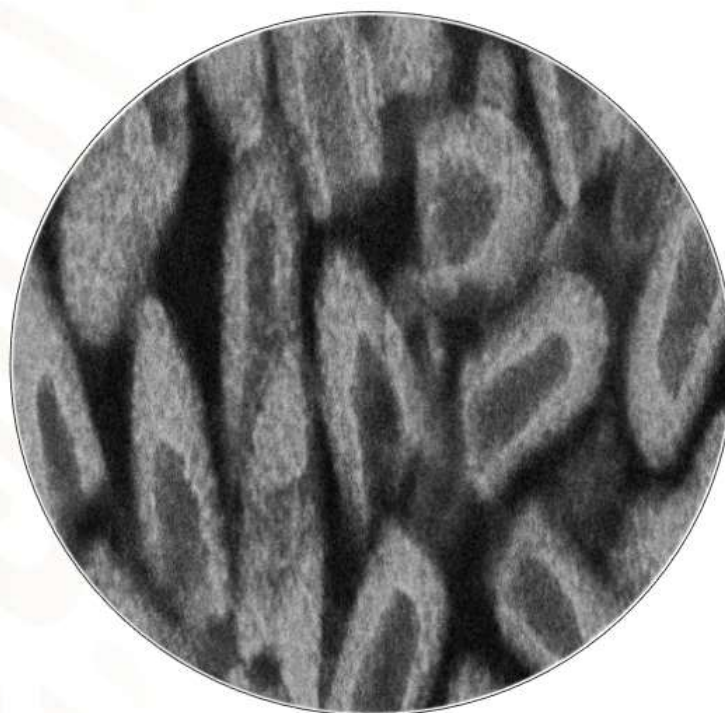




SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud
Dirección General de Epidemiología

Lineamientos para la Vigilancia por Laboratorio de la Rabia

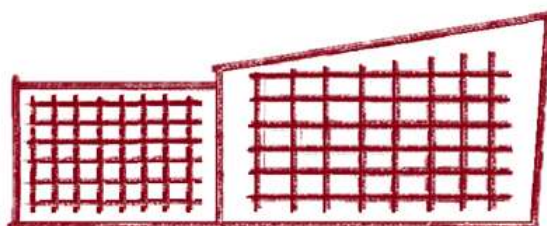


80
AÑOS
1939 - 2019

Siendo Referencia Nacional en Salud Pública

INDRE

InDRE



Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
"Dr. Manuel Martínez Báez"

LINEAMIENTOS PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE LA RABIA

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos

“Dr. Manuel Martínez Báez”

2017

PRIMERA EDICIÓN. 2017

INDRE

ESTE DOCUMENTO FUE AVALADO POR LOS REPRESENTANTES DE LAS INSTITUCIONES QUE CONFORMAN EL GRUPO TÉCNICO INTERINSTITUCIONAL DEL COMITÉ NACIONAL PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA (CoNAVE).

TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS CONFORME A LA LEY

© INDRE-SECRETARÍA DE SALUD

SE PERMITE LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL SI SE CITA LA FUENTE: "INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS "DR. MANUEL MARTÍNEZ BÁEZ". LINEAMIENTOS PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE LA RABIA, INDRE. MÉXICO: SECRETARÍA DE SALUD; 2017"

COLECCIÓN PUBLICACIONES TÉCNICAS DEL INDRE

INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS "DR. MANUEL MARTÍNEZ BÁEZ"
FRANCISCO P MIRANDA 177, COL. LOMAS DE PLATEROS, D. T. ÁLVARO OBREGÓN, C. P. 01480,
CIUDAD DE MÉXICO.

LA EDICIÓN ESTUVO A CARGO DE: DR. JOSÉ ALBERTO DÍAZ QUIÑÓNEZ

EL DISEÑO ESTUVO A CARGO DE: DR. JUAN FRANCISCO ROMÁN PEDROZA.

IMPRESO EN MÉXICO. *PRINTED IN MEXICO*

PARA DUDAS SOBRE EL CONTENIDO DE ESTE LINEAMIENTO PONERSE EN CONTACTO CON LA COORDINACIÓN DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE LA RABIA A TRAVÉS DEL CORREO: nidia.arechiga@salud.gob.mx y juan.roman@salud.gob.mx CON EL ASUNTO: REVISIÓN DE LINEAMIENTOS

SECRETARÍA DE SALUD

Dr. Jorge Alcocer Varela

SECRETARIO DE SALUD

Dra. Asa Cristina Laurell

SUBSECRETARIA DE INTEGRACIÓN Y DESARROLLO DEL SECTOR SALUD

Dr. Hugo López-Gatell Ramírez

SUBSECRETARIO DE PREVENCIÓN Y PROMOCIÓN DE LA SALUD

Dr. José Luis Alomía Zegarra

DIRECTOR GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA

INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS
"DR. MANUEL MARTÍNEZ BÁEZ"
INDRE

Biól. Irma López Martínez

DIRECTORA DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA

Mtra. Lucía Hernández Rivas

DIRECTORA DE SERVICIOS Y APOYO TÉCNICO

Lic. Adriana Castro Cabrera

SUBDIRECTORA DE OPERACIÓN

Biól. Norma Angélica Montes Colima

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA

Mtra. Dalia Viviana Vallejo Jauffred

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y VALIDACIÓN DE TÉCNICAS

Mtra. Judith Estévez Ramírez

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE MUESTRAS Y SERVICIOS

Mtro. Hiram Olivera Díaz

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ENFERMEDADES EMERGENTES Y URGENCIAS

Dra. Clara Gorodezky Lauferman

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA

Mtra. Mónica Salas García

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA

Dra. Gabriela Meneses Ruiz

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

GRUPO DE TRABAJO

D. EN C. NIDIA GUADALUPE ARÉCHIGA CEBALLOS

ENCARGADA DEL LABORATORIO DE RABIA

COORDINADORA DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA
VIGILANCIA DE LA RABIA

IBT. SUSANA CHÁVEZ LÓPEZ

T.L. MAURICIO GÓMEZ SIERRA

T.L. ALBERT SANDOVAL BORJA

LABORATORIO DE RABIA

AGRADECIMIENTOS:

PERSONAL DEL LABORATORIO

Beatriz Escamilla Ríos

David Martínez Solís

Israel Animas Vargas

Martín Melo Munguía

Rita Iliana Terán Toledo

CONTENIDO

CONTENIDO	8
INTRODUCCIÓN	10
ANTECEDENTES	11
Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública	11
Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Rabia	12
MARCO LEGAL	14
DEFINICIONES OPERACIONALES	16
OBJETIVOS	18
Objetivo General	18
Objetivos Específicos	18
RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE RABIA	18
FUNCIONES DE LOS INTEGRANTES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE LA RABIA	20
Funciones de los laboratorios a nivel local o jurisdiccional	20
Funciones de los Laboratorios Estatales de Salud Pública	20
Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia	23
TOMA, MANEJO Y ENVÍO DE MUESTRAS	23
Toma de muestra	24
Conservación	28
Envío y transporte	28
Criterios de aceptación y rechazo	28
ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO	31
CALIDAD EN EL SERVICIO DIAGNÓSTICO	34
PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DEL DESEMPEÑO	35

CRITERIOS PARA LA LIBERACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS PARA LA VIGILANCIA DE LA RABIA	38
BANCO DE MATERIAL BIOLÓGICO EN EL InDRE	39
BIBLIOGRAFÍA	41
ANEXOS	42
Anexo I: Bioseguridad en el Laboratorio de Rabia	42
Anexo II: Técnicas de Diagnóstico	43
Anexo III. Solicitud de insumos de rabia	57
Anexo IV. Formatos	61
Anexo V. Esquemas para la toma de muestra	67
Anexo VI. Embalaje y transporte de sustancia infecciosas	74

INTRODUCCIÓN

La rabia es una encefalomielitis de curso agudo que afecta a todos los mamíferos y casi siempre mortal una vez que han aparecido los signos clínicos. Está presente en todos los continentes, excepto en la Antártida, pero más del 95% de las muertes humanas se registran en Asia y África.

La rabia afecta a perros y gatos, animales de interés económico (bovinos principalmente) y animales silvestres (especialmente: murciélagos, zorrillos, zorros) y se propaga a las personas normalmente por la saliva a través de mordeduras de estos animales.

Entre los animales susceptibles hay especies que desempeñan un papel importante para el mantenimiento del virus en la naturaleza, las cuales son denominadas reservorios e incluyen animales silvestres como mapaches, zorrillos, zorros, coyotes, chacales, mangostas y murciélagos: hematófagos, insectívoros y frugívoros; y al perro como el reservorio doméstico más importante. Hasta el 99% de los casos humanos, el virus de la rabia es transmitido por perros domésticos.

En el continente americano circula únicamente la especie 1 de las 15 existentes, que incluye diferentes variantes antigénicas del virus de la rabia. Conforme a las clases de notificación de enfermedades establecidas por la OMS, la rabia está considerada como clase 2, es decir, enfermedad cuya notificación se exige de manera inmediata donde quiera que se presente, de conformidad con las disposiciones jurídicas aplicables.

