

GUIA PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE HEPATITIS VIRALES

DIRECCION REDES EN SALUD PÚBLICA

**SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE
REFERENCIA**

GRUPO DE VIROLOGIA

2019

Dirección

Martha Lucia Ospina Martínez
Directora General Instituto Nacional de Salud

Coordinación

Astrid Carolina Florez Sánchez
Director Técnico (E)
Redes en Salud Pública

Clara del Pilar Zambrano Hernández
Subdirectora
Laboratorio Nacional de Referencia

Dioselina Peláez Carvajal
Coordinadora
Grupo de Virología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección Redes en Salud Pública

Omayda Cárdenas Bustamante
Equipo Técnico
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Elaborado por

Catleya Abella Barreto
Grupo de Virología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección Redes en Salud Pública

TABLA DE CONTENIDO

OBJETIVOS DE LA GUÍA.....	4
ALCANCE	4
DEFINICIONES, SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	5
1. GENERALIDADES	6
1.1 Agente Etiológico.....	6
1.1.1 Virus de la Hepatitis A.....	6
1.1.2 Virus de la Hepatitis B.....	7
1.1.3 Virus de la Hepatitis C	8
1.1.4 Virus de la Hepatitis D.....	9
1.1.5 Virus de la Hepatitis E	10
1.2 Modo de transmisión	11
1.3 Prevención	11
2. DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO	12
2.1 Bioseguridad.....	12
2.2 Toma de muestras.....	12
2.3 Tipo de muestra, conservación, almacenamiento y transporte	13
2.4. Documentación requerida	15
2.5. Métodos de Laboratorio empleados para el diagnóstico del agente etiológico ..	16
2.5.1 Según el marcador que detecta	16
2.5.2 Según el formato o plataforma empleada	17
3. CONTROL DE CALIDAD:.....	22
3.1. Supervisión del control de calidad.....	22
4. VIGILANCIA POR LABORATORIO DE LAS HEPATITIS VIRALES	22
5. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS PARA LAS HEPATITIS VIRALES	22
5.1 Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud (IPS), Laboratorios clínicos del sector público y privado.....	22
5.2 Laboratorios de Salud Pública.....	23
5.3 Instituto Nacional de Salud	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

OBJETIVOS DE LA GUÍA

Describir los lineamientos y el proceso de vigilancia por laboratorio de las hepatitis virales.

Establecer los procesos de obtención, conservación y transporte de las muestras para la detección de los virus de las hepatitis.

Describir los fundamentos técnico-científicos de los métodos de ensayos empleados por el Instituto Nacional de Salud (INS) para el diagnóstico por laboratorio de las hepatitis virales.

Describir los criterios técnico-operativos para la participación de los laboratorios de salud pública en el programa interlaboratorio de control de calidad para la evaluación del desempeño directo PEDD (PIVI) e indirecto PEEDI.

Precisar cómo se articula la red nacional de laboratorios para la vigilancia por laboratorio de los virus de las hepatitis, así como describir las funciones y responsabilidades en cada uno de los niveles.

ALCANCE

La presente guía aplica para la vigilancia por laboratorio de los virus de la Hepatitis A, B, C y D en diferentes matrices y métodos con los cuales se detectan en el Grupo de Virología, Laboratorio Nacional de Referencia del INS.

DEFINICIONES, SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

- **ADN:** ácido desoxiribonucleico
- **ARN:** ácido ribonucleico.
- **CDC:** Centros de Control y la Prevención de Enfermedades, por sus siglas en inglés, Center for disease Control and prevention (CDC).
- **EIA:** Ensayo inmunoenzimático
- **ELISA:** Ensayo por Inmunoadsorción Ligado a Enzima
- **ELFA:** Inmunoensayo de fluorescencia ligado a enzima
- **HBsAg:** antígeno de superficie de hepatitis B
- **HBcAg:** antígeno core de hepatitis B
- **HBeAg:** antígeno E de la hepatitis B
- **Anti-HBS:** Anticuerpos contra el antígeno de superficie.
- **IgM:** Inmunoglobulina M
- **IgG:** Inmunoglobulina G
- **INH:** Institute National Health of United State.
- **IPS:** Institución prestadora de salud
- **LSP:** Laboratorio de salud pública
- **Mensurando:** es el marcador que se quiere determinar.
- **Matriz:** es el medio en donde se encuentra suspendido el mensurando.
- **OMS:** Organización mundial de la salud.
- **Resultados cuantitativos:** son aquellos que indican una concentración de marcadores serológicos, proteínas o ARN viral.
- **Resultados semi-cuantitativos:** son aquellos que determinan un resultado cuantitativo y que partiendo de un punto de corte determina la presencia o ausencia de marcadores serológicos, proteínas o ARN viral.
- **PIVI:** Prueba de Idoneidad en Virología
- **PEEDD:** Programa de evaluación externa del desempeño directo
- **PEEDI:** Programa de evaluación externa del desempeño indirecto.
- **VHA:** Virus de la hepatitis A
- **VHB:** Virus de la hepatitis B
- **VHC:** Virus de la hepatitis C
- **VHD:** Virus de la hepatitis D
- **VHE:** Virus de la hepatitis E

1. GENERALIDADES

Los virus hepatotrópicos constituyen una de las principales causas de las enfermedades hepáticas. La morbi-mortalidad de las hepatitis virales representa un problema global de salud pública, las cuales cursan con un amplio espectro de signos y síntomas clínicos desencadenando desde portadores asintomáticos hasta la manifestación de hepatitis aguda fulminante o crónica, conllevando a la progresión de cirrosis hepática y sus secuelas, incluyendo el carcinoma hepatocelular (HCC). Se han descubierto cinco (5) virus hepatotrópicos: el virus de la hepatitis A (VHA), el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC), el virus de la hepatitis delta (VHD) y el virus de la hepatitis E (VHE). En la década de 1940, se conocían dos formas clínicas distintas de hepatitis: epidémica e infecciosa. En la década de 1960 fue descubierto el virus de la hepatitis B (VHB) por Blumberg et al y por Prince. En el año 1973 en las heces de un sujeto infectado experimentalmente fue descrito el virus de la hepatitis A (VHA) por Purcell et al. La hepatitis delta fue descrita por primera vez por Rizzetto et al., en 1977 como la presentación de un complejo antígeno-anticuerpo estrechamente relacionado a la presencia de virus de la hepatitis B. En 1983 la determinación serológica del virus de la hepatitis E permitió identificar las hepatitis virales de brotes asociados a transmisión entérica que años atrás eran nombrados como epidemia no A y no B (Blum, 2016).

