iniciativa del Comité de Coordinación de la Vigilancia Epidemiológica y el Hospital Boliviano Holandés</p>
--

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>1. ANTECEDENTES</b>	<b>4</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>5</b>
<b>3. PROPÓSITO</b>	<b>5</b>
<b>4. RESULTADOS ESPERADOS</b>	<b>5</b>
<b>5. ACTIVIDADES/METODOLOGÍA</b>	<b>6</b>
5.1. Características, duración y periodicidad del estudio.	6
5.2. Identificación de la población centinela	6
5.3 Criterios de Inclusión y exclusión de la población centinela	6
5.4 Determinación del tamaño de la muestra	7
5.5 Obtención y procesamiento de las muestras respiratorias	7
5.6 Identificación de variables	9
5.7 Procesamiento de los Datos	9
5.8. Análisis de la Información	9
<b>6. CRONOGRAMA</b>	<b>10</b>
<b>7. ORGANIZACIÓN</b>	<b>10</b>
<b>8. RECURSOS</b>	<b>11</b>
8.1. Humanos	11
8.2. Recursos Materiales (Reactivos, insumos de laboratorio y otros)	12
<b>Anexo 1</b>	<b>13</b>
<b>Anexo 2</b>	<b>13</b>
<b>Anexo 3. Consulta Externa Adultos y niños Hospital Boliviano Holandés</b>	<b>17</b>
<b>Anexo 4</b>	<b>18</b>
<b>Anexo 5</b>	<b>24</b>
<b>Anexo 6</b>	<b>24</b>

## 1. ANTECEDENTES

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) causadas por virus varía desde casos asintomáticos a infecciones fatales. Algunos virus tienden a producir IRAs predominantemente altas (ej. *Rhinovirus*, *Coronavirus*), mientras que otros pueden provocar IRAs bajas, de severidad variable como las ocasionadas por: los *Adenovirus (Ad)*, *Virus Respiratorio Sincicial (VRS)*, *Virus influenza (Flu)* y *Virus parainfluenza (PI)*, dependiendo de distintos factores del huésped como ser: edad, estado inmunológico, estado nutricional, presencia de enfermedades previas, tabaquismo, entre otros. En condiciones favorables cualquiera de ellos puede comprometer distintos niveles del aparato respiratorio.

Desde el punto de vista del huésped, las IRAs son más frecuentes y severas en las edades extremas de la vida. Los menores de 5 años son los más expuestos, seguidos por los ancianos.

Dada la importancia de los virus en las IRAs, demostrados en varios indicadores epidemiológicos como ser: Son la primera causa de consulta en los policlínicos y centros médicos pediátricos, son la principal causa de ausentismo escolar, de infecciones nosocomiales y se constituyen en causa importante de hospitalización.

Especial atención merece el virus influenza, agente etiológico de la “influenza o gripe” caracterizada por ser una infección respiratoria aguda de grado variable, cuyo comportamiento epidémico y/o pandémico se debe a la aparición de nuevos subtipos virales circulantes. La mortalidad se produce en pacientes con factores de riesgo predisponentes. Las epidemias pueden ser predictivas y la vacunación puede llevarse a cabo cuando se conocen los subtipos circulantes ese año en esa región.

Por esta razón, la OMS ha establecido una Red Mundial de Vigilancia de virus influenza que permita obtener información para la elaboración de una vacuna apropiada y estar alertas en caso de epidemias y/o una nueva pandemia.

En Bolivia, el Laboratorio de Virología del INLASA se constituye en Referencia Nacional para Vigilancia de Influenza y otras virosis respiratorias. A partir del año 2000 se inicia la vigilancia de virosis respiratorias en La Paz, cuyo centro centinela es el Hospital del Niño, trabajo que se desarrolla en forma ininterrumpida hasta el presente. El mismo año 2000 se inician estudios pilotos en las ciudades de Cochabamba y Santa Cruz, pero que sin embargo no pudieron ser mantenidos hasta el presente. El año 2004 se incorpora a la red de vigilancia centinela el Hospital Boliviano Holandés de la ciudad de El Alto.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

Debido a la biología del virus influenza con la aparición de nuevos subtipos virales que han dado lugar a pandemias y más aún la actual alerta mundial debido a la presentación de casos humanos por un nuevo subtipo de virus Influenza A el H5N1 y su probable diseminación desde el continente asiático al resto del mundo, hacen necesaria la implantación de la vigilancia en Bolivia tanto clínica como virológica, con este motivo se conformará la Red Nacional de Vigilancia Centinela de virus Influenza para captar pacientes, tomar muestras (secreciones respiratorias), diagnosticar el virus influenza mediante técnica rápida de Inmunofluorescencia Indirecta y finalmente los casos positivos enviar a los laboratorios coordinadores (INLASA o CENETROP) y para la realización del aislamiento viral en cultivo celular finalmente todos los aislados virales al Laboratorio de Referencia Nacional (INLASA) para subtipificación viral de virus influenza. Asimismo, esta red trabajará en forma coordinada con la Red de Vigilancia de Influenza Aviar dependiente del SENASAG, Ministerio de Agricultura y Ganadería.

En El Alto, se seleccionó al Hospital Municipal Boliviano Holandés como sitio centinela y al Instituto Nacional de Laboratorios en Salud - INLASA- como la institución responsable de realizar las pruebas de laboratorio hasta que el laboratorio del Hospital tenga capacidad resolutive.

## **3. PROPÓSITO**

Conocer la incidencia y la tendencia de la infección por virus influenza, en la población de usuarios que acuden a la consulta externa en el Hospital Municipal Boliviano Holandés, entre los años 2006 al 2008,

## **4. RESULTADOS ESPERADOS**

4.1. Se cuenta con un convenio vigente entre la Dirección de Control y Prevención de Enfermedades (DPCE), el Hospital Municipal Boliviano Holandés de El Alto y el INLASA de La Paz, para el funcionamiento de un sitio centinela en los próximos tres años.