La región de las Américas tiene el conocimiento y las herramientas necesarias para la eliminación de la rabia transmitida por perro. Las acciones coordinadas para la eliminación regional de la rabia humana transmitida por el perro comenzaron en 1983, con la cooperación técnica de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), responsable de la coordinación del programa regional de eliminación de la rabia, así como del funcionamiento del sistema regional de vigilancia epidemiológica de la rabia. Actualmente, los casos observados de rabia humana transmitida por el perro en la región presentan una distribución geográfica localizada. Sin embargo, algunas áreas siguen presentando importantes desafíos a los gobiernos locales y nacionales para la ejecución de sus programas de control de esta enfermedad.

En México, todo caso de rabia humana debe ser registrado en los establecimientos para atención médica y notificarlo oportunamente al Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SiNaVE)

La rabia es considerada una de las zoonosis virales de mayor importancia en México, en donde la transmisión de rabia canina ha disminuido drásticamente por la aplicación de efectivos programas de control, principalmente en las zonas endémicas del país. Desde la puesta en marcha del Programa de Eliminación de la Rabia en 1983, el número de casos humanos se ha reducido en aproximadamente un 95% (de 355 casos en 1982 a 10 casos en 2012). Cabe destacar que México estuvo libre de casos de rabia humana durante 2013 y 2014, mientras que en 2015 se presentó un caso en Chihuahua y en 2016 dos (Guerrero y Tamaulipas) todos transmitidos por fauna silvestre.

En perros, la reducción ha sido de aproximadamente un 98% (de 25.000 casos en 1980 a menos de 400 en 2010).

Debido a la amplia biodiversidad que caracteriza a nuestro país se ha detectado la presencia de diferentes ciclos enzoóticos de la rabia, presentándose además importantes desplazamientos de las especies reservorias a otras áreas geográficas del país por la intervención del ser humano, lo que complica radicalmente su estudio y control.

En México, la Dirección General de Epidemiología (DGE) mantiene la vigilancia epidemiológica de la Rabia en donde el diagnóstico de laboratorio permite fortalecerla, aunado al monitoreo del virus rábico. La implementación de estrategias para la prevención y control de la rabia se establecen conjuntamente con Programa Nacional de Zoonosis del Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE).

ANTECEDENTES

Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública

La Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (RNLSP) es el conjunto de laboratorios con objetivos específicos que permiten unificar métodos de diagnóstico, criterios de interpretación de resultados, transferencia tecnológica, generación de conocimiento y formación de recursos humanos que garanticen procedimientos técnico-administrativos que produzcan

información de laboratorio útil para la vigilancia epidemiológica y la operación de los programas preventivos.

Es el soporte técnico-científico útil para la vigilancia epidemiológica, genera información de calidad para la toma oportuna de decisiones, a través de la confirmación mediante estudios de laboratorio en muestras biológicas.

La RNLSP está integrada por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez” (InDRE) como órgano rector de la red, los Laboratorios Estatales de Salud Pública (LESP) y los Laboratorios de Apoyo a la Vigilancia Epidemiológica (LAVE). Se encuentra estructurada en tres niveles: nacional, estatal y local o sus equivalentes para otras instituciones. El nivel nacional está representado por el InDRE como Laboratorio Nacional de Referencia (LNR).

Tiene fundamento legal en el reglamento Interior de la Secretaría de Salud y la Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, para la vigilancia epidemiológica y se encuentra definida en los Criterios de Operación para la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública Componente Vigilancia Epidemiológica.

En la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública se cuenta con el diagnóstico de Rabia mediante la técnica de Inmunofluorescencia directa.

Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Rabia

El laboratorio de rabia en el InDRE inicia sus labores en 1979 bajo la supervisión de la Dirección General de Epidemiología, de 1989 al 1994 contaba con una red de 15 laboratorios estatales a los que coordinaba.

Desde 1991, el Laboratorio de Rabia del InDRE, en su calidad de Laboratorio Nacional de Referencia (LNR), realiza el aseguramiento de la calidad a diferentes entidades federativas de la República Mexicana, para la técnica de inmunofluorescencia directa (IFD), la cual es considerada como estándar de oro para el diagnóstico de rabia.

A través del envío de paneles de eficiencia desde 2006, se incorporó este diagnóstico al programa Caminando a la Excelencia para evaluar su

concordancia, cumplimiento y desempeño técnico dentro de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Rabia (RNLSP-Rab).

A partir del año 2007 se preparan y envían anualmente a cada laboratorio de la RNLSP-Rab dos paneles de eficiencia (normalmente en los meses de junio y noviembre) para medir el indicador de evaluación del desempeño. Estos paneles consisten en material biológico (muestras en fresco y laminillas previamente fijadas) previamente analizado en el Laboratorio de Rabia del InDRE. Durante ese año también se realizó el primer curso de actualización en IFD, contribuyendo en el mejoramiento de la calidad en el diagnóstico por medio de la identificación del virus.

A partir del 2008 se han seguido realizando cursos de actualización, en donde se establecen criterios y parámetros para evaluar la competencia técnica y aclarar las dudas por parte de los analistas, por lo que se considera de suma importancia la asistencia del personal técnico que conforma la red.

En el año 2011 el Laboratorio de Rabia del InDRE implementó el Sistema de Gestión de la Calidad, en 2013 se obtuvo la certificación en cumplimiento de los requisitos de la norma ISO 9001:2008, obteniendo la recertificación en febrero de 2017 para la ISO 9001:2015.

En el año 2014 el Laboratorio de Rabia acreditó la técnica de IFD de acuerdo a los requisitos establecidos por la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA) en la norma ISO 15189:2012 “Medical Laboratories Requirements for Quality and Competence”.

El programa de salud pública veterinaria de la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud (OMS/OPS) recomienda realizar la caracterización antigénica de todos los casos de rabia que se registran en la región, con la finalidad de fortalecer la vigilancia epidemiológica. En México, esta actividad se realiza en el InDRE en colaboración con los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention, CDC, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos de América mediante la transferencia de tecnología y la dotación de insumos necesarios no disponibles a nivel comercial.

MARCO LEGAL

Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos

- Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos. Artículo 4. Diario Oficial de la Federación 05/02/1917, Última Reforma D.O.F. 15/02/2012.

Leyes

- Ley General de Salud, México. Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 7 de febrero de 1984. Última reforma publicada D.O.F. 07/06/2012.
- Ley Federal de Responsabilidades Administrativas de los Servidores Públicos. D.O.F. 13/03/2012. Última reforma en D.O.F. 28/05/2009.
- DECRETO por el que se expide la Ley General del Sistema Nacional Anticorrupción; la Ley General de Responsabilidades Administrativas, y la Ley Orgánica del Tribunal Federal de Justicia Administrativa. D.O.F. 18/07/2016.
- DECRETO por el que se expide la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados. D.O.F. 13/12/2016.

Reglamentos

- Reglamento Interior de la Secretaría de Salud. México. Publicado en el D.O.F. 19/01/2004. Última reforma D.O.F. 10/01/2011.
- Reglamento Sanitario Internacional (2005) 2da edición. Ginebra Suiza 2008. Organización Mundial de la Salud.

Normas Oficiales Mexicanas

- Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, Para la vigilancia epidemiológica, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 19 de febrero de 2013.
- Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. D.O.F. 27/03/2012
- Norma Oficial Mexicana NOM-011-SSA2-2011. Para la prevención y control de la rabia humana y en los perros y gatos. D.O.F. 08/12/2011.
- Norma Oficial Mexicana NOM-035-SSA3-2012. En materia de información en salud

- Norma Oficial Mexicana NOM-036-SSA2-2012, Prevención y control de enfermedades. Aplicación de vacunas, toxoides, sueros, antitoxinas e inmunoglobulinas en el humano.
- Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. D.O.F. 26/10/2012.
- Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014, Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres. D.O.F. 26/08/2015.
- Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. D.O.F. 22/10/1993; Modificación D.O.F. 23/06/2006.
- Norma Oficial Mexicana NOM-018-STPS-2015, Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo. D.O.F. 09/10/2015.
- Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Protección ambiental -Salud ambiental- Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo. D.O.F. 17/02/2003.
- Norma Oficial Mexicana NOM-042-SSA2-2006, Prevención y control de enfermedades. Especificaciones sanitarias para los centros de atención canina. D.O.F. 06/11/2008.
- Norma Oficial Mexicana NOM-046-ZOO-1995, Sistema Nacional de Vigilancia Epizootiológica. D.O.F. 19/02/1997. Última modificación 29/01/2001.
- Norma Oficial Mexicana NOM-067-ZOO-2007, Campaña nacional para la prevención y control de la rabia en bovinos y especies ganaderas. D.O.F. 20/05/2011.

Planes y Programas

- Plan Nacional de Desarrollo 2013-2018. Diario Oficial de la Federación, DOF: 20/05/2013.
- Secretaría de Salud. Programa Sectorial de Salud 2013-2018. Diario Oficial de la Federación DOF: 12/12/2013.
- Secretaría de Salud. Programa de Acción Específico: “Prevención y Control de la Rabia Humana” 2013-2018., primera edición 2014.
- Secretaría de Salud. Programa de Acción Específico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica 2013-2018. México: Secretaría de Salud; 2013.