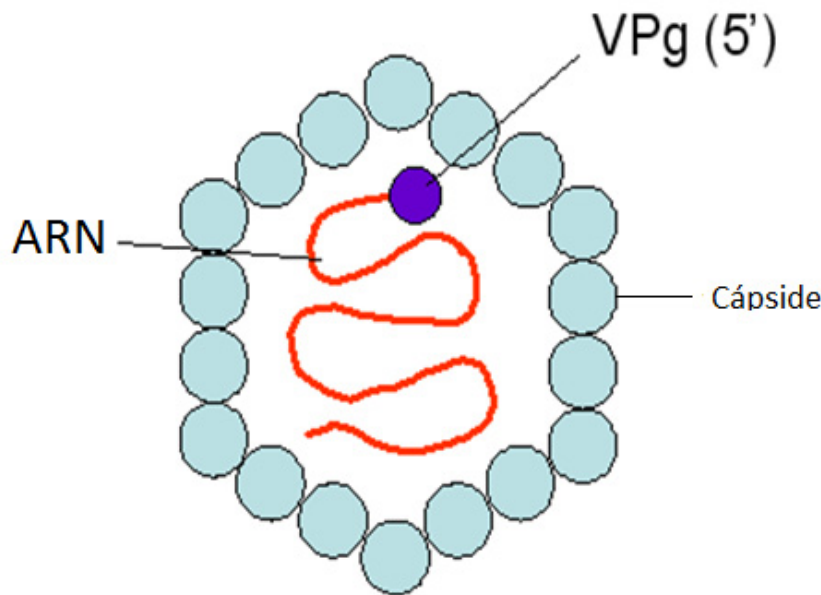
1.1 Agente Etiológico

1.1 Virus de la Hepatitis A

El virus de la hepatitis A (VHA) pertenece a la familia Picornaviridae. Es un virus desnudo que posee un ARN positivo monocatenario de 7,5 Kb de longitud, marco de lectura único (largo y abierto), el cual codifica una poliproteína, que incluye proteínas estructurales de 27 a 28 nm de diámetro para la cápside; proteínas no estructurales con actividades de proteasa o polimerasa y otras proteínas cuya función no se ha dilucidado (Figura 1).

Se ha determinado solo un serotipo del VHA y siete (7) genotipos con una distribución geográfica única. Cuatro (4) genotipos se encuentran asociados a infecciones de humanos (I, II, III, IV). La inmunidad resultante de la infección por VHA es de por vida y a diferencia de la infección con los virus de la hepatitis B y C, la infección por VHA no produce infección ni enfermedad hepática de tipo crónico (Collier, 2018).

Figura 1: Virus de la Hepatitis A



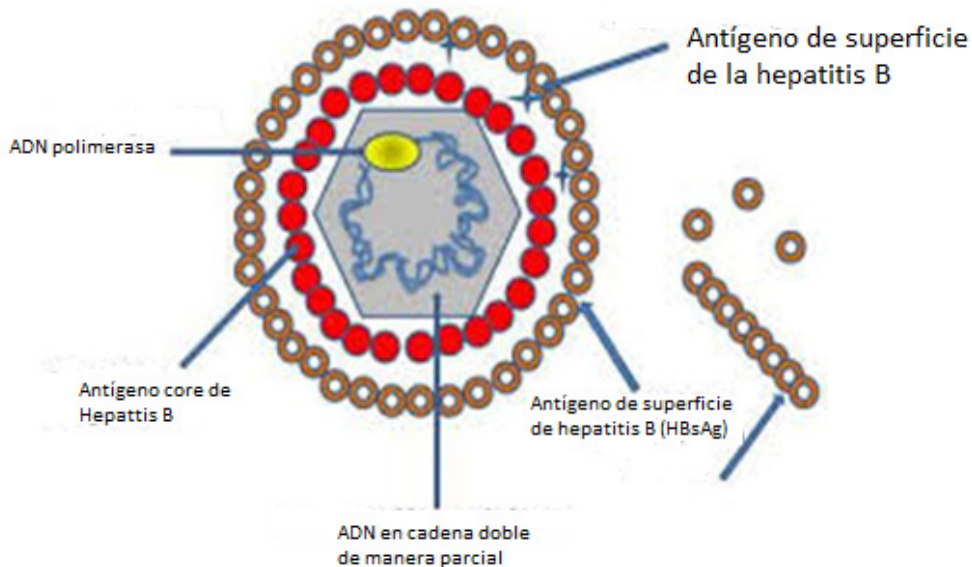
Fuente: Tomado y adaptado de <http://www.microbiologybook.org/Spanish-Virology/spanish-chapter18.htm>

1.1.2 Virus de la Hepatitis B

El Virus de la hepatitis B (VHB) pertenece a la familia Hepadnaviridae. Los viriones de VHB tienen un tamaño de 42 nm de diámetro con una envoltura de lipoproteína externa derivada de la célula del huésped, la cual contiene una proteína llamada antígeno de superficie (HBsAg). Al interior de la envoltura se encuentra la nucleocápside, estructura icosaédrica de 240 subunidades de proteínas del núcleo (HBcAg). La nucleocápside alberga la proteína X o polimerasa y el genoma viral compuesto por ADN de dos cadenas, una completa y otra incompleta de 3,2 Kb de longitud aproximadamente (Figura 2).

El VHB contiene un antígeno E (HBeAg) soluble producido a partir del marco de lectura abierto del HBcAg, el cual se comporta como marcador de replicación viral activa. El antígeno de superficie (HBsAg) y la nucleocápside HBcAg, son proteínas altamente inmunogénicas empleadas como marcador serológico. El VHB presenta una tasa de mutación de 1,4 a 3,2 x 10⁻⁵ sustituciones por sitio por año, la cual es 100 veces más alta que otros virus ADN. Actualmente se conocen 10 genotipos diferentes de VHB nombrados de la "A" a la "J". Estos genotipos tienen una distribución característica, están relacionados con la progresión, pronóstico clínico y respuesta al tratamiento (San Miguel, 2018).