4.2. Se cuenta con los recursos humanos y materiales suficientes para la ejecución de la vigilancia centinela en la población de usuarios/as que han acudido al Hospital Boliviano Holandés de la ciudad de El Alto.

4.3. Se cuenta con un sitio centinela funcionando adecuadamente, durante los próximos tres años.

## 5. ACTIVIDADES/METODOLOGÍA

### 5.1. Características, duración y periodicidad del estudio.

El estudio se realizará en pacientes que acudan a la consulta externa y que son diagnosticados clínicamente como caso de influenza de acuerdo a la definición de caso sospechoso, vigente. En esta modalidad, la muestra de secreción respiratoria obtenida por aspirado nasofaríngeo o hisopado nasal faríngeo combinado, ira necesariamente acompañada de una ficha de identificación diseñada para tal efecto. **(Anexo 1)**

El estudio centinela, se desarrollará, en el periodo 2006 al 2008, en cada año, el estudio abarcará las 52 semanas epidemiológicas, en base al acuerdo firmado entre el Hospital Municipal Boliviano Holandés, el INLASA y la Dirección de Control y Prevención de Enfermedades. **(Anexo 2)**

### 5.2. Identificación de la población centinela

En la ciudad de El Alto, se seleccionó a las/os usuarias/os del Hospital Municipal Boliviano Holandés, por constituir una población heterogénea de todas las edades (adultos y niños), que reside en una ciudad que está a 4040 m.s.m, con un índice de pobreza de 72.9<sup>1</sup> y con asentamientos con diverso origen. Además de una importante demanda de servicios en consulta externa.

### 5.3 Criterios de Inclusión y exclusión de la población centinela

Los criterios de inclusión y exclusión para la población seleccionada son:

Grupo de Población	Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
Usuarias/os que acuden a la consulta externa pediátrica y general del Hospital Municipal Boliviano Holandés de la ciudad de El Alto por sospecha de influenza.	Pacientes que asisten por primera vez a la consulta externa pediátrica y general por sospecha de influenza y a los cuales se les toma una muestra de aspirado nasofaríngeo o hisopado nasal faríngeo combinado.  Paciente con un período de evolución máximo de 72 horas (3 días) desde el inicio de los síntomas.  Paciente con sospecha de influenza que se encuentre entre los primeros cinco casos consecutivos de la semana epidemiológica	Paciente que asiste repetidamente a la consulta externa dentro de los 15 días posteriores a la primera consulta.  Todo paciente que asiste a la consulta externa por otra causa.  Todo paciente sospechoso de Influenza a quien no se le tomó la muestra de aspirado nasofaríngeo o hisopado nasal faríngeo combinado.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Estadística. Anuario Estadístico 1997. La Paz, May 1998:178

## 5.4 Determinación del tamaño de la muestra

De acuerdo a los recursos humanos y materiales con los que se cuenta, así como al tiempo disponible, se tomarán un total de cinco muestras consecutivas a partir del primer caso sospechoso de Influenza que se presente en cada semana epidemiológica (lapso transcurrido entre las 0:00 horas del domingo hasta las 24 horas del sábado siguiente).

## 5.5 Obtención y procesamiento de las muestras respiratorias

La toma de muestras, su transporte, almacenamiento y procesamiento seguirán las normas de bioseguridad establecidas internacionalmente. A continuación se describen los pasos que se darán durante la obtención y procesamiento de las muestras, estos pasos están graficados en el **anexo 3**

### Pasos en la Consulta Externa del Hospital Municipal Boliviano Holandés

El personal médico del Hospital Municipal Boliviano Holandés que trabaja en los tres turnos del día, identificará a los pacientes con clínica compatible con influenza (de acuerdo a la definición de caso sospechoso), llenará la ficha de identificación y la enviará junto con el paciente al laboratorio para la toma de la muestra indicada.

Las definiciones aceptadas de caso de influenza son:

- **Caso sospechoso de influenza:** Fiebre súbita mayor a 38°C, acompañada de síntomas respiratorios (tos, odinofagia), artromialgias, cefalea y compromiso del estado general.
- **Caso confirmado de influenza:** caso compatible con la definición de caso sospechoso y confirmado por laboratorio (inmunofluorescencia indirecta)

### Pasos en el Laboratorio del Hospital Municipal Boliviano Holandés

El personal del laboratorio, registrará la fecha de la toma de la muestra y le asignará el código de laboratorio.

El código asignado para este sitio centinela es 1, cada muestra estará identificada con el código asignado a partir del 1001, en forma correlativa, Cada código tendrá como denominador el año correspondiente por ejemplo: 1001/06

El mismo código será registrado en la ficha de laboratorio empleada para este estudio, junto con los datos solicitados en dicha ficha.

La toma de muestras deberá ser realizada con todas las medidas de bioseguridad, vistiendo equipo de protección personal. **Anexo 4.**

Al momento de la toma de la muestra se deberá considerar la edad del paciente para la selección del método a emplearse para obtener la muestra respiratoria:

- Para los niños menores de 5 años la muestra será obtenida por aspirado nasofaríngeo.
- Para los niños de 5 o más años y los adultos la muestra será obtenida por hisopado nasal y faríngeo combinado

Las muestras de aspirado nasofaríngeo serán almacenadas a una temperatura de 4°C<sup>2</sup>, por un máximo de dos días en el laboratorio del Hospital Boliviano Holandés.

De otra forma deberán ser congeladas a -70 °C hasta su envío al laboratorio de Virología del INLASA. **Anexo 4.**

Concluida la toma de la muestra el personal verificará la fecha de la toma de la muestra, el código de laboratorio y los nombres y apellidos del paciente, estos datos deben estar registrados en la ficha de identificación de la muestra.