Lineamientos y Manuales

- Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en Humano; Dirección General de Epidemiología. México: Secretaría de Salud; 2012.
- Guía para la atención médica y antirrábica de la persona expuesta al virus de la rabia. Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades. Secretaría de Salud. 2011.
- Guía para el control de los focos rábicos en animales de compañía. Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades, Secretaría de Salud, 2ª. Edición. 2012.
- Criterios de Operación para la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública Componente Vigilancia Epidemiológica; Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez” InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015.
- Lineamientos para programas de evaluación externa del desempeño de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública; Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”; InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015.
- Lineamientos para la Gestión del Riesgo Biológico; Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez” InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015.
- Lineamientos para el reconocimiento a la competencia técnica de los laboratorios que apoyan a la vigilancia epidemiológica; Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, “Dr. Manuel Martínez Báez” InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015.
- Manual para la toma, envío y recepción de muestras para diagnóstico; Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez” InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015.

DEFINICIONES OPERACIONALES

En la NOM-011-SSA2-2011, Para la prevención y control de la rabia humana y en los perros y gatos. D.O.F. 08/12/2011, se establecen para sus propios fines las siguientes definiciones:

- **Rabia:** Enfermedad infectocontagiosa, aguda y mortal que afecta al sistema nervioso central, causada por un virus del género *Lyssavirus* y de

la familia *Rhabdoviridae*, presente en los fluidos de personas o animales susceptibles de transmitir la enfermedad como son el perro, gato, murciélago, zorrillo u otro animal.

- **Animal silvestre:** al animal que vive y proviene de hábitats naturales o en cautiverio tales como quiróptero, zorro, zorrillo, mapache, coyote y otros carnívoros.
- **Reservorio:** A cualquier animal donde vive normalmente un agente infeccioso y cuya presencia puede constituir un riesgo para la salud pública.
- **Diagnóstico:** A los procedimientos encaminados a la identificación del virus rábico mediante datos clínicos y pruebas de laboratorio.
- **Control:** A la aplicación de medidas para una vigilancia epidemiológica estrecha así como acciones encaminadas a disminuir la aparición de casos de rabia.
- **Exposición:** A la acción por la cual una persona o animal susceptible entra en contacto directo con un ambiente donde existe virus activo de la rabia.

El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SiNaVE) a través del Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica (CoNaVE) establece en el *Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en Humano* las siguientes definiciones operacionales:

- **Sospechoso:** Persona de cualquier edad, con antecedentes de contacto con animal sospechoso de padecer rabia, el cual se encuentre desaparecido, en observación clínica o haya fallecido.
- **Probable:** Persona de cualquier edad con síntomas de la enfermedad o, con antecedentes de contacto con animal con rabia confirmada.
- **Confirmado:** Persona o defunción en persona, sospechosa o probable de rabia, que presentó síntomas de la enfermedad, más una o ambas de las condicionantes siguientes: 1. antecedentes de transmisión rábica y 2. Resultados positivos por laboratorio.
- **Descartado:** Persona sospechosa o probable de rabia, cuyos antecedentes de infección y resultados de laboratorio son negativos y en la que se establece otro diagnóstico.

- **Contacto:** Persona que ha estado en relación directa o indirecta con persona o animal infectado de rabia o probablemente infectado o, con ambiente contaminado por el virus y que ha tenido la oportunidad de contraer la infección.
- **Agredido:** Persona que ha sufrido alguna lesión por animal potencialmente capaz de transmitir la rabia.

OBJETIVOS

Objetivo General

Establecer y dar a conocer a la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Rabia los procedimientos estandarizados para un diagnóstico oportuno y de calidad, que garanticen la confiabilidad diagnóstica.

Objetivos Específicos

- Garantizar la calidad del diagnóstico de la Rabia.
- Ser el documento guía para el soporte técnico-científico de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Rabia.

Ámbito de aplicación

El presente documento aplica a todos los laboratorios que forman parte de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Rabia.

RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE RABIA

Como LNR a nivel federal, es responsabilidad del Laboratorio de Rabia del InDRE la coordinación de la RNLSP-Rab, siendo el órgano rector de la Red para el diagnóstico, referencia, capacitación, actualización y evaluación de la competencia técnica.

Existen diferentes niveles administrativos y capacidades diagnósticas al interior de la red. La organización está constituida por (Figura 1):

- El Laboratorio de Rabia como Laboratorio Nacional de Referencia, integrado al Departamento de Virología del InDRE.

- La red de laboratorios de salud pública para el diagnóstico de rabia está conformada por 26 Laboratorios Estatales de Salud Pública.
- Los laboratorios locales o sus equivalentes que realizan las funciones de diagnóstico.



Figura 1. Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública. En verde se presentan los estados diagnóstico de rabia liberado, en amarillo los estados con control de calidad y los estados que no cuentan con diagnóstico de rabia.

FUNCIONES DE LOS INTEGRANTES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE LA RABIA

Funciones de los laboratorios a nivel local o jurisdiccional

- Realizar el diagnóstico para la vigilancia epidemiológica del virus de la rabia bajo la coordinación del LESP.
- Recibir e identificar las muestras que ingresan para diagnóstico de rabia.
- Documentar el caso para identificar su importancia epidemiológica.
- Participar en los programas de evaluación del desempeño que establezca el nivel estatal.
- Llevar a cabo la vigilancia epidemiológica basada en laboratorio bajo las directrices y políticas establecidas.
- Participar en proyectos de investigación operativa para generar conocimiento sobre epidemiología y salud pública, bajo la coordinación del LESP.

Funciones de los Laboratorios Estatales de Salud Pública

Para el diagnóstico

- Realizar los estudios analíticos para el diagnóstico de rabia en seres humanos y animales domésticos y silvestres con base en estos lineamientos.
- Tener capacidad instalada de 20 a 30 muestras diarias (jornada de 8 horas), estándar del servicio de 24 a 48 horas, contando con dos personas para realizar la técnica.
- Enviar al personal que realiza el diagnóstico a capacitación y evaluación por el LNR.
- Realizar el diagnóstico de rabia en animales silvestres o doméstico de interés económico siempre y cuando se entregue la muestra de este con el *Formato Único para el Envío de muestras Biológicas de Rabia Humana y Animal* (Anexo IV. Formatos) junto con el *Formato de Estudio Epidemiológico de caso EPI-RAB* del (los) caso(s) humano(s) en contacto descrito en el *Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en Humano*.

- Emitir en tiempo y forma los resultados de los exámenes de laboratorio a quien solicita el estudio.
- Notificar al órgano normativo estatal que aplique, las muestras confirmadas de rabia.
- Notificar al LNR las muestras confirmadas de rabia (Figura 2).
- Asegurar la calidad del diagnóstico de acuerdo al *Manual para la Evaluación del Desempeño Caminando a la Excelencia*.
- Proporcionar la información relacionada y requerida por el programa sustantivo del área de su competencia, como mecanismo de apoyo.
- Enviar al InDRE las muestras cuando la entidad no cuente con un laboratorio para el diagnóstico de rabia.
- Asegurar la adquisición de insumos para realizar la titulación de anticuerpos neutralizantes mediante ELISA para el monitoreo de la inmunidad al personal que labora en un área expuesta a rabia de acuerdo a la normatividad.
- Revacunar al personal cuyo título de anticuerpos neutralizantes contra el virus de la rabia esté por debajo de 0.5 UI/ml.
- Notificar en las primeras 48 hrs a partir de la recepción del Panel de Eficiencia cualquier incidencia que impida el adecuado procesamiento de este, de lo contrario el InDRE no se hace responsable de las alteraciones de este y será responsabilidad del LESP la solicitud de un nuevo panel de evaluación.



Figura 2. Flujo de información en la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Rabia.

Para la evaluación del desempeño

- Coordinar a los laboratorios jurisdiccionales o locales que realicen el análisis de muestras para la vigilancia epidemiológica de la rabia.
- Asegurar que se lleven a cabo los procedimientos, métodos y técnicas estandarizadas.
- Compilar las muestras de los laboratorios jurisdiccionales o locales y realizar el control de calidad indirecto de los mismos.
- Informar inmediatamente las inconsistencias encontradas.
- Realizar el análisis de la información generada.
- Recabar y analizar la información de los laboratorios jurisdiccionales o locales para el aseguramiento de la calidad de la red.

Para el Programa de Evaluación Externa del Desempeño (PEED)

- Participar en la evaluación del desempeño del InDRE, a través de los programas oficiales correspondientes.
- Realizar la evaluación del desempeño en los componentes de rabia a los laboratorios locales.
- Generar la evidencia de la evaluación a la red local y enviar copia de los resultados al laboratorio evaluado y al LNR.
- Organizar la información de estas actividades y proporcionarla cuando sea requerida por las instancias evaluadoras.

Para la capacitación

- Capacitar al personal de los laboratorios jurisdiccionales o locales del Sector Salud que lo soliciten de acuerdo con las necesidades detectadas en la técnica de diagnóstico de rabia.

Para el apoyo técnico

- Colaborar o elaborar trabajos de investigación operativa que proporcione información prioritaria estatal, una vez que los protocolos sean aceptados por los comités de investigación.

Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia

El Laboratorio de Rabia del InDRE, como el LNR, es el órgano normativo para el diagnóstico de la rabia en México y tiene las siguientes funciones:

- Coordinar las actividades de la RNLSP-Rab.
- Establecer la normatividad referente a las técnicas de diagnóstico de la rabia en México.
- Realizar el análisis de muestras que otros laboratorios de la RNLSP-Rab no puedan realizar de manera permanente o transitoria, de acuerdo a lo establecido en los *Criterios de Operación de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública, componente vigilancia epidemiológica*.
- Capacitar al personal de la RNLSP-Rab en las técnicas de diagnóstico.
- Realizar el control de calidad de la RNLSP-Rab mediante la ejecución del Programa de Evaluación Externa del Desempeño y la supervisión directa o indirecta de los servicios.
- Recopilar, analizar y evaluar la información de las actividades realizadas por la RNLSP-Rab (Figura 2).
- Realizar y coordinar investigaciones técnicas operacionales y epidemiológicas relacionadas con la Rabia.
- Contribuir con el *Programa de Acción Específico para la Prevención y Control de la Rabia Humana* para que la RNLSP-Rab trabaje en forma conjunta de acuerdo con las necesidades de diagnóstico.
- Difundir los procedimientos actualizados para la aplicación de los algoritmos de diagnóstico para la vigilancia virológica de rabia.
- Proporcionar las directrices para el manejo adecuado de la información generada por laboratorio, a través de la RNLSP-Rab.
- Enviar cualquier muestra de interés epidemiológico internacional, previa solicitud oficial de la institución interesada.
- Proporcionar servicios de control de calidad y referencia cuando se requiera.

TOMA, MANEJO Y ENVÍO DE MUESTRAS

Precauciones universales

Todas las muestras para diagnóstico, confirmación o investigación en eventos de interés en salud pública serán consideradas potencialmente

infecciosas, por lo que siempre se deben seguir las medidas de prevención de riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos, así como las recomendaciones del Manual de bioseguridad en el laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (Ginebra, 2005).

Una muestra biológicamente adecuada se define como la muestra representativa del sitio de la lesión a investigar, en cantidad suficiente, colocada en un envase adecuado y limpio, identificada, conservada y transportada correctamente.

Toma de muestra

Los procedimientos para la toma de muestra están descritos en el siguiente documento: *“Manual para la Toma, Envío y Recepción de Muestras para Diagnóstico”* disponible en la colección de *Manuales y Documentación relevante* y en la Norma Oficial Mexicana para la prevención y control de la rabia humana y en los perros y gatos, vigente.

La toma de estas muestras se debe efectuar por personal médico o personal capacitado, el cual debe seguir en forma rigurosa las condiciones de asepsia.

Muestra para diagnóstico de caso probable (Figura 3)

- **Biopsia de cuero cabelludo:** Se debe tomar una muestra de 5 mm³ proveniente del cuero cabelludo en la región de la nuca (Figura 13), colocar en un recipiente hermético sin ninguna solución o con una solución de glicerol (50%) y solución salina fisiológica. Es indispensable enviar historia clínica detallada y completa. Mantener refrigerado a entre 4-8°C y enviar inmediatamente. Esta muestra deberá ser tomada por Dermatólogo o personal capacitado.
- **Hisopo sublingual:** Con hisopo de dacrón preferentemente o en su defecto de algodón, tomar la muestra introduciendo la punta del hisopo debajo de la lengua, realizando un raspado suave y suficiente en las glándulas salivales, extraer el hisopo y sumergirlo en 2.0 mL de solución salina o medio de transporte estéril (Figura 14). Es indispensable enviar historia clínica detallada y completa. Se debe enviar en un tubo con tapón de rosca a una temperatura de 4-8 °C. Esta muestra deberá ser tomada por personal técnico de laboratorio o personal médico capacitado.

- **Impronta de córnea:** Se deben tomar dos impresiones de la córnea de cada ojo, utilizar un portaobjetos previamente desengrasado con una mezcla de etanol-éter (v/v). El material debe ser suficiente para circunscribir dos campos con el lápiz graso. Los portaobjetos se deben secar a temperatura ambiente por 30 min y colocarse en un portalaminillas, si es posible fijar las improntas con una solución de acetona fría (-20 °C) (Figura 15). Es indispensable enviar historia clínica detallada y completa. No es necesario refrigerar el paquete, pero sí protegerlo de la humedad, la luz solar o del calor excesivo. Es importante evitar que las improntas se froten entre sí. Esta muestra deberá ser tomada por Oftalmólogo o personal médico capacitado.
- **Líquido cefalorraquídeo (LCR):** La toma de muestra se debe efectuar en un hospital por personal médico capacitado, el cual debe seguir en forma rigurosa las condiciones de asepsia. Obtener de 3.0 a 5.0 mL del LCR y colocarlos en un tubo de plástico estéril con tapón de rosca (Figura 16). Enviar de inmediato la muestra al laboratorio, transportarla a temperatura entre 4-8 °C. Esta muestra deberá ser tomada por Médico Internista o personal médico capacitado.

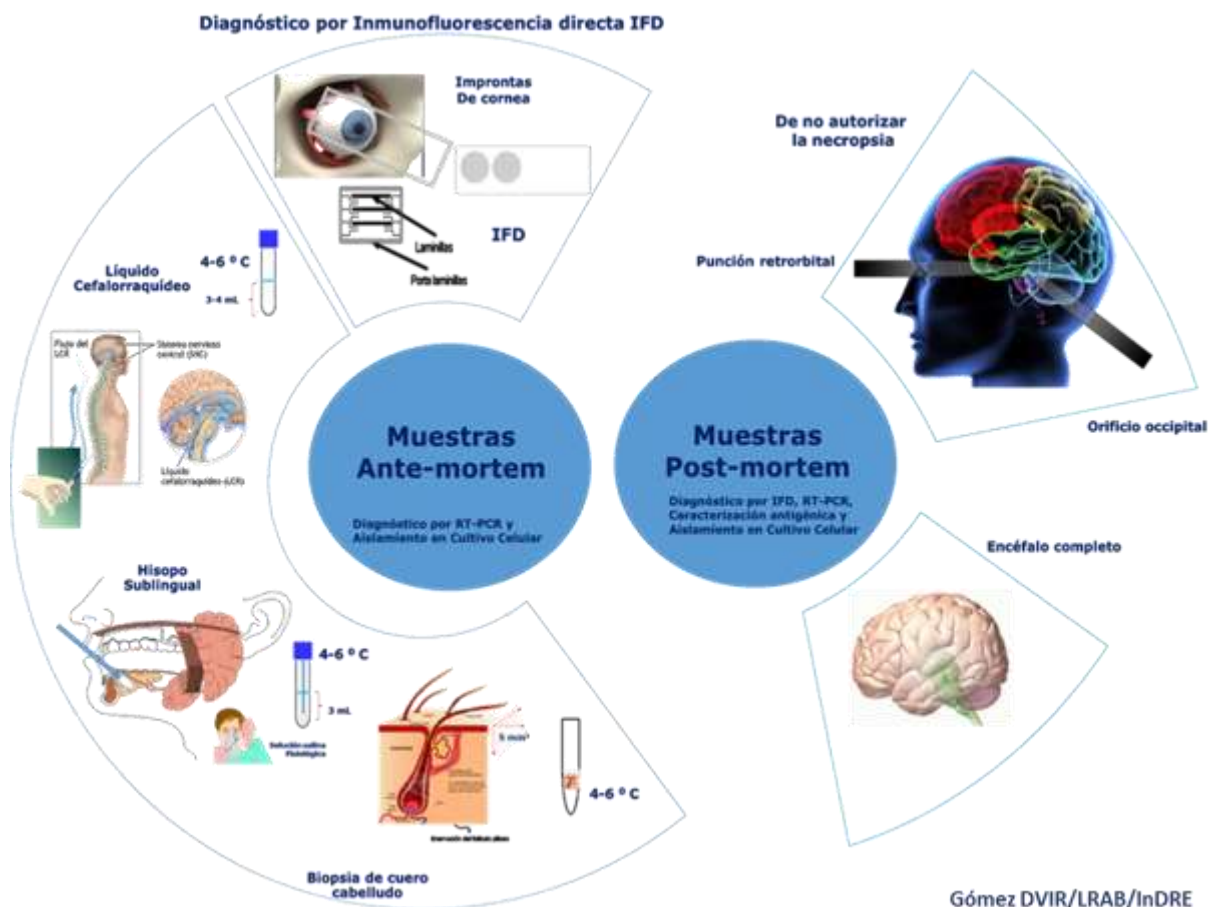


Figura 3.- Resumen de muestras necesarias para diagnóstico de rabia *ante mortem* y *post mortem*

- **Saliva:** Extraer con una jeringa sin aguja de la región sublingual un volumen de 1.0 a 3.0 mL de saliva y recolectarla en un tubo estéril con tapón de rosca. (Figura 17). Enviar de inmediato la muestra al laboratorio, transportarla a temperatura entre 4-8 °C. Esta muestra deberá ser tomada personal técnico de laboratorio o personal capacitado.
- **Suero:** Únicamente se utiliza para el monitoreo de la concentración de anticuerpos protectores en las personas involucradas laboralmente con el virus (Figura 18). Esta muestra debe ser tomada por personal médico, técnico de laboratorio o personal capacitado.