Figura 2: Virus de la hepatitis B



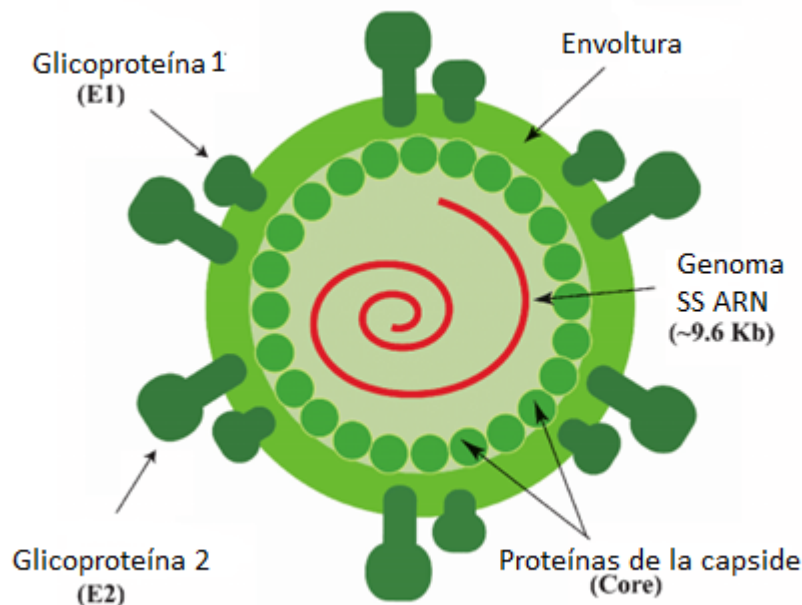
Fuente: Tomado y adaptado de <https://conocimientosweb.org/patogenesis-de-la-hepatitis-b/>

1.1.3 Virus de la Hepatitis C

El virus de la hepatitis C (VHC), pertenece a la familia Flaviviridae. Es un virus envuelto de 30 a 38 nm de diámetro, su genoma es de ARN positivo monocatenario con un tamaño aproximado de 9,6 Kb y un marco abierto de lectura único que codifica para una poliproteína que a través de proteasas celulares se escinde para formar las glucoproteínas estructurales del núcleo y de la envoltura (E1 y E2); y proteínas no estructurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) (Figura 3).

Actualmente se conocen 6 genotipos de VHC, los cuales se dividen en subtipos nombrados con letras (ejemplo a, b, c) y cuasi-especies. Al igual que el virus de la hepatitis B su patogenicidad y tratamiento se ven comprometidos según el genotipo (Ghasemi, 2018).

Figura 3: Virus de la Hepatitis C



Fuente: Tomado y adaptado de https://www.researchgate.net/figure/Hepatitis-C-virus-particle-structure-The-HCV-core-protein-interacts-with-viral-genomic_fig1_41486608

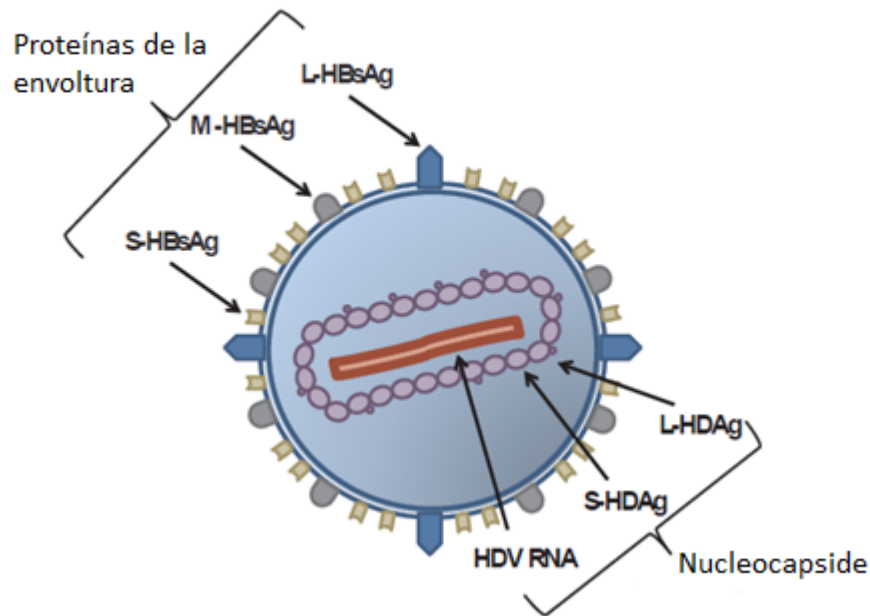
1.1.4 Virus de la Hepatitis D

El virus de la hepatitis D (VHD), pertenece al género deltavirus, es un virus esférico envuelto con un diámetro de 36 nm, al interior, su cápside es esférica y está compuesta por una proteína inmunogénica llamada HDAG, su genoma se constituye de ARN monocatenario circular con un tamaño de 1700 nt., se considera una partícula subviral, por no codificar su propia glicoproteína de envoltura. Esta partícula subviral requiere del VHB para producir partículas virales infectantes sin que ello implique algún grado de dependencia para replicarse, Figura 4.

Se han descrito 11 genotipos: el genotipo 1,2 y 3 se encuentran en todo el mundo. Los subtipos más comunes son el 1a y 1b y representan aproximadamente del 60% al 70% de las infecciones mundiales. El tipo 1a se encuentra principalmente en Norteamérica, Sudamérica, Europa y Australia. El tipo 1b se encuentra en Norteamérica, Europa y en partes de Asia. El genotipo 2 ocurre en la mayoría de los países desarrollados. El genotipo 3 es común en el sudeste asiático pero también se encuentra en otros países. El genotipo 4 se encuentra principalmente en el medio

oriente, Egipto y en África central. El tipo 5 se encuentra en agrupaciones locales alrededor del mundo, lo que en general resulta en un pequeño número de individuos infectados, y los genotipos 6 a 11 ocurren en Asia (InfoRed ,2014).

Figura 4: Virus de la Hepatitis D



Fuente: Tomado y adaptado de <https://www.intechopen.com/books/drug-discovery-and-development-from-molecules-to-medicine/current-management-and-novel-therapeutic-strategies-to-combat-chronic-delta-hepatitis>.

1.1.5 Virus de la Hepatitis E

El virus de la hepatitis E pertenece a la familia Hepeviridae. El genoma del VHE es una molécula de ARN monocatenaria de sentido positivo con un tamaño aproximado de 7,2 Kb y consta de tres marcos de lectura abiertos (ORF). El ORF1, codifica proteínas no estructurales que funcionan como metiltransferasa, helicasa, ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) y una cisteína similar a la papainaproteasa; el ORF2, codifica para la proteína inmunogénica de la cápside y el ORF3, codifica para una pequeña fosfoproteína con funciones incompletas que juega un papel importante durante la replicación y el ensamblaje viral. Actualmente circulan siete (7) genotipos de hepatitis E en donde, el 1 y 2 causan brotes en humanos con agua contaminada y el 3 y 4 son zoonóticos por carne contaminada.