Una vez verificados los datos se los transcribirá al cuaderno de registros del estudio, esta actividad se realizará los días lunes y viernes.

#### **Pasos en el Laboratorio de Virología del INLASA.**

Las muestras serán transportadas del Hospital Municipal Boliviano Holandés al INLASA cada lunes y jueves al medio día, por el personal responsable del Hospital Municipal Boliviano Holandés. En caso de feriado u otra circunstancia vg. bloqueo de las vías de acceso a El Alto, en los días señalados, las muestras se recogerán al día siguiente (martes y viernes).

En el INLASA se conservarán las muestras hasta su procesamiento a una temperatura de 4°C por un máximo de 24 horas, tiempos mayores se almacenarán a -70°C.

Se realizarán las pruebas de laboratorio de acuerdo al flujograma descrito en el **anexo 4.**

Se podrán emplear las técnicas de:

- Inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se realizará a todas las muestras obtenidas en la Vigilancia.
- Aislamiento viral en cultivo celular, se realizará cuando la muestra de resultado positivo a la IFI.

---

<sup>2</sup> Modern Methods for Influenza detection and Subtyping. CDC. April 25-29, 2005



- La subtipificación viral por Inhibición de hemaglutinación, se realizará a todos los aislados virales obtenidos en cultivo celular.
- La reacción de la polimerasa en cadena (PCR), se realizará cuando no se aisle el virus en cultivo celular o cuando el título viral en el aislamiento es bajo (< 1/16).

Para más detalles remitirse al manual de Procedimientos técnicos.

## **5.6 Identificación de variables**

Las variables a ser incluidas en este estudio son: ver **anexo 1**

- Código del sitio centinela
- Código de la muestra de laboratorio
- Fecha de la toma de la muestra
- Sexo
- Edad
- Ocupación
- Fecha inicio de signos/síntomas
- Vacunación contra la Influenza
- Diagnóstico virológico final

## **5.7 Procesamiento de los Datos**

En el INLASA serán transcritos los datos de los formularios de vigilancia centinela, incluyendo el resultado de la prueba de laboratorio, a una planilla de datos preparada en Epi Info/Excel.

Los resultados obtenidos semanalmente, serán enviados al finalizar la semana epidemiológica vía correo electrónico o Fax desde el INLASA al Hospital Boliviano Holandés, SEDES, SNIS y a la DCPE. **Anexo 5**

En caso de la identificación de una cepa de virus influenza nueva o una vinculada a la pandemia se comunicará inmediatamente a los interesados mencionados anteriormente, a través de la vía más rápida.

El procesamiento y análisis estadístico de los datos se realizará en el INLASA con el apoyo del SNIS.

## **5.8. Análisis de la Información**

El análisis estadístico de los datos se realizará utilizando el programa EPINFO 2000, en la interpretación, los resultados sólo serán generalizados para la población y sitio seleccionados.

## 6. CRONOGRAMA

ACTIVIDADES	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Obtención de muestras y datos												
Procesamiento y análisis de datos												
Evaluación anual												
Elaboración de informe anual												
Distribución del informe												

## 7. ORGANIZACIÓN

- La planificación, dirección y supervisión del proceso será responsabilidad del INLASA
- La coordinación y el asesoramiento técnico será responsabilidad de SNIS
- La programación y ejecución será responsabilidad del Hospital Municipal Boliviano Holandés y el INLASA.
- El apoyo logístico será responsabilidad del INLASA y la DCPE.
- La evaluación será responsabilidad del INLASA, SNIS y la DCPE.

### Datos complementarios

- Para la ejecución del estudio se conformará un equipo en el que participarán:
- Por parte del Hospital Municipal Boliviano Holandés, el personal de laboratorio, cuya responsabilidad será la de apoyar en la preparación del estudio, en la toma de las muestras, en el almacenamiento y transporte de las mismas hasta el INLASA.
- Por parte del INLASA, el laboratorio de Virología cuya responsabilidad será la recibir, conservar y procesar las muestras; preparar y enviar los informes correspondientes.
- Por su parte el SNIS designará a un técnico de su unidad para realizar el asesoramiento, seguimiento y la coordinación de actividades.

En el **anexo 6** se detallan los centros centinelas, los laboratorios, los responsables, la población en vigilancia y la actividad del Laboratorio de la Red Nacional de Vigilancia Centinela de Virus Influenza.

## **8. RECURSOS**

### **8.1. Humanos**

#### **Personal del INLASA:**

##### **Laboratorio de Virología:**

Lic. Zulema Varela  
Dra. Aleida Nina  
Sr. Arturo Ampuero

##### **Coordinador**

Dra. Aleida Nina

##### **Director**

Dra. Gladys Quiroga

#### **Personal del Hospital Boliviano Holandés:**

##### **Transporte de muestras:**

Sr. Henry Luján

##### **Laboratorio:**

Dra. Claudia Portugal (Responsable)  
Dra. Zaharela Rodríguez Escobar  
Dra. Verónica Sarmiento  
Dra. Maritza Huanca  
Biotéc. Lab. Mabel Soriagalvarro  
Biotéc. Lab. Carlos Benitez  
Internas de Bioquímica (5)

##### **Coordinador:**

Dra. Máxima Velarde

##### **Médicos responsables:**

Dr. Rafael Machicado y su equipo de profesionales  
Dr. Edgar Chávez y su equipo de profesionales