Muestra para diagnósticos provenientes de defunción en un caso probable en humanos y provenientes de animales

- **Encéfalo:** La toma de la muestra debe efectuarse por personal médico capacitado, el cual seguirá en forma rigurosa las condiciones de asepsia. Se deben enviar los dos hemisferios cerebrales o de lo contrario las regiones de la médula espinal, cerebelo, asta de Ammón y corteza cerebral de inmediato, posterior al fallecimiento. Los fragmentos no deben pesar menos de 5 g. En los casos en que no se autorice la autopsia, la muestra debe tomarse de inmediato por punción retrorbital o a través del orificio occipital esta técnica se aplica igual en el caso de animales domésticos o silvestres en los que se sospeche encefalitis por virus de rabia (Figura 19). Es indispensable enviar historia clínica detallada y completa. El tejido debe enviarse dentro de las primeras 24 h después de su extracción manteniéndolo a temperatura entre 4 y 8 °C. De no ser así se debe mandar congelado y de inmediato. En el caso de especies silvestres pequeñas enviar el espécimen completo. Esta muestra debe ser tomada por Patólogo o personal médico capacitado.

Por ningún motivo debe sumergirse el encéfalo en solventes como por ejemplo; formaldehído, fenol, alcohol. Se debe mantener y enviar en congelación y de inmediato.

- En los casos de muestras que fueron diagnosticadas por IFD en el laboratorio estatal se deberán enviar especificadas en el oficio las regiones que fueron estudiadas con la información de la cantidad de antígeno observada (<1+ a 4+), así mismo se deberán enviar en un vial las regiones que fueron analizadas. Las condiciones de congelamiento (-20°C a -70°C) deben mantenerse hasta que lleguen al InDRE.
- **Mamíferos pequeños:** Encéfalo, médula espinal, asta de Ammón y cerebelo (Figura 20), en el caso de quirópteros se debe enviar el espécimen completo congelado y de ser posible para el caso de zorrillos, zorros, lobos, coatíes, gato montés, puma, tlacuache, etc. acompañado de fotos en formato electrónico y en papel, así como su clasificación taxonómica, en caso contrario, esta deberá ser realizada en el InDRE. Los especímenes deben enviarse congelados. Personal Técnico adiestrado o Médico Veterinario

Muestra para Control de Calidad en el LNR

Las muestras de encéfalo que se envíen para aseguramiento de calidad deberán estar congeladas y contener las regiones anatómicas idóneas: médula espinal, asta de

Ammón y cerebelo, que hayan sido procesadas previamente por personal del LESP. En muestras procedentes de quirópteros:

Se debe hacer una punción occipital en el ejemplar para realizar el diagnóstico y se envía el ejemplar completo y congelado para control de calidad o referencia (Figura 21).

Conservación

Una vez que la muestra ha sido obtenida se enviará dentro de las primeras 48 horas después de su obtención manteniéndolas a la temperatura de acuerdo al tipo de muestra antes mencionadas.

- Para las muestras de suero se debe utilizar un tubo sin anticoagulante, y enviar únicamente de 3.0 a 5.0 mL de suero que no debe estar hemolizado ni lipémico y se debe conservar en refrigeración o congelado, a menos que se indique algo diferente. El suero se debe trasvasar a un tubo estéril y enviarse de inmediato al laboratorio a temperatura entre 4-8 °C. (Figura 18).

Envío y transporte

Para transportar la muestra.

- La muestra debe estar acompañada de la documentación correspondiente (historia clínica o estudio epidemiológico de caso, oficio de solicitud e informe del resultado del examen serológico, toda la información escrita con letra legible). La documentación no debe estar en contacto con las muestras biológicas.

Criterios de aceptación y rechazo

Los criterios de aceptación de muestras biológicas son:

- Humanos (*ante mortem*): Biopsia de cuero cabelludo, hisopo sublingual, saliva, impronta de córnea, LCR y suero (sólo para titulación de anticuerpos); *post mortem*: encéfalo, médula espinal, asta de Ammón y cerebelo.
- Animales: encéfalo, médula espinal, asta de Ammón y cerebelo. En el caso de quirópteros se debe enviar el espécimen completo congelado; de ser posible, para el caso de zorrillos, zorros, lobos, coatíes, gato montés, puma, tlacuache, etc., acompañado de fotos en formato electrónico y en papel, así

como su clasificación taxonómica, en caso contrario esta deberá ser efectuada en el InDRE.

En ambos casos deberán incluir el "*Formato único para el envío de muestras biológicas de rabia humana y animal*" (Figura 12).

- Todas las estructuras del encéfalo deben ser enviadas en un frasco de plástico con tapa de rosca, envuelta con Parafilm® alrededor de la tapa (no usar papel absorbente) y perfectamente etiquetadas.
- Las muestras de encéfalo con más de 48 horas de haber sido obtenidas deberán mantenerse congeladas hasta su arribo al laboratorio.
- Las muestras de encéfalo con menos de 48 horas de haberse obtenido pueden mantenerse almacenadas entre 4 y 8 °C hasta su llegada al laboratorio.
- Las muestras de animales silvestres deberán estar acompañadas del estudio epidemiológico de caso del agredido. Incluir el "*Formato único para el envío de muestras biológicas de rabia humana y animal*" (Figura 12).

Los criterios de rechazo de muestras biológicas son:

- Muestras inadecuadas (diferentes a las establecidas)
- Muestras derramadas
- Muestra insuficiente
- Muestras en estado de descomposición
- Muestras no identificadas
- Muestras sin oficio de petición, formato de envío (indispensable llenar el rubro de vacunación e historia clínica)
- Muestras para referencia o aseguramiento de la calidad que no cuenten con resultado escrito y la firma del responsable del diagnóstico en la historia clínica
- Muestras en formaldehído, fenol o alcohol
- Tiempo de evolución, la muestra enviada al InDRE para diagnóstico de rabia no debe rebasar los 30 días después de la muerte del ser humano o del animal.

Catálogo de rechazos

1. Sin historia clínica (SHC)

2. Mal capturadas (MC)
3. Tubo vacío (TV)
4. No llegó muestra (NLL)
5. Muestra inadecuada (MI)
6. Tubo roto (TR)
7. Muestra insuficiente (MIN)
8. Sin identificación (SI)
9. Muestras derramadas (MD)
10. Tiempo de evolución (TE)
11. Muestras mezcladas (MM)
12. No llegó información requerida (NODOC)
13. Datos erróneos (DE)
14. Datos de muestra ilegibles (DI)
15. Falta de información (FI)
16. Muestra derramada y mezclada (MDM)
17. Muestra enviada por error (MEE)
18. Muestra hemolizada (MH)
19. Muestra para investigación interna (MPI)

Muestras de alto valor

Es aquella que se recibe en el laboratorio y que no cumple con alguno de los criterios de aceptación pero que por las características de evolución del paciente se considera una muestra de alto valor epidemiológico.¹

Cuando el laboratorio opta por procesar la muestra de alto valor se debe asegurar que en el informe de resultados se indique la naturaleza del problema y se especifique que se requiere precaución cuando se interprete el resultado.

¹ Incluidas muestras de pacientes sometidos a *Protocolo Milwaukee*, previa notificación al SINAVE y consentimiento del responsable del programa de zoonosis en Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades para coordinar la logística de envío de muestras y resultados, quedando la RNLS libre de toda responsabilidad legal.

ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO

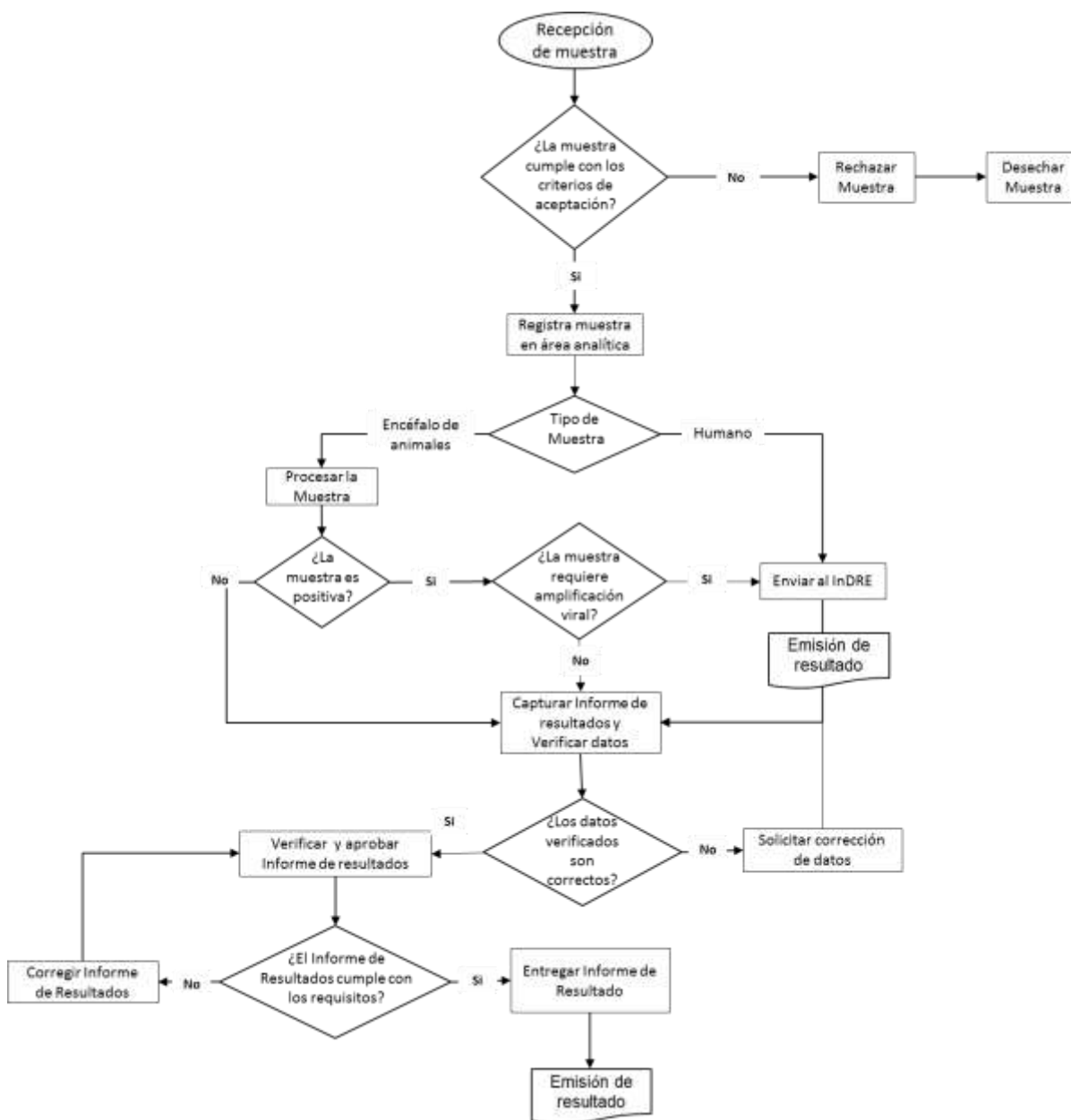


Figura 4. Algoritmo del análisis para el diagnóstico por laboratorio del virus de la rabia.

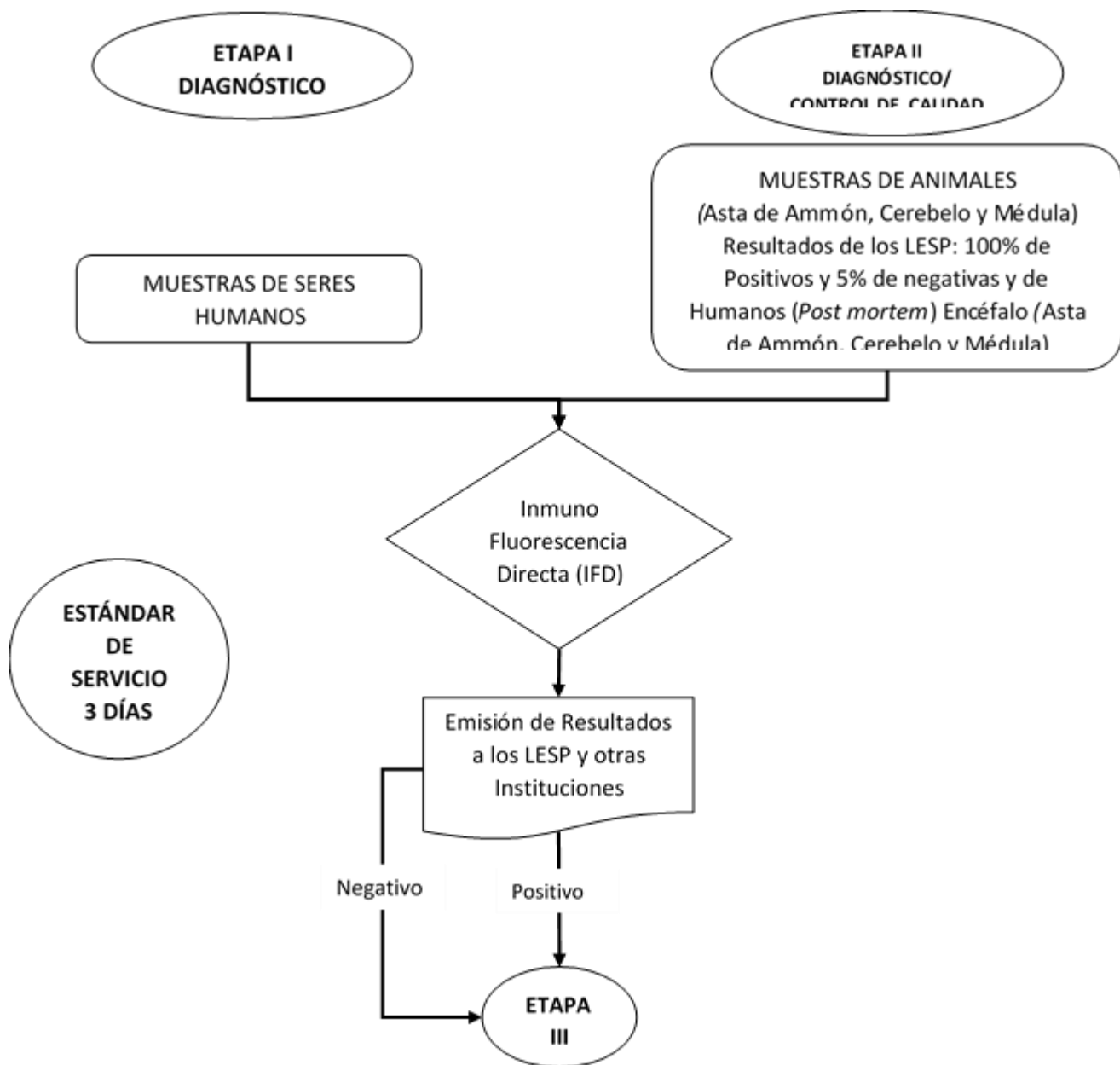


Figura 5. ETAPA I y II: Algoritmo diagnóstico y control de calidad en la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para el Diagnóstico de Rabia. Clave de tabulador para algoritmo diagnóstico. 1A7526001, identificación del virus rábico en material encefálico e improntas de córnea por IFD.

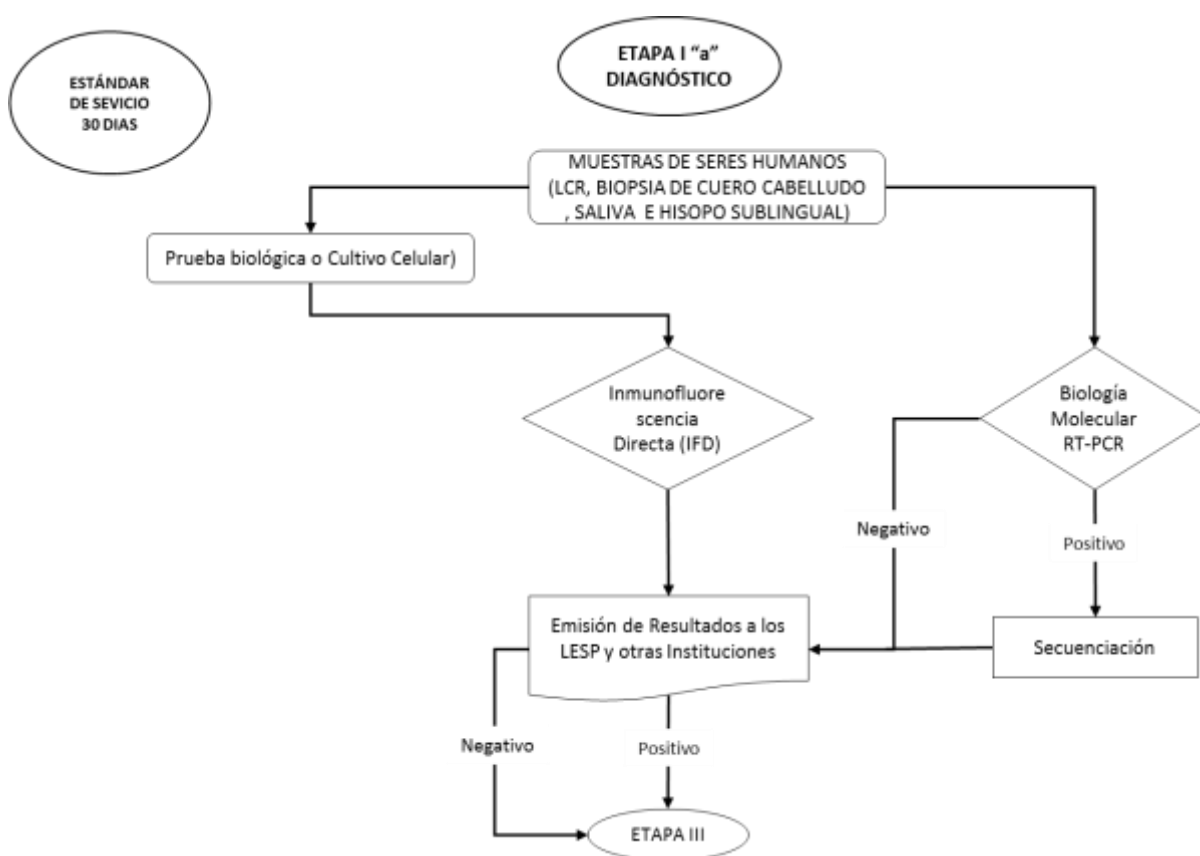


Figura 6. ETAPA I "a": Algoritmo diagnóstico muestras *ante mortem* (humanos) para la inoculación intracerebral del líquido cefalorraquídeo, biopsia de cuero cabelludo, saliva e hisopo sublingual de humano en ratón por PB y cultivo celular. Clave del tabulador: 1A7526016 y 1A7526008.