1.2 Modo de transmisión

Tabla 1. Vías de transmisión de los virus de la hepatitis

Tipo de Virus	Vía de Transmisión
VHA	Oro-fecal
VHB	<ul style="list-style-type: none"> • Sexual • Parenteral: transfusión de hemocomponentes, uso de drogas intravenosas, diálisis • Vertical (madre a hijo) • Horizontal (contacto familiar) • Nosocomial en hospitales y centros sanitarios • Trasplante de órganos
VHD	<ul style="list-style-type: none"> • Sexual • Parenteral: transfusión de hemocomponentes infectados, uso de drogas intravenosas, diálisis. • Vertical (madre a hijo) • Horizontal (contacto familiar) • Nosocomial en hospitales y centros sanitarios • Trasplante de órganos
VHC	<ul style="list-style-type: none"> • Sexual • Parenteral: transfusión de hemocomponentes infectados, uso de drogas intravenosas, diálisis. • Percutánea por tatuajes o perforaciones • Vertical (madre a hijo) • Nosocomial en hospitales y centros sanitarios • Trasplante de órganos
VHE	<ul style="list-style-type: none"> • Oro-fecal • Transmisión alimentaria por ingestión de productos derivados de animales infectados • Transfusión de hemocomponentes infectados • Transmisión vertical (madre-hijo)

1.3 Prevención

- Medidas sanitarias para evitar el contagio de hepatitis A y E:
 - * Potabilización del agua
 - * Lavado de manos después de ir al baño
 - * Lavar los alimentos con agua potable antes de ser consumidos

- Cumplir con esquemas y promover la vacunación contra el VHA y el VHB en población de riesgo (cuidadores en guarderías y profesionales de la salud).
- Ofrecer seguridad en las transfusiones de sangre y trasplantes, realizando el cribado de VHB y VHC en los donantes.
- Promover el uso de preservativos.
- Exigir el uso de dispositivos desechables y/o estériles en establecimientos que prestan servicios invasivos como la realización de tatuajes y piercing.

2. DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO

2.1 Bioseguridad

El procesamiento de muestras para detección serológica y molecular de las hepatitis, se debe realizar teniendo en cuenta las recomendaciones y requisitos establecidos en el nivel de bioseguridad 2 y la norma de la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA), considerando el desconocimiento de la naturaleza infecciosa de las muestras a analizar (CDC-INH, 2004; WHO, 2016).

Cada institución debe establecer un lineamiento que garantice las medidas necesarias de protección personal; manejo de material contaminado, material corto-punzante; disposición final de residuos biológicos y químicos; transporte seguro de muestras biológicas; disponer de infraestructura y capacitación del talento humano para la manipulación y análisis de las muestras. Con relación a las normas de bioseguridad se pueden consultar los siguientes documentos técnicos entre otros:

- Manual de bioseguridad en el laboratorio de la OMS
- Bioseguridad en laboratorios de microbiología y biomedicina del CDC e INH.
- Manual de gestión integral de residuos y gestión de salud ocupacional.
- Todos los documentos sugeridos para cumplir con el reglamento ambiental y sanitario para la gestión integral de residuos generados para la atención en salud en Colombia del Decreto 351 del 19 de febrero de 2014

2.2 Toma de muestras

El aseguramiento de la calidad durante la fase pre-analítica, minimiza el riesgo de impactar la confiabilidad de los resultados, por lo que cada institución debe elaborar instructivos que garanticen un proceso estandarizado, teniendo en cuenta el tipo de muestra, técnicas de punción venosa y capilar estándar, recolección de materia fecal o de tejidos; tipo de dispositivos a usar (sistema cerrado o abierto, tubos secos, con gel o con anticoagulante), frascos estériles o limpios; tipo de paciente (ej: pediátrico o adulto).

2.3 Tipo de muestra, conservación, almacenamiento y transporte

Para la vigilancia por laboratorio de las hepatitis virales se pueden usar diferentes muestras o matrices como plasma, suero, sangre total, o tejidos. La elección de la muestra está supeditada a la selección del método de ensayo cuya sensibilidad y especificidad ha sido demostrada en matrices específicas. Las muestras se deben recolectar, analizar y conservar según los criterios descritos en la tabla 2.

Tabla 2. Tipos de muestras o matrices para la vigilancia de las hepatitis virales Tipo de muestra o matriz	Método de obtención	Condiciones de Conservación	Técnicas o Métodos de laboratorio	Ventajas y desventajas
Suero	La sangre total se extrae por venopunción en tubos sin anticoagulante, el suero es la fase líquida del tejido sanguíneo el cual se obtiene por centrifugación quedando el paquete celular (Glóbulos rojos y blancos)	Separe el suero y plasma del contenido celular en el menor tiempo posible. Evite congelar y descongelar las muestras repetidamente. Si se requiere hacer más de una prueba, realice alícuotas de la muestra en viales. Estable hasta por 5 días en refrigeración (2°C a 8°C) para detección de anticuerpos y antígenos. Estable para detección de	Inmunoensayos: ELISA ELFA Quimioluminiscencia Prueba rápida Genotipificación	Ventajas Suero/plasma <ul style="list-style-type: none"> • Mayor concentración de antígenos y/o anticuerpos que otros líquidos corporales. • Tienen potencial de pruebas adicionales de rutina con una sola muestra. • Son fáciles de recoger y probar en entornos clínicos con un flebotomista entrenado. Desventajas del suero/plasma

<p>Plasma</p>	<p>La sangre total se extrae por venopunción en tubos con anticoagulante EDTA, citrato o heparina, el plasma es la fase líquida del tejido sanguíneo el cual se obtiene por centrifugación quedando el paquete celular (Glóbulos rojos y blancos)</p>	<p>genoma viral hasta por 36 horas en refrigeración (2°C a 8°C).</p> <p>Mantener a (-20°C) o temperaturas inferiores si su análisis es después del tiempo de estabilidad a temperatura de refrigeración.</p> <p>Para carga viral o pruebas moleculares. Mantener a (-70°C) si su análisis es después de 3 meses</p> <p>Las muestras frescas pueden someterse a la prueba inmediatamente.</p>	<p>Inmunoensayos: ELISA ELFA Quimioluminiscencia Prueba rápida</p> <p>Carga viral</p> <p>Genotipificación</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Requieren una técnica invasiva de recolección, que implica tener personal entrenado para la toma y procesamiento. • Son difíciles de recolectar en situaciones no clínicas. • Implican mayor riesgo para los trabajadores de la salud y el personal a través de la exposición accidental debido a las concentraciones del virus y el uso de dispositivos de recolección.
<p>Sangre total</p>	<p>Se obtiene por punción capilar o venopunción en tubos con anticoagulante EDTA y Citrato de sodio. Es de uso inmediato.</p> <p>Para su conservación por periodos prolongados se recomienda el uso de papel filtro</p>	<p>Mantener a temperatura ambiente por 2 horas</p> <p>Mantener en refrigeración (2°C a 8°C) por 6 horas</p> <p>No congelar</p>	<p>Inmunoensayos: Prueba rápida</p> <p>Genotipificación</p>	<p>Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Es fácil de recoger y probar en entornos clínicos (con flebotomista entrenado, si es venoso). • Es fácil de recolectar en lugares no clínicos (si es por punción capilar) <p>Desventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Requiere una técnica invasiva de recolección que implica tener personal entrenado para la toma de las muestras
<p>Materia fecal</p>	<p>En un frasco recolector hermético, limpio. No requiere estar estéril). Recoger con una espátula limpia o una cucharilla de plástico de una cantidad de 1 o 2 g aproximadamente, cuando es de consistencia pastosa o 10 mL cuando es líquida</p>	<p>Evite congelar y descongelar las muestras repetidamente. Si se requiere hacer más de una prueba, realice alícuotas de la muestra en viales.</p> <p>Mantener en refrigeración (2°C a 8°C) hasta por 3 días.</p> <p>Mantener a (-20°C) o Temperaturas inferiores por tiempo superior a 5 días estable de 1 a 3 meses.</p> <p>Mantener a (-70°C) si su análisis es después de 3 meses</p>	<p>RT- PCR</p> <p>Genotipificación</p>	<p>Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • No requiere el uso de materiales cortopunzantes. • Es fácil de recoger en entornos no clínicos. • Contiene concentraciones altas de carga viral durante la fase aguda de la enfermedad. <p>Desventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • La concentración de carga viral disminuye con la producción de anticuerpos. • No se puede utilizar para