##### **Director:**

Dr. Nelson Ticona

##### **Asesoramiento:**

Dr. Mario Lagrava.  
Dr. Ricardo Batista  
Dra. Georgina Calvimontes

## 8.2. Recursos Materiales (Reactivos, insumos de laboratorio y otros)

### Reactivos, Materiales, Insumos

Reactivos/Materiales	Cantidad
Anticuerpos monoclonales anti virus Influenza A, A H1, A H3 y B. Kit CDC (Centres for Diseases Control and Prevention, USA)	Cantidad suficiente para procesar 500 veces por año
Anticuerpos anti virus Respiratorio sincicial, adenovirus, y parainfluenza	3viales de c/u
IgG antimouse conjugado con isotiocianato de Fluoresceína	3 viales x 2ml c/u
Suero Fetal Bovino	1 frasco x 500ml
Tripsina	100 grs
Tripsina TPCK, de la marca Sigma	100 mg
Antibióticos (penicilina, estreptomina y gentamicina) y antimicótico (anfotericina B)	1 vial de c/u
Células MDCK (Madin Darby Canine Cells) proporcionados por el CDC de Atlanta, USA.	
Medio Mínimo Esencial (MEM)	1 paquete por 10 litros
Kit para Subtipificación proporcionado por el CDC de Atlanta, USA.	
Eritrocitos humanos y de pavo	
Medio de Transporte Viral (MTV)	500 tubos x 4 ml
PBS	15 litros
Kit de extracción de RNA viral de la marca Qiagen	
dNTPs, Enzimas Taq DNA polimerasa y Transcriptasa reversa de la marca Invitrogen.	
Primers dirigidos para secuencia de las hemaglutininas H1 y H3. En caso de cepa pandémica a la IFI se utilizarán los primers para H5 y N1.	
Sondas nasogástricas N°4,5 y 6	1500 unidades
Hisopos de Dacron	1000 unidades
Membranas de nitrocelulosa de 0,2um y 47mm diámetro	100 unidades
Jeringas de 20 ml	1500 unidades
Tubos eppendorf de 1,5 ml	3 bolsas por 1000 unidades
Tubos de centrifuga c/tapa rosca roja (Viales, 2 ml.) Autoclavables	500 Tubos
Guantes descartables	10 Cajas (100 c/u)
Marcadores para vidrio	5 Unidades
Etiquetas autoadhesivas con impresión de códigos	4500 unidades
Tips de 1000ul	3.000 unidades
Tips de 200ul	3.000 unidades
Portaobjetos	3.000 unidades
Cubreobjetos de 24 x 50 mm	3.000 unidades
Fichas de remisión de muestras	2.000 unidades
Cuadernos	6

## Anexo 1

Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia  
Red nacional de Vigilancia Centinela de Virus Influenza  
Instituto Nacional de Laboratorios de Salud

### FICHA DE LABORATORIO PARA USO EN LA VIGILANCIA CENTINELA DEL VIRUS INFLUENZA

Código Centro Centinela N°:.....

Fecha Toma de muestras:.....

#### 1.- DATOS DE LA UNIDAD CENTINELA

Nombre Unidad Centinela: **Hosp. Boliviano Holandés**.....Ciudad.....**El Alto**.....

Hospitalizado \_\_\_\_\_ Servicio:.....Sala N°.....Cama N°:.....

Ambulatorio \_\_\_\_\_

#### 2.- DATOS DEL PACIENTE

Nombre:.....Edad:..... Sexo : F\_\_\_\_ M\_\_\_\_

Lugar y Dirección de Residencia:.....Teléfono:.....

Ocupación:.....Fecha inicio de síntomas.....

Antecedentes de viajes al exterior del país, 7 días anteriores al inicio de síntomas (Pais).....

**Vacuna** contra virus influenza? SI\_\_\_\_Fecha Vacunación.....

NO\_\_\_\_ Desconoce\_\_\_\_\_

**Impresión diagnóstica:** \_\_\_\_\_

Muestra obtenida y remitida por: .....

Cargo:.....Teléfono:.....Fax:.....

Observaciones.....

FIRMA

## Anexo 2

# **ACUERDO INTERINSTITUCIONAL ENTRE EL HOSPITAL MUNICIPAL BOLIVIANO HOLANDES, EL INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD, Y LA DIRECCIÓN DE CONTROL Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES, PARA LA IMPLANTACIÓN DE UN SITIO CENTINELA PARA EL VIRUS INFLUENZA EN LOS USUARIAS/OS QUE ASISTEN A LA CONSULTA EXTERNA PEDIÁTRICA Y GENERAL**

Por el presente acuerdo que suscriben entre el Hospital Municipal Boliviano Holandés representado por su Director Dr. Nelson Ticona que en adelante se llamará el Hospital, el Instituto Nacional de Laboratorios de Salud representado por su Directora Dra. Gladys Quiroga, que en adelante se llamará el INLASA, que en adelante se llamará el SNIS-VE y la Dirección de Control y Prevención de Enfermedades del Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia, representado por el Dr. Walter Ágreda, que en adelante se llamará la Dirección, establece lo siguiente:

## **1.- ANTECEDENTES**

El Hospital Boliviano Holandés es una institución pública, administrada por la ONG “Médicus Mundi”, cuya misión es proporcionar a la comunidad una atención médica integral de excelente calidad, proyectando sus servicios hacia el ámbito familiar, y brindar servicios con personal idóneo y comprometido preferentemente a las personas de escasos recursos económicos.

El Instituto Nacional de Laboratorios de Salud - INLASA es una institución desconcentrada dependiente del Ministerio de Salud y Deportes, cuya misión es el control de calidad y la garantía de los resultados de las pruebas de laboratorio para el apoyo a las acciones de diagnóstico y la vigilancia epidemiológica de enfermedades.

En el país durante las gestiones 2000 al 2005, con apoyo de la OPS/OMS, el INLASA realizó dos estudios de detección de influenza virus y otros virus respiratorios en población pediátrica del Hospital de Niño “Dr. Ovidio Aliaga Uría” de la ciudad de la Paz, el año 2004 se incorpora el Hospital Municipal Boliviano Holandés de la ciudad de El Alto.