El marco analítico del Laboratorio de Rabia del InDRE, es:

- Técnica de IFD.
- Prueba Biológica (PB) para aumentar el título viral y reproducir la enfermedad.
- Caracterización antigénica con anticuerpos monoclonales (AcMo) para determinar el reservorio más probable causante de la infección.
- Inoculación de células de neuroblastoma murino con muestras probables de estar infectadas con rabia.
- Titulación de anticuerpos neutralizantes en humanos.
- Retrotranscripción acoplada a la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR). Esta es la prueba base para el estudio molecular de cepas circulantes

en el país que ayuda a realizar una vigilancia tanto epidemiológica como virológica.

- Secuenciación nucleotídica.

La caracterización antigénica y genética, es para todos los laboratorios que tienen el diagnóstico liberado y solo se realiza en muestras positivas a rabia por IFD, de humanos, perros, gatos o animales que hayan agredido a humanos; el estándar del servicio para la titulación de anticuerpos es de 30 días hábiles.

CALIDAD EN EL SERVICIO DIAGNÓSTICO

De acuerdo con la *NOM-035-SSA3-2012, En materia de información en salud*, el contar con información oportuna y de calidad permite coadyuvar a la planeación del Sistema Nacional de Salud para reforzar las acciones de atención a los problemas sanitarios y factores que condicionen y causen daño a la salud.

Para cumplir con los estándares de calidad en la RNLSP-Rab es indispensable apegarse a los *Criterios de Operación para la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública Componente Vigilancia Epidemiológica*, implementar y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad en apego a los requisitos de las normas ISO 9001:2015 *Sistemas de Gestión de la Calidad* e ISO 15189:2015 *Requisitos de la calidad y competencia*.

Además, alinearse a los requisitos establecidos en el *Manual Caminando a la Excelencia*, los criterios de liberación de pruebas diagnósticas y cumplir con los indicadores de calidad en el servicio diagnóstico establecidos para la RNLSP-Rab.

Fase pre-analítica: Estos indicadores (Oportunidad en la toma, el envío y porcentaje de rechazo) comprenden actividades propias del área de vigilancia epidemiológica que inciden en la calidad de la muestra y el resultado.

- **Oportunidad en el envío:** Una vez tomada la muestra debe ser recibida en el laboratorio para su procesamiento de manera inmediata y hasta 48 horas posteriores a la toma.
- **Porcentaje de rechazo:** La proporción de rechazos permitida es del 10%. Cuando se registre un mayor porcentaje, el laboratorio debe comunicar al área de vigilancia epidemiológica las oportunidades de mejora con la finalidad de que realicen las acciones conducentes.

Los indicadores de la fase analítica (estándar del servicio) competen a la RNLSP-Rab e inciden en la obtención de un resultado confiable y oportuno.

- **Estándar del Servicio:** El estándar de servicio para el diagnóstico de rabia es de 3 días.

El objetivo del diagnóstico para la vigilancia virológica es confirmar la presencia del virus de la rabia en una muestra representativa.

El estándar de servicio para las muestras enviadas para control de calidad y referencia se encuentra descrito en el documento: *Tiempos de entrega de servicios* en el apartado de Manuales y Documentación relevante de la página del InDRE. <https://www.gob.mx/salud/documentos/manuales-y-documentos-relevantes?state=published>

PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DEL DESEMPEÑO

Los laboratorios integrantes de la RNLSP-Rab deben participar en el programa de evaluación externa del desempeño organizado por el LNR, con base al cronograma que se muestra en la Tabla 3.

Los LESP son responsables de conducir programas de evaluación del desempeño dirigidos a los laboratorios que integran su red estatal para el diagnóstico de Rabia.

Objetivo: Evaluar el desempeño diagnóstico de los laboratorios de la red e identificar a aquellos con áreas de oportunidad por fallas técnicas u operativas para colaborar en su mejora continua.

Procedimiento:

- El LNR envía a los laboratorios integrantes de la RNLSP-Rab una serie de muestras en los meses de junio y noviembre.
- Las muestras serán procesadas con base al instructivo que se adjunta en el envío.
- El LESP envía los resultados obtenidos al LNR en las fechas y formatos establecidos en el oficio del panel.

- El LNR analiza los informes de resultados de la RNLSP-Rab y elabora un informe con el resultado global y particular de los participantes de la red.
- El LNR envía a la RNLSP-Rab el informe del análisis de los resultados vía correo electrónico.
- Con base en los resultados obtenidos, el LESP establecerá un plan de acciones correctivas.

Los laboratorios de la red de rabia recibirán semestralmente un panel de eficiencia y con base en los resultados obtenidos se evaluará su desempeño y se definirá si se libera el diagnóstico, por lo menos deben obtener el 85% en la calificación (Tabla 2).

- Concordancia entre 85 y 100%, se mantiene este tipo de evaluación.
- Concordancia entre 75 y 84.9%, requiere comprar un nuevo panel.
- Concordancia menor al 75% en el panel de reposición comprado por el LESP, se requiere de capacitación y establecer nuevamente el envío de muestras para realizar control de calidad en el InDRE.
- El envío de los paneles, la recepción de información y resultados se enviará por correo electrónico y por paquetería

LESP en Control de Calidad

Se evalúa de manera mensual el siguiente indicador:

- a) **Concordancia:** Solo aplica para los laboratorios que no tienen liberado el diagnóstico por la técnica de IFD y envían muestras para el aseguramiento de la calidad:

$$\frac{\text{Número de muestras enviadas por el LESP para confirmar diagnóstico}}{\text{Número total de muestras recibidas y confirmadas en el InDRE}} \times 100$$

- b) **Panel de eficiencia** (Tabla 1)

LESP con Liberación Diagnóstica

Se evalúa de manera semestral con base al Panel de eficiencia (Tabla 1).

Tabla 1: Criterios de evaluación para la concordancia y el panel de eficiencia.

>95%	Muy satisfactorio
85 a 94.9%	Satisfactorio: Se indican medidas correctivas para mejora, que se deberán cumplir en un tiempo mínimo de 2 meses y se observan con continuidad del diagnóstico.
75 a 84.9%	Regular. Se suspende el diagnóstico por 6 meses y se dan recomendaciones a cumplir. Se evalúa de nuevo al término de ese tiempo para saber si se reincorpora a la red de diagnóstico. Se envía oficio al director del LESP correspondiente.
<75%	No satisfactorio. No se incorpora a la red de diagnóstico o se suspende el diagnóstico por un año hasta llegar al nivel satisfactorio. Se envía oficio al director del LESP correspondiente.

Para todos los laboratorios integrantes de la RNLSP-Rab se evalúa la fase post analítica por medio de la emisión de resultado, el cual mide el tiempo transcurrido entre el término del análisis por IFD y la entrega de resultados al solicitante del servicio. Todos los laboratorios que realizan el diagnóstico de rabia para esta red cuentan con tres días a partir de la fecha de recepción de la muestra, procesamiento, captura y envío de resultados.

Tabla 2. Cronograma anual de actividades del PEED

Actividad	Ene	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.
Envío del primer panel a la RNLSP-Rab						X						
Recepción de resultados del Panel en el InDRE						X						
Envío de resultados del Panel a la RNLSP-Rab							X					
Envío del segundo panel a la RNLSP-Rab											X	
Recepción de resultados del Panel en el InDRE											X	
Envío de resultados del Panel a la RNLSP-Rab												X

CRITERIOS PARA LA LIBERACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS PARA LA VIGILANCIA DE LA RABIA

Generalidades

Para la liberación del diagnóstico de rabia, se requiere:

- Contar con los Reactivos, Equipos e Infraestructura (evaluadas durante las visitas de reconocimiento a la competencia técnica).
- Contar con personal capacitado y aprobado en el InDRE en curso o capacitación.
- Obtener una calificación promedio anual de los dos Paneles de Evaluación Externa del Desempeño (PEED) mínima de 85.
- Tener constancia de capacitación en servicio o actualización en IFD emitida por el InDRE, con un máximo de 5 años de vigencia; con una calificación final mínimo de 9.0.
- A los LESP que aplique, deben obtener como mínimo el 90% de concordancia en el control de calidad mensual enviado al InDRE, completando un total de envío de 300 muestras a partir de la vigencia de estos lineamientos.