		Las muestras frescas pueden someterse a la prueba inmediatamente. Para materia fecal previamente congelada, descongele completamente y mezcle cuidadosamente		realizar pruebas adicionales para estudios especiales.
Tejidos	Fragmentos de hígado Deben ser recolectados en un frasco de boca ancha estéril con solución salina 0.85%	Evite congelar y descongelar las muestras repetidamente. Si necesita ejecutar pruebas posteriormente efectúe alícuotas de la muestra en viales. Mantener en refrigeración (2°C a 8°C) por 1 día. Mantener a (-20°C) o Temperaturas inferiores por tiempo superior a 1 días estable de 1 a 3 meses. Mantener a (-70°C) si su análisis es después de 3 meses Las muestras frescas pueden someterse a prueba inmediatamente.	PCR Genotipificación.	Ventajas Permite definir infección con hepatitis virales en muestras post-mortem.

Fuente: Adaptado de *Guidelines on hepatitis b and c testing*.
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254621/9789241549981-eng.pdf;jsessionid=C1C46955B410965717687D60E546D484?sequence=1> (WHO,2017)

Para las condiciones de embalaje y transporte de las muestras consulte el Manual de procedimientos para la toma, conservación y envío de muestras para análisis al laboratorio nacional de referencia del Instituto Nacional de salud, consultando el siguiente link;

https://www.ins.gov.co/Direcciones/RedesSaludPublica/DocumentosdeInteresSRNL/Manual_toma_envio_muestras_INS-2019.pdf; o pueden consultar en la página web del INS, siguiendo la ruta: Direcciones/Dirección Redes en Salud Pública/Documentos de interés/documentos técnicos/Manual_toma_envio_muestras_INS-2019.

2.4. Documentación requerida

La documentación requerida en el envío de muestras para la realización de pruebas de diagnóstico para hepatitis virales varía según, el servicio requerido (diagnóstico y referencia o control de calidad) y la entidad a la cual es remitida la muestra para análisis (Tabla 3).

Tabla 3. Documentación mínima requerida para el análisis de Hepatitis virales

Servicio solicitado	Entidad receptora	Documento
Referencia (estudio de brotes y conglomerados)	Laboratorios de salud pública Instituto Nacional de salud	<ol style="list-style-type: none"> 1. Carta de solicitud de análisis 2. Historia clínica del paciente. 3. Resultado de pruebas realizadas previamente en donde se incluya: <ul style="list-style-type: none"> • Nombres, apellidos e identificación del paciente. • Tipo de muestra (especificar si es plasma o suero) • Fecha de toma de muestra. • Temperatura en la que ha sido conservada la muestra. • Nombre del estuche empleado. • Resultado cualitativo y/o cuantitativo (si aplica)
Control de Calidad Programa de evaluación externa del desempeño indirecto (PEEDI)	Laboratorios de salud pública. Instituto Nacional de salud.	<ul style="list-style-type: none"> • Formato de remisión de muestras con los siguientes ítems: • Código del laboratorio correspondiente a la red. • Nombre del laboratorio remitente. • Fecha de envío de muestras. • Tipo de muestra (especificar si es suero o plasma, en el caso de ser plasma que anticoagulante se usó) • Fecha de toma de cada una de las muestras • Fecha de cohorte de recolección de las muestras. • Temperatura de conservación en la IPS y en el LSP. • Técnicas empleadas por el LSP. • Nombre del estuche, lote, fecha de vencimiento y generación. • Datos de la muestra, código, resultado cuantitativo (cuando aplique), punto de corte e interpretación. • Nombre del profesional a cargo del procesamiento de las muestras.

2.5. Métodos de Laboratorio empleados para el diagnóstico del agente etiológico

Los ensayos para el diagnóstico de las hepatitis virales tienen diferentes criterios de clasificación:

2.5.1 Según el marcador que detecta

- **Ensayos serológicos:** detección de antígenos y/o anticuerpos dirigidos contra proteínas virales.

- **Ensayos moleculares:** se basan en la detección de un fragmento del ARN genómico viral para el caso del VHA, VHC, VHD y VHE y detección de ADN viral para el caso del VHB. Estos ensayos pueden ser cualitativos (detección o genotipificación) y cuantitativos (carga viral).

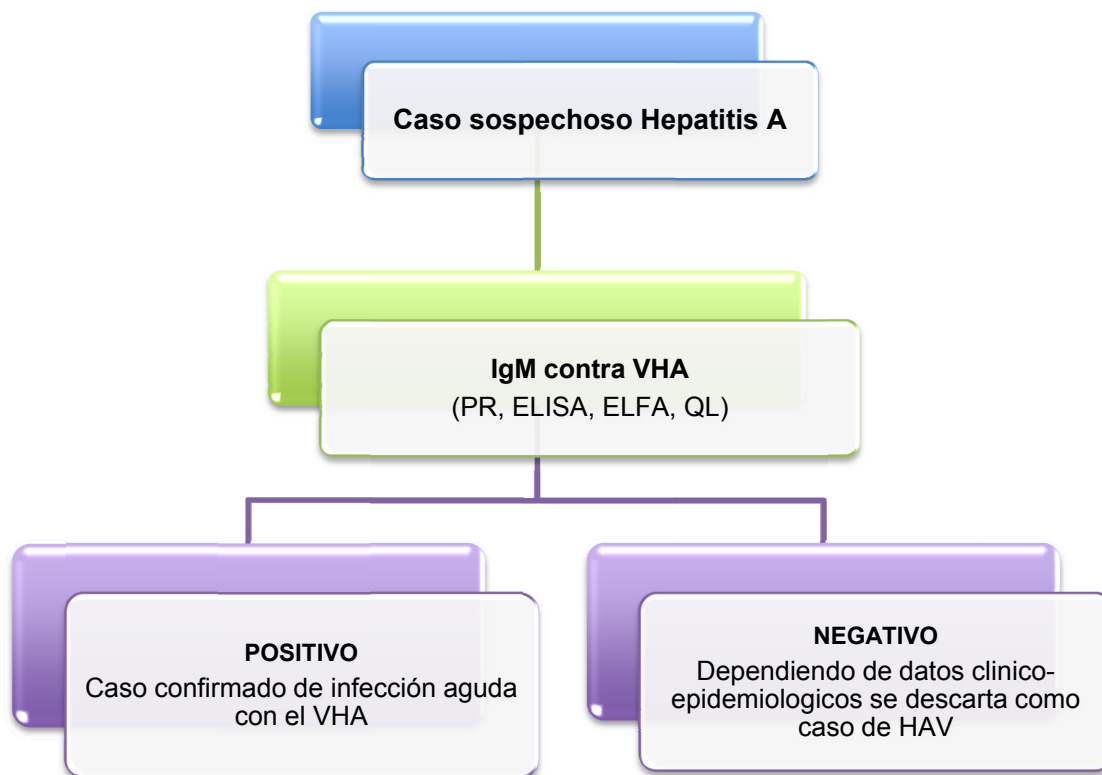
2.5.2 Según el formato o plataforma empleada