De acuerdo con la Política de Salud de la presente gestión de gobierno, del Ministerio de Salud y Deportes, la vigilancia del virus influenza, constituye una prioridad, debido a la alerta mundial de pandemia, por lo se apoyará a la vigilancia centinela de esta infección viral a través de todas las instancias pertinentes.

## **2.- PROPOSITO**

El propósito del presente acuerdo es establecer los mecanismos y los lineamientos de trabajo entre “El Hospital”, “El INLASA” y la “Dirección” destinados al

establecimiento y funcionamiento de un sitio centinela para la vigilancia centinela de virus influenza en usuarias/os que asisten a la consulta externa pediátrica y general, durante los años 2.006 al 2.008.

### **3.- OBJETIVOS**

Conocer la incidencia y la tendencia de la infección por virus influenza, en la población de pacientes que acuden a la consulta externa pediátrica y general en el Hospital Municipal Boliviano Holandés, entre el año 2006 y el 2008,

Identificar el/los tipo(s) de virus circulante(s)

Detectar brotes influenza

### **4.- OBLIGACIONES Y RESPONSABILIDADES DE LAS PARTES**

#### **4.1 Del Hospital**

- Aplicar el protocolo para la vigilancia centinela para el virus influenza, desarrollado por el INLASA dependiente del Ministerio de Salud y Deportes por un período de tres años.
- Proporcionar el personal requerido para la obtención de las muestras respiratorias en forma diaria de usuarios/as que asisten a consulta externa pediátrica y general, y coordinar el envío de las mismas al INLASA. Todas estas tareas por un período de tres años, durante las 52 semanas epidemiológicas.
- Asegurar el número de muestras, según diseño y estimación del protocolo referido.

#### **4.2 Del INLASA**

- Desarrollar el protocolo para la implantación de la vigilancia centinela para el virus Influenza.
- Aplicar el protocolo para la vigilancia centinela para el virus influenza, por un período de 3 años.
- Asegurar el seguimiento estricto durante la ejecución del protocolo.
- Proporcionar la infraestructura, el personal y el equipo necesario para realizar las pruebas de: inmunofluorescencia Indirecta, aislamiento viral en cultivo celular incluida la subtipificación viral y la reacción de la polimerasa en cadena para la identificación del virus Influenza, en muestras respiratorias, que enviará "El Hospital" dos veces por semana, durante las 52 semanas epidemiológicas de cada año, en el periodo 2006 al 2008

- Procesar las muestras respiratorias del Hospital, de acuerdo al protocolo referido y en el tiempo previsto.
- Proporcionar al Hospital, al SEDES, al SNIS y a la Dirección de Control y Prevención de Enfermedades, la información obtenida en los estudios en forma oportuna.

### **De la Unidad de Enfermedades Emergentes y Reemergentes dependiente de la Dirección de Control y Prevención de Enfermedades**

- Asegurar la provisión de insumos, reactivos, y logística necesarios para la investigación, durante 3 años de acuerdo al protocolo referido.
- Prestar el asesoramiento técnico correspondiente, de acuerdo a necesidades.
- Efectuar el análisis epidemiológico con las instituciones correspondientes.
- Respetar la fuente de información en publicaciones que realice.
- Difundir el resultado de la investigación a los niveles respectivos.
- “La Dirección de Control y Prevención de Enfermedades” en representación del Ministerio de Salud y Deportes (MSD) asume la responsabilidad de la vigilancia centinela del virus influenza en Bolivia, en conformidad a la Ley de Organización del Poder Ejecutivo (LOPE), referente a las obligaciones del MSD, capítulo 5, Art. 10-I; Art. 28-A; Art. 13-E.

### **5.- ORGANIZACION**

El Responsable Nacional de “la Dirección de Control y Prevención de Enfermedades”, la Directora de “El INLASA”, el Coordinador del \*SNIS-VE\* y el Director del Hospital se constituyen en los responsables y supervisores de las actividades que se realizarán durante el desarrollo de los estudios, así mismo, deberán dar su visto bueno y el aval correspondiente a los documentos que se elaboren y a la información que se genere.

Así mismo deberán realizar una evaluación anual, una vez concluido el período de estudio, para incorporar las recomendaciones correspondientes para los siguientes estudios y considerar la realización de otras investigaciones de interés nacional o regional en las muestras recolectadas.

Para ejecutar los estudios se conformará un equipo en el que participarán:



- “La Unidad de Enfermedades emergentes y reemergentes\* designará a un personal de su unidad para realizar el asesoramiento, seguimiento y la coordinación de actividades.
- Por parte de “El INLASA”, el laboratorio de virología cuya responsabilidad será la de recibir, conservar y procesar las muestras; preparar y enviar los informes correspondientes.
- Por parte de “El SNIS-VI”, participará su unidad de vigilancia, responsabilidad será la de asesorar técnicamente durante la planificación, ejecución y evaluación del proyecto-
- Por parte de “El Hospital”, el personal médico y de laboratorio designado para el estudio será responsable directo de la ejecución de las actividades: como ser la preparación del estudio, la identificación de pacientes, la toma de muestras y en el almacenamiento de las mismas hasta su traslado al INLASA.

## 6.- VIGENCIA

El presente ACUERDO tendrá una duración de tres años, del 2006 al 2008 y entrará en vigencia a partir de la fecha de su firma.

## 7.- CONFORMIDAD

En señal de aceptación y conformidad con los lineamientos del presente acuerdo, las partes interesadas firman y se comprometen a su fiel y estricto cumplimiento, a los cuatro días del mes de noviembre del año 2005.