Concordancia:

Este indicador permite evaluar la proporción de muestras confirmadas por el InDRE, del total de muestras enviadas por los LESP, con base en lo reportado en el SIS. Se calcula de la siguiente manera:

$$\frac{\text{Número de muestras concordantes entre el LESP y el InDRE}}{\text{Número de muestras aceptadas para control de calidad de las referidas por el LESP}} \times 100$$

- La liberación del diagnóstico de rabia otorgada por el InDRE se puede suspender si el LESP:
 - Obtiene una calificación promedio anual de los dos Paneles de Evaluación Externa del Desempeño (PEED) menor a 85 (incluyendo el panel que compare el LESP).
 - No contar con la infraestructura, reactivos y materiales mínimos para realizar el diagnóstico.

- Si hay cambios en la plantilla del personal responsable del diagnóstico por IFD sin notificación previa al InDRE.
 - A los LESP que aplique, si obtienen una calificación menor a 90% en el control de calidad mensual enviado al InDRE.
- El LESP tendrá la responsabilidad de enviar al laboratorio de rabia del InDRE su plan de acción. El InDRE solicitará al LESP implemente de nuevo el control de calidad, enviando el 5% de las muestras negativas y el 100% de las positivas durante 6 meses, el LESP solicitará capacitación en servicio para el personal responsable del diagnóstico de rabia en el InDRE por un lapso de una semana y finalmente se programará una visita al LESP para evaluar sus instalaciones, equipo y metodología.
 - Cada vez que se incorpore personal de nuevo ingreso al diagnóstico de rabia, es obligación del Laboratorio Estatal notificar al InDRE y enviar a dicho personal a la capacitación correspondiente, de no hacerlo así se llevarán a cabo acciones que pueden llegar hasta la suspensión de la liberación del diagnóstico.
 - Si algún laboratorio estatal por alguna razón no asistiera al curso solicitado de capacitación y no informe de manera escrita la cancelación de dicho curso, se llevarán a cabo acciones que pueden llegar hasta la suspensión de la liberación del diagnóstico.
 - El porcentaje de muestras a enviar al InDRE es el que se establece en el Manual del Boletín Caminando a la Excelencia.

BANCO DE MATERIAL BIOLÓGICO EN EL InDRE

El objetivo del banco de muestras biológicas es mantener todos los especímenes recibidos en el InDRE, dentro de un orden y conservación, a través de un etiquetado que incluye el número asignado en el laboratorio, su origen, procedencia, especie y año.

Los tejidos deben conservarse en ultracongeladores a -70°C (de preferencia) en contenedores a prueba de derrames correctamente identificados y en almacenes de acceso restringido y controlado. Los

sobrenadantes infectados con el virus de la rabia deben almacenarse a -70°C en contenedores cerrados herméticamente, correctamente identificados y en almacenes de acceso restringido y controlado. Todas las muestras almacenadas en los LESP deberán mantenerse entre -20°C a -70°C .

Las muestras negativas se congelan (-20°C) por un periodo de 3 meses, una vez cumplido este tiempo se deben desechar de acuerdo a lo establecido en los lineamientos de para el manejo seguro de residuos peligrosos biológico infecciosos (RPBI) y deberá registrarse en la bitácora de registro de muestras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Baer M. G. The natural history of rabies, 2a. Ed. CRC, Press. Boca Raton, Fla. 1991.
2. Beltrán FJ, Dohmen FG, Del Pietro H, Cisterna DM. Diagnosis and molecular typing of rabies virus in samples stored in inadequate conditions. J Infect Dev Ctries 2014; 8(8):1016-1021 doi:10.3855/jidc.4136.
3. Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina 4ª. Ed. CDC – NIH 2006.
4. Blendon D., Creech W., Torres-Anjel M. Use of immunofluorescence examination to detect rabies virus antigen in the skin of humans with clinical encephalitis. J. Infect. Dis. 1986;154: 698-701.
5. Bourhy H., Sureau P. Métodos de laboratorio para el diagnóstico de la rabia. Instituto Pasteur. Paris. 1993.
6. Dean D.J., M. K. Ableseth, P. Atanasiu. The Fluorescent Antibody Test. 1996 p.88-95.
7. De Mattos Carlos. De Mattos Cecilia. Técnicas moleculares para caracterización del virus rábico. OPS y OMS, 1996.
8. Jackson Alan and Wunner W.H. Rabies. Second Edition. Associates Press. 2007.
9. Manual de Bioseguridad en Laboratorio 3a. Edición. OMS. 2005.
10. Manual para la Toma, Envío y Recepción de Muestras para Diagnóstico (REMU-MA-01) editado por el InDRE, México 2014.
11. Meslin F. X., M. M. Kaplan and H. Koprowsky. Laboratory Techniques in Rabies. 4th ed. World Health Organization. Geneva; 1996.
12. Pathak S, Horton DL, Lucas S, Brown D, Quaderi S, Polhill S, Walker D, Nastouli E, Núñez A, Wise EL, Fooks AR, Brown M. Diagnosis, management and post-mortem findings of a human case of rabies imported into the United Kingdom from India: a case report. Virol J. 2014; 7:11:63 doi: 10.1186/1743-422X-11-63.
13. Rupprecht C. E., Glickman L. T., Spencer P. A., Wiktor T. J. Epidemiology of rabies virus variants. Differentiation using monoclonal antibodies and discriminant analysis. Am. J. of Epidemiol. 1987;126:298-309.
14. Velasco-Villa, A., Orciari, y col. Molecular Epizootiology of rabies associated with terrestrial carnivores in México. Virus Research 2005. 111: 13-27.
15. Miller MJ, et al. Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories. MMWR Surveill Summ. 6; 61:1-102; 2012.
16. Weir DL, Annand EJ, Reid PA, and Broder CC. Recent Observations on Australian Bat Lyssavirus tropism and viral entry. Viruses 2014; 6:909-926; doi: 10.3390/v6020909.
17. Guidelines for Biosafety Laboratory Competency. MMWR. Supplement/Vol. 60; 2011.
18. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014; Geneva: WHO Press; 2012.
19. Chosewood C & Wilson DE. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – 5th ed. CDC-NIH; 2009.
20. European Committee for Standardization. CWA 15793:2011 Laboratory biorisk management standard. Brussels: CEN; 2011.

21. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual – 3rd ed. Geneva: WHO Press; 2004.
22. Kalika L. Bandamwar, Eric B. Papas, Qian Garrett. Fluorescein staining and physiological state of corneal epithelial cells. June 2014. Contact lens journal. Volume 37, Issue 3, Pages 213–223
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/es/> revisada el día 11 de noviembre de 2016.
Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Manuel Martínez Baéz”, Resumen de Actividades 1989-1994. 1994. México, DF. 158pp.

ANEXOS

Anexo I: Bioseguridad en el Laboratorio de Rabia

Una vez que la muestra se ha recibido en el laboratorio, es responsabilidad del personal asegurar que las actividades se realicen en un ambiente seguro y ordenado, lo cual se logra con recurso humano calificado y entrenado técnicamente en prácticas de bioseguridad que generan seguridad para su bienestar, el de sus colegas, la comunidad, el ambiente y los bienes.

Todas las muestras para el diagnóstico de rabia deben ser consideradas como potencialmente infecciosas y ser manipuladas de manera apropiada

siguiendo las prácticas estandarizadas para laboratorios de nivel de bioseguridad 2 establecidas en los *Lineamientos para la gestión del riesgo biológico*.

Anexo II: Técnicas de Diagnóstico

El diagnóstico de rabia se realiza mediante las técnicas diagnósticas de Inmunofluorescencia Directa (IFD), Caracterización Antigénica, Prueba Biológica, Aislamiento viral en Cultivo Celular, RT-PCR y Secuenciamiento Nucleotídico.

Procedimiento para la Determinación de la Dilución Óptima de Trabajo del Conjugado Antirrábico

La titulación del conjugado antirrábico tiene como propósito determinar la dilución de trabajo del producto biológico. Esto se logra al encontrar una buena sensibilidad de 4+ a la dilución máxima del conjugado, en la cual se puede detectar sin posibilidad de error cualquier forma en la que se encuentre el antígeno del virus de la rabia: cuerpos obloides (acúmulo de proteína N), polvo antigénico. Así mismo, en dicha dilución la inespecificidad del conjugado debe ser nula sobre la impronta negativa.

Procedimiento

1. Encender la cabina de bioseguridad.
2. Limpiarla con una solución de etanol etanol:benzal (70:30) y colocar un apósito (toalla absorbente).
3. Reconstituir el conjugado con el volumen que indique el fabricante y realizar la titulación de acuerdo a sus instrucciones. En caso de no contar con el inserto se recomienda seguir los siguientes puntos:
4. Marcar 2 portaobjetos de teflón con 8 pozos con las diferentes diluciones 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64 1:128 y 1: 256. Uno con el control positivo y el otro con un control negativo.
5. Descongelar los controles: positivo (encéfalo de un roedor con