Los ensayos inmunoenzimáticos (EIA) se caracterizan por usar reacciones de antígeno y anticuerpos ligados a enzimas o marcadores, que en contacto con el sustrato o sustancia específica permite evidenciar la presencia de anticuerpos humanos, proteínas o antígenos de los virus de las hepatitis. Los principales formatos son:

- **Pruebas rápidas (PR):** son técnicas que permiten el análisis de muestras de manera individual y en un tiempo promedio de 10 a 20 minutos. Por la “simplicidad” en su montaje el formato más utilizado es la **inmuncromatografía**; Es una metodología cualitativa, de una reacción enzima-sustrato la cual se evidencia por la aparición de una línea sobre una membrana de nitrocelulosa.
- **Ensayo de inmuoabsorción ligado a enzima (ELISA):** Son ensayos que permiten el procesamiento simultáneo de varias muestras. La reacción enzimática permite un cambio de color cuya lectura se realiza determinando la absorbancia de la muestra comparada frente a un blanco de reactivo. Con este formato se obtienen resultados cuali-cuantitativos.
- **Inmunoensayo de fluorescencia ligado a enzima (ELFA):** Son ensayos que permiten el procesamiento simultáneo de varias muestras. La reacción enzimática-sustrato se revela a través de la emisión de fluorescencia. Con este formato se obtienen resultados cuali-cuantitativos.
- **Quimioluminiscencia (QL):** Son ensayos que permiten el procesamiento simultáneo de varias muestras. La utilización enzimas y sustratos que producen reacciones de tipo oxidativo permiten la emisión de luminiscencia. Con este formato se obtienen resultados de tipo cuali-cuantitativo.

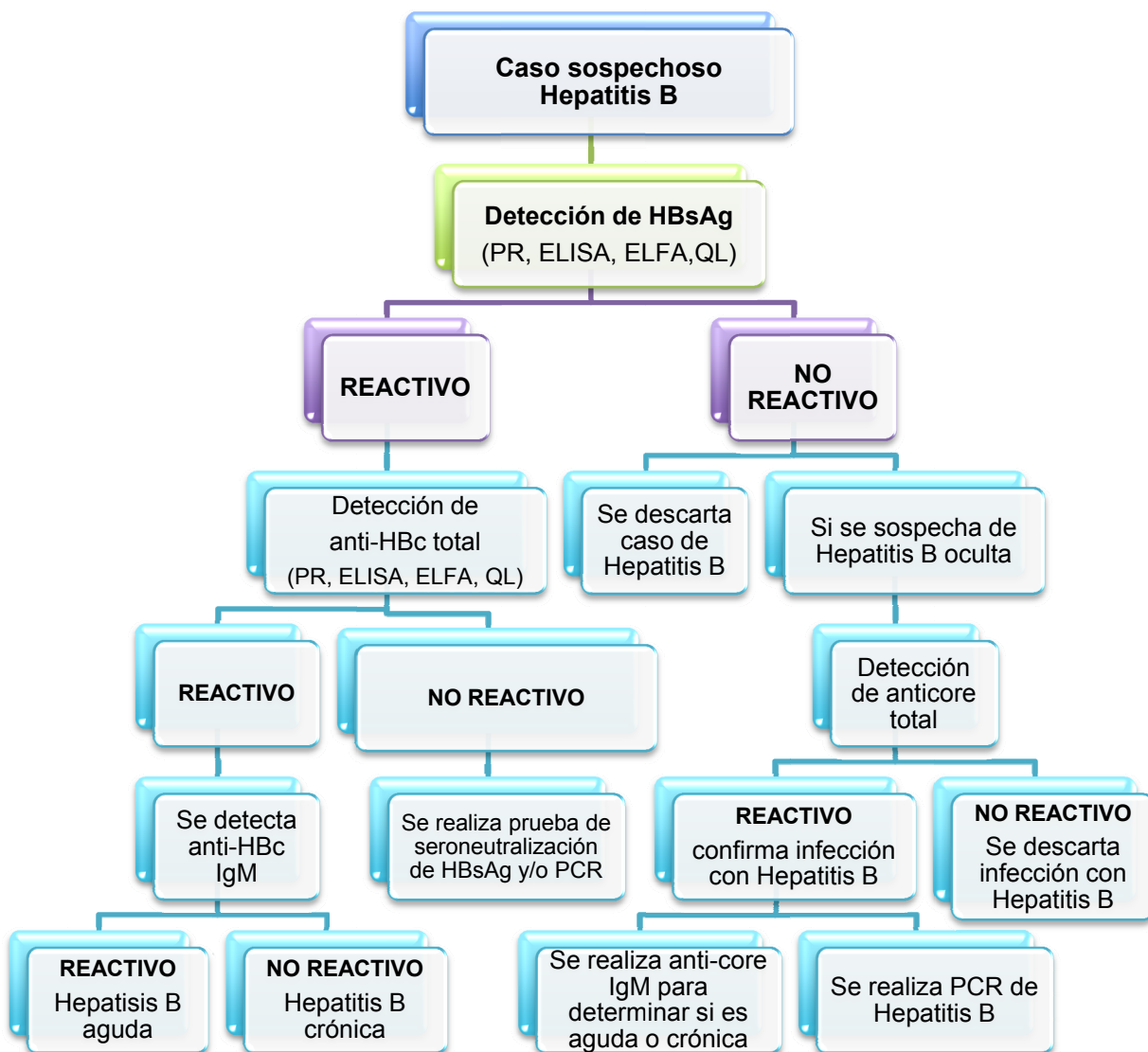
Las Figuras 5 a la 8, muestran los flujogramas para el diagnóstico de hepatitis virales.