Dr. Nelson Ticona

DIRECTOR DEL HOSPITAL MUNICIPAL  
BOLIVIANO HOLANDES  
Dra. Gladys Quiroga

DIRECTORA INSTITUTO NACIONAL DE  
LABORATORIOS DE SALUD – MSD

Dr. Virgilio Prieto

RESPONSABLE DE LAS ENFERMEDADES  
EMERGENTES Y REEMERGENTES-MSD  
Dra. Nila Heredia

DIRECTOR DEL SERVICIO  
DEPARTAMENTAL DE SALUD- LA PAZ

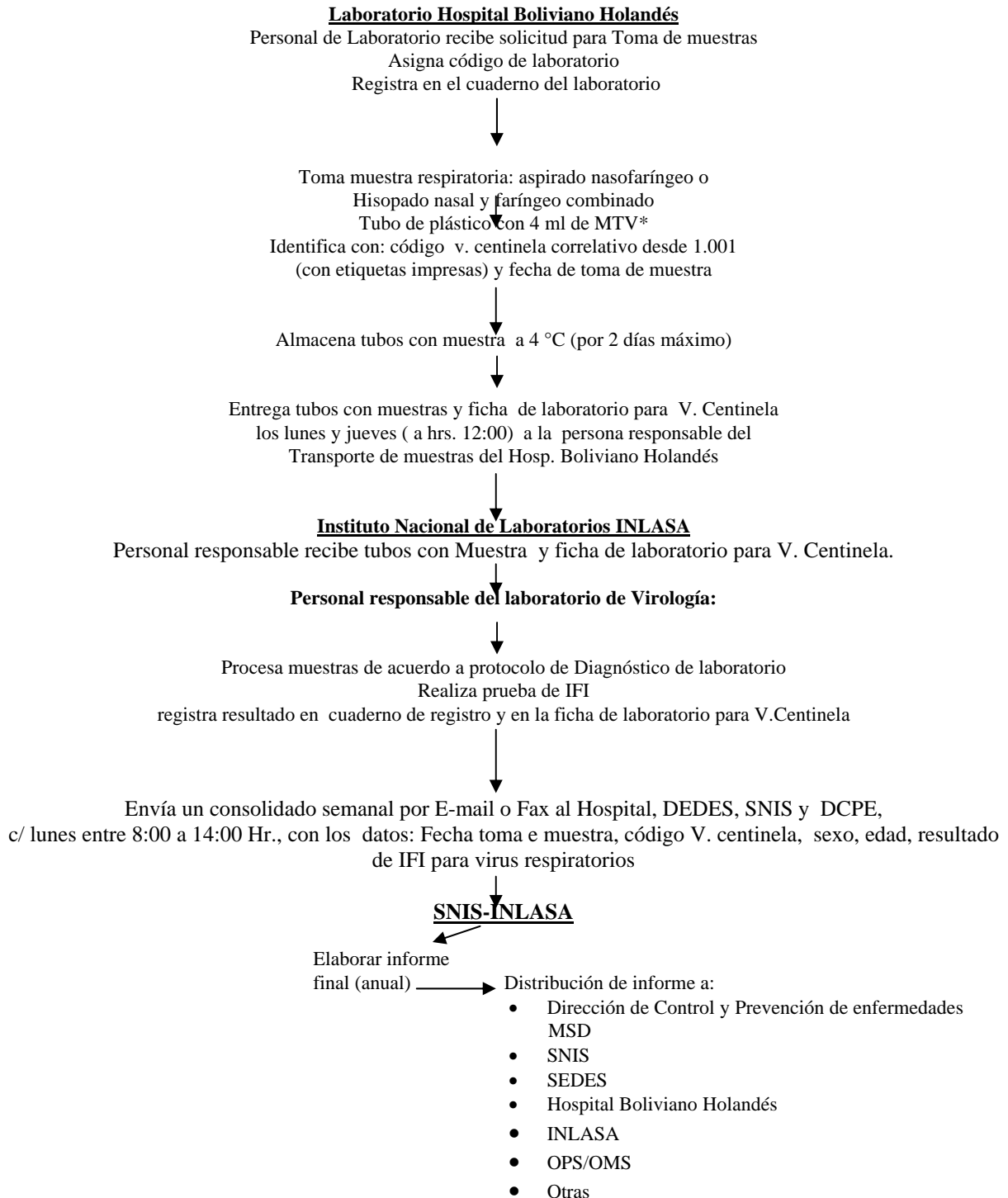
## **Anexo 3. Consulta Externa Adultos y niños Hospital Boliviano Holandés**

Personal médico identifica paciente con clínica de Influenza o Gripe

Llena ficha de remisión de muestras

Envía al paciente al Laboratorio del Hospital para la toma de muestras





\* MTV= Medio de transporte

## **Anexo 4**

### **Guía técnica para la obtención y procesamiento de las muestras para estudio del virus de la influenza**

#### **1. De los requisitos de bioseguridad del operador durante la toma de muestras:**

El operador debe haber sido capacitado previamente en la toma de muestras mediante el aspirado nasofaríngeo y el hisopado nasal y faríngeo combinados

Debe estar vacunado contra virus influenza

Debe contar con un equipo de protección personal

- a) Bata o guardapolvo
- b) Gorro
- c) Mangas
- d) Barbijo
- e) Lentes
- f) Guantes descartables

Debe contar con las hojas de verificación de los materiales a ser utilizados durante la toma de muestras

## 2. Hoja de verificación de los materiales a emplearse para la toma de muestras para estudios virales.

Operador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Instrucciones: Marcar al lado de cada ítem.

Nº	Nombre del material/insumo	Marque en esta casilla	Observaciones
1	Gradilla u otro para Tubos de 15 ml		
2	Tubo de 15 ml con MTV		
3	Sonda nasogástrica		
4	Hisopo de Dacrón		
5	Jeringa de 10 ó 20 ml		
6	Alcohol o Lavandina u otro desinfectante		
7	Gasa o algodón		
8	Ficha para Laboratorio		
9	Bolígrafo		
10	Marcador		
11	Guantes descartables		
12	Bata o guardapolvo		
13	Gorro		
14	Mangas		
15	Barbijo		
16	Lentes		
17	Termo para transporte de muestras		
18	Baja lenguas estéril		

## 3. Medio de transporte viral:

El medio de transporte viral (MTV) debe ser mantenido a 4 ° C (parte baja del refrigerador) hasta su utilización.

El MTV está compuesto por sales, antibióticos, antimicóticos y gelatina como estabilizador proteico, esta gelatina se gelifica durante su almacenamiento, por este motivo el MTV, antes de uso se debe atemperar, dejando unos 15 minutos a temperatura ambiente en el caso de las ciudades con clima templado o cálido o bien en baño de agua a 37°C en caso de ciudades con clima frío.

#### **4. Procedimiento para el aspirado nasofaríngeo:**

Previamente revisar la ficha de verificación

Proceder a la toma de muestra, como sigue:

##### **A. Aspirado nasofaríngeo:**

- La toma de la muestra se realizará con una sonda de aspiración nasogástrica, de numeración apropiada (según la marca del fabricante) para lactantes (k31), niños (Nº4 al 6).
- La sonda se conecta a un tubo con sistema de trampa para aspiración central (bomba de vacío) o simplemente a una jeringa de 20 ó 10 ml. (No utilizar jeringa de 5 ml por su poca capacidad de aspiración),
- La sonda conectada (al sistema de aspiración), se introduce por una fosa nasal hasta alcanzar la nasofaringe (que se reconoce porque el paciente presenta tos) y se procede a aspirar las secreciones; Si bien pueden recolectarse secreciones nasales, es preferible tomar muestra del nasofarinx.
- Luego, se vacía la muestra a un tubo conteniendo 4 ml de MTV y se procede de la misma forma con la otra fosa nasal.
- Se recomienda lavar la sonda cuidadosamente por aspirado y vaciado, evitando formar espuma.

##### **B. Hisopado nasal faríngeo combinado**

- La toma de la muestra se realizará con 2 hisopos de Dacrón estériles y descartables por paciente. 1 hisopo para ambas fosas nasales y uno para la faringe.
- El hisopo se introduce en una de las fosas nasales, girar lentamente por unos segundos y retirar, para luego introducirlo en el tubo con MTV. Descargar el contenido del hisopo agitando suavemente y presionando contra las paredes del tubo.
- Con el mismo hisopo realizar el mismo procedimiento en la otra fosa nasal y al depositar en el MTV romper el palito excedente.

- Con el segundo hisopo tomar la muestra de la faringe con la ayuda de un baja lenguas, evitando tocar la úvula.
- Introducir el hisopo con muestra faríngea en el mismo tubo con MTV donde se introdujeron las muestras nasales.

## 5. Almacenamiento, transporte y envío de las muestras

Una vez obtenida la muestra, el tubo con MTV-muestra, debe ser colocado en el termo para transporte de muestras y ser llevado al laboratorio o a la sala asignada, para realizar el envío final de la muestra al laboratorio designado.

Si se dispone de laboratorio en el sitio centinela, se deberá acondicionar un lugar específico para las muestras respiratorias dentro del refrigerador, este lugar debe estar identificado con un letrero y contar con un envase de plastroformo que contenga la gradilla con los tubos con MTV y muestra.

La muestra puede almacenarse por un máximo de 48 horas en refrigeración. En caso de muestras altamente sospechosas de influenza por cepa pandémica realizar el envío el mismo día de la toma de la muestra al INLASA.

## 6. Envío de muestras:

El envío de muestras por tratarse de muestras infecciosa debe realizarse empleando triple envase:

- 1.- El primer envase constituye el tubo con la muestra debidamente identificado, con el nombre del paciente y la fecha de toma de muestra. El tubo debe estar bien tapado y asegurado con cinta adhesiva o parafilm
- 2.- El primer envase se introducirá dentro de un segundo envase de plástico con tapa de rosca
- 3.- Ambos envases se colocan dentro del termo que es de plastroformo con ice pack o refrigerantes (perritos). Evitar el uso de bolsas plásticas con hielo.

La ficha de identificación debe ir en sobre por separado, adherido a la tapa del tercer envase. NUNCA en el interior del envase de plastroformo junto con la muestra.

El último envase contendrá el rótulo del remitente y del consignatario, de acuerdo al siguiente modelo de etiqueta:

Remitente:	Dra. Dolores Rengel .
Cargo:	Jefe Departamental de laboratorios
Institución:	SEDES Tarija
Dirección:	Av. Potosí N° 543. TARIJA
Teléfono:	(4) 6643267 – (4)6643268
En caso de emergencia llamar al celular:	(4) 6648779
Lic. Nelly Aguado	
	Consignatario: Dra. Aleida Nina C
	Cargo: Jefe Laboratorio de Virología
	Institución: INLASA