Figura 5. Diagnóstico Hepatitis A



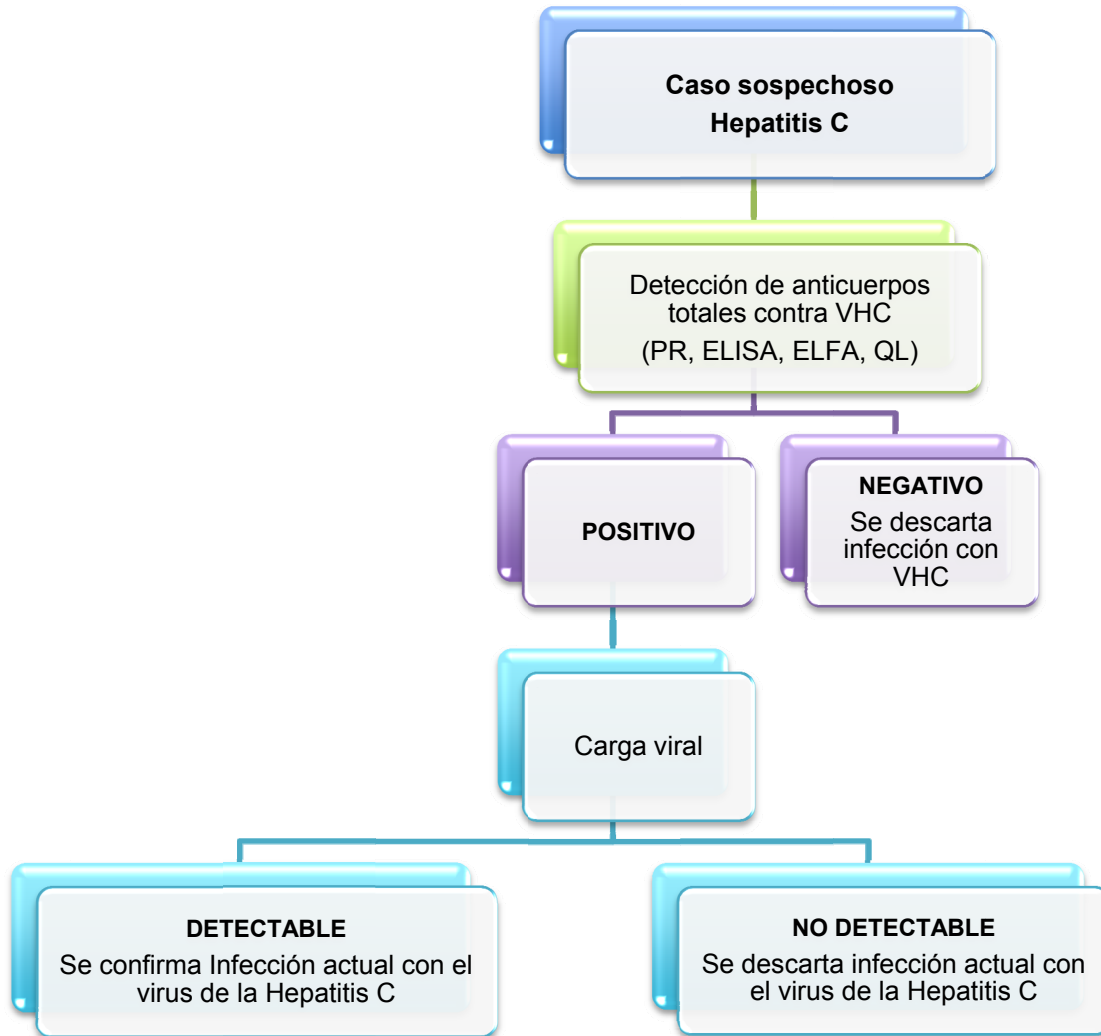
Fuente. Adaptado de: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia50.pdf>

Figura 6. Diagnóstico Hepatitis B



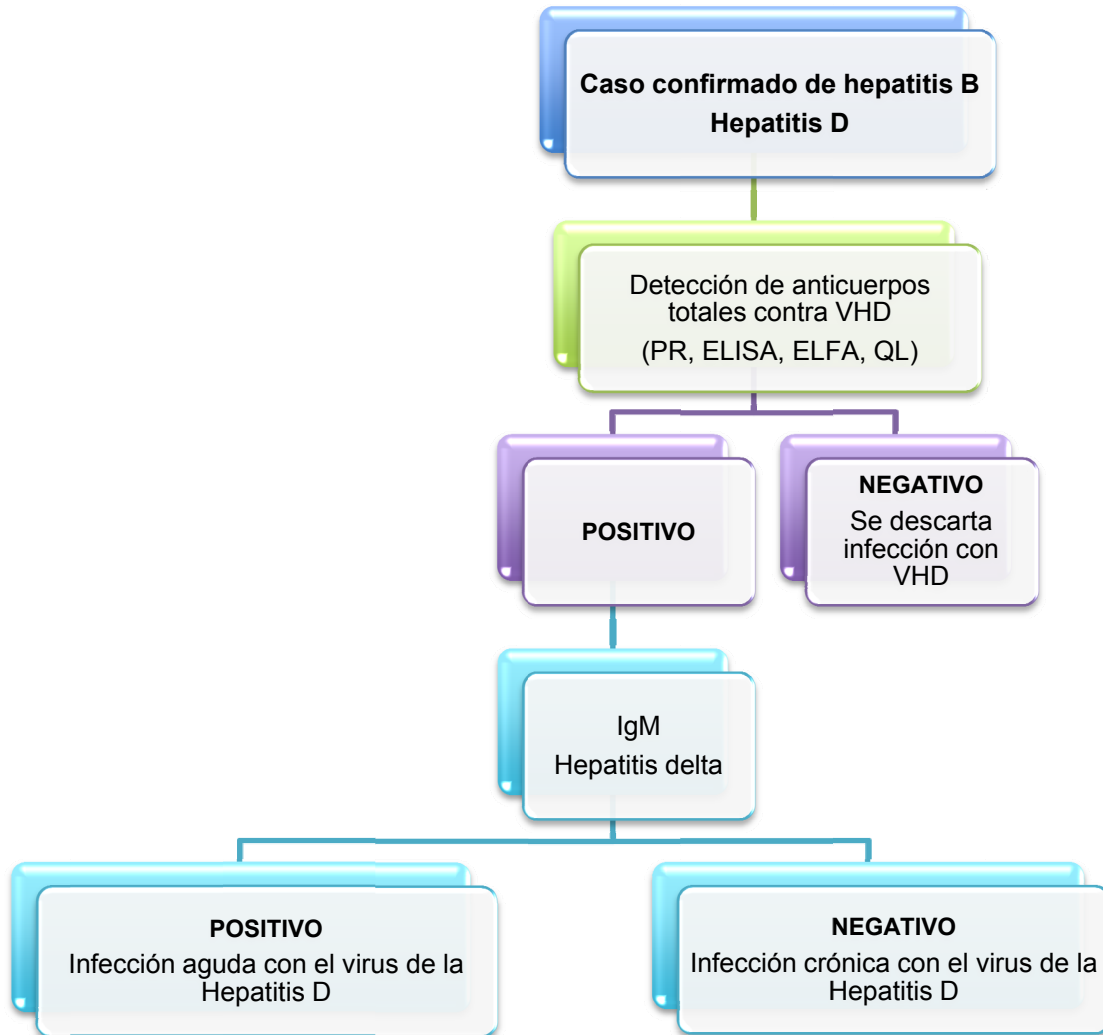
Fuente. Adaptado de: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia50.pdf>