## 7. Procesamiento de las muestras para el estudio virológico.

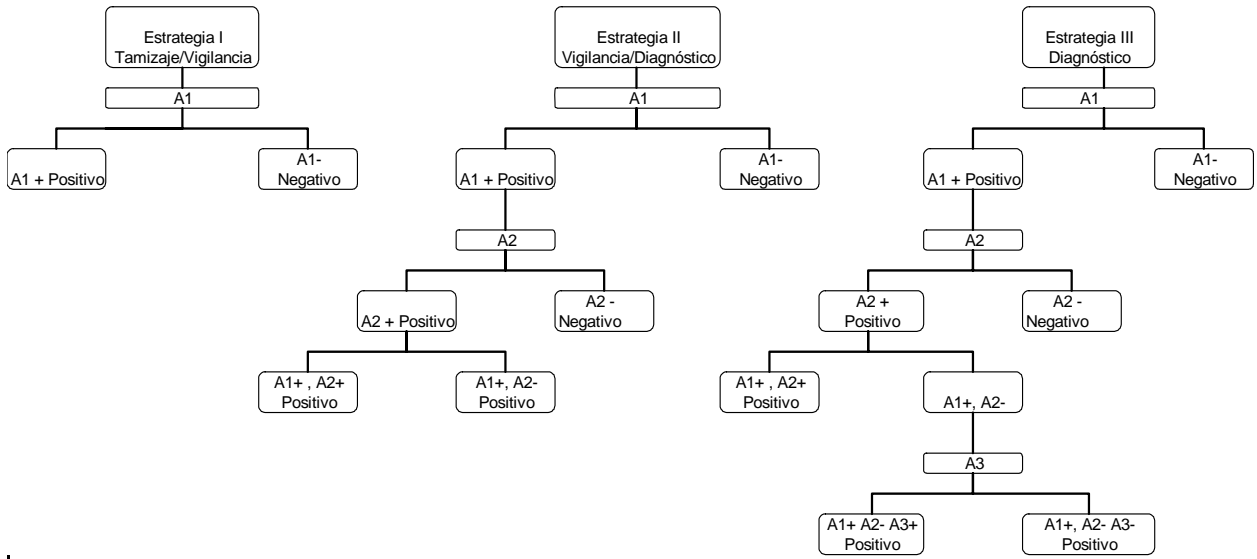
Se emplearán las técnicas de:

- **Inmunofluorescencia indirecta**, se realizará en todas las muestras obtenidas en los sitios centinela.
- **Aislamiento viral en cultivo celular**, se realiza en todas las muestras con resultado positivo a la IFI.
  - **La subtipificación viral por Inhibición de hemaglutinación**, se realizara en todos los aislamientos virales obtenidos por cultivo celular.
- **La reacción de la polimerasa en cadena (PCR)**, se realizará cuando no se aísle virus en el cultivo celular o cuando el título viral en el aislamiento sea bajo ( $< 1/16$ ).

Para más detalle remitirse a los Manuales de Procedimientos Técnicos.

Estos pasos están graficados en el flujograma que se presenta continuación.

Flujograma de laboratorio para estudio de virus Influenza



- A1 = Inmunofluorescencia Indirecta
- A2 = Aislamiento en cultivo celular
- A3 = PCR
- + = Positivo
- = Negativo

## Anexo 5

### INFORME SEMANAL LABORATORIAL DE VIGILANCIA CENTINELA DE VIRUS INFLUENZA

Laboratorio: \_\_\_\_\_.

Semana Epidemiológica: N° \_\_\_\_\_ Del \_\_\_\_\_ al \_\_\_\_\_

Cod. Centinela	Código de la muestra	Fecha toma de muestras	Fecha inicio síntomas	Sexo	Edad	Ocupación	Fecha Vacunación	Diagnóstico virológico*	Observaciones

IA=	Virus Influenza A
IA H1=	Virus Influenza A H1
IA H3=	Virus Influenza A H3
IB=	Virus Influenza B
VRS=	Virus Respiratorio Sincial
Ad=	Adenovirus
P=	Vir

Fecha de reporte: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Responsable: \_\_\_\_\_

## Anexo 6



### Detalle de la organización de los sitios centinela

Lugar	Institución y Responsables			Población en vigilancia	Actividad del Lab.
	Laboratorio	Centro centinela	Epidemiología		
Potosí	Lab. Hosp. Daniel Bracamonte Dra. Deysi Calderón	Hospital Daniel Bracamonte Dr. Jorge Barriga	Responsable Vigilancia epidemiológica SEDES	Adultos y niños	Coordina Toma muestras
Chuquisaca-Sucre	Laboratorio SEDES Chuquisaca Dra. Tatiana Romero	Hospital Santa Bárbara Por definir	Responsable Vigilancia epidemiológica SEDES	Adultos y niños	Procesa muestras por IFI
Oruro	Laboratorio CDVIR SEDES Dra. Roxana Sanzetenea	Hospital San Juan de Dios Por definir	Responsable Vigilancia epidemiológica SEDES	Adultos y niños	Coordina Toma Muestras
Tarija	Laboratorio SEDES Tarija Lic. Nelly Aguado	Hospital San Juan de Dios Dr. Carlos Romero (Tarija) Hospital General de YACUIBA	Responsable Vigilancia epidemiológica SEDES Dr. Marcelo Magne	Adultos y niños	Procesa muestras por IFI
					Coordina Toma de muestras para envío a Tarija
Cochabamba	Labimed. Fac. De Medicina UMSS Lic. Evaristo Venegas	Hospital Viedma Dra. Castro Hospital Germán Urquidí Dr. Alberto Corrales	Responsable Vigilancia epidemiológica SEDES Dr. Efraín Vallejo	Adultos Niños	Procesa muestras por IFI
	Santa Cruz	CENETROP Dra. Yelín Roca	Hospital Boliviano Japonés Dr. Carlos la Fuente Hospital general de Puerto Suárez	Responsable Vigilancia epidemiológica SEDES	Adultos y niños
La Paz	INLASA Dra. Aleida Nina	Hospital del Niño Dr. Alfredo Mendoza	Responsable Vigilancia epidemiológica SEDES	Niños	Referencia Nacional
	Laboratorio Hosp. Arco Iris Dr. Milton Lobo	Hospital Arco Iris Por definir		Adultos y niños	Procesa muestras por IFI
El Alto	Laboratorio Hosp. Boliviano Holandés Dra. Claudia Portugal	Hospital Boliviano Holandés Dr. Edgar Chávez Dr. Machicado	Resp. Vigilancia del SERES	Adultos y niños	Coordina Toma de muestras
Beni. Guayaramerín	Por definir	Hospital de Guayaramerín Por definir	Responsable Vigilancia epidemiológica SEDES	Adultos y niños	Coordina Toma de muestras
Pando-Cobija	Por definir	Hospital Roberto Galindo Por definir	Responsable Vigilancia epidemiológica SEDES		Coordina Toma de muestras