Figura 7. Diagnóstico Hepatitis C



Fuente: adaptado de https://www.cdc.gov/hepatitis/hcv/pdfs/HepCTesting-Diagnosis_sp.pdf

Figura 8. Diagnóstico Hepatitis D



Fuente: adaptado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-d>

3. CONTROL DE CALIDAD:

3.1. Supervisión del control de calidad

El Instituto Nacional de Salud verificará la implementación de controles de calidad internos en los LSP y su participación en controles de calidad externo (ensayos de aptitud o interlaboratorios). A su vez los LSP supervisaran que los laboratorios de su red cumplan con los requisitos mencionados anteriormente.

3.2. Programa de Evaluación Externa del Desempeño Indirecto - PEEDI

Evalúa el uso rutinario de los ensayos serológicos que se usan para el diagnóstico de las hepatitis virales dentro y fuera de los laboratorios. El Grupo de Virología, cada año envía un cronograma y un instructivo con la frecuencia y número de muestras que debe enviar cada LSP al INS. Los LSP, deben evaluar a los laboratorios que hacen parte de su red y comparten la responsabilidad con las IPS de evaluar a sus laboratorios.

4. VIGILANCIA POR LABORATORIO DE LAS HEPATITIS VIRALES

La vigilancia de las hepatitis virales consiste en identificar y describir su circulación mediante variables relacionadas con sus características genotípicas y los lugares donde circula, con el fin de suministrar información que permita orientar las acciones de prevención.

De igual manera se definirán indicadores que permitirán resumir estos aspectos y realizar su publicación en forma periódica, a través de informes técnicos, así como en la construcción de repositorios institucionales donde fácilmente se puedan obtener los microdatos y permitir su uso por parte de la comunidad científica, médica, académica y administrativa del sistema de salud y el público en general.

5. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS PARA LAS HEPATITIS VIRALES

5.1 Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud (IPS), Laboratorios clínicos del sector público y privado

- Garantizar la realización de las pruebas de laboratorio y asegurar que se realice la respectiva notificación al SIVIGILA cuando el diagnóstico esté confirmado.
- Garantizar la calidad en todos los procesos analíticos para la emisión de resultados confiables y con calidad.
- Mantener una base de datos actualizada con las muestras recibidas por municipios y los resultados luego del procesamiento de las mismas.
- Participar en los programas de control de calidad que realiza el laboratorio de salud pública de su entidad territorial.

5.2 Laboratorios de Salud Pública

- Realizar el control de calidad pertinente a los laboratorios de diagnóstico en su jurisdicción y realizar un informe de retroalimentación con los resultados a los laboratorios evaluados.
- Participar en el programa de control de calidad que realiza el grupo de virología de la Dirección de Redes en Salud pública, del Instituto Nacional de Salud.
- Realizar capacitaciones y asesoría técnica a los profesionales de la salud de los municipios (médicos, enfermeros, bacteriólogos) en lo relacionado con el diagnóstico de hepatitis virales (toma de muestras, tipo de pruebas, condiciones para el transporte y conservación, realización de pruebas y emisión de informes).
- Mantener una base de datos actualizada con las muestras recibidas por municipios y los resultados luego del procesamiento de las mismas.
- Retroalimentar los resultados del control de calidad a las IPS para que ellos apliquen las acciones necesarias de mejora continua y de búsqueda de pacientes en el caso de encontrar resultados no concordantes.

5.3 Instituto Nacional de Salud

- Realizar supervisión y control de calidad indirecto a los Laboratorios Departamentales y distritales de Salud Pública en pruebas serológicas de tamizaje y confirmatorias para la detección de hepatitis virales.
- Servir como laboratorio de referencia en caso de brotes y estudios epidemiológicos.
- Proponer y participar en estudios que aporten a la vigilancia de hepatitis virales en Colombia.
- Brindar asistencia técnica según su competencia, a los departamentos y distritos en caso de ser requerido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blum, H. E. (2016). History and Global Burden of Viral Hepatitis. *Dig Dis*, 34(4), 293-302. doi:10.1159/000444466
- CDC-INH. (2004). *Bioseguridad en laboratorios de microbiología y biomedicina*. Retrieved from http://www.uib.cat/digitalAssets/195/195210_cdc_bmbi_4.pdf.
- WHO. (2017). *Guidelines on hepatitis b and c testing*. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254621/9789241549981-eng.pdf;jsessionid=C1C46955B410965717687D60E546D484?sequence=1>.
- Collier, M., Nelson, N. (2018). 237-Hepatitis A Virus. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases, Fifth Edition* 1214-1219.
- Ghasemi, F., Mobarhan, M., Gouklani, H., Meshkat, Z. (2018). Development of Preventive Vaccines for Hepatitis C Virus E1/E2 Protein. *Iranian Journal of Pathology*, 13-2, 113-124.
- InfoRedSIDA (2014). Los Genotipos de Hepatitis C. http://www.aidsinfonet.org/fact_sheets/view/674?lang=spa.
- Modahl, L. E., & Lai, M. M. (2000). Hepatitis delta virus: the molecular basis of laboratory diagnosis. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 37(1), 45-92. doi:10.1080/10408360091174178
- San Miguel, A., De La Fuente, P., Sánchez, M., Rodríguez M., Pachón J., Pastor, R., Cabrero, P. (2018). Variantes o mutaciones del virus de la hepatitis B. *Gac Med Bilbao*, 115, 96-103.
- WHO. (2016). *Estrategia mundial del sector de la salud contra el VIH 2016–2021 hacia el fin del SIDA*. Retrieved from <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250574/1/WHO-HIV-2016.05-spa.pdf?ua=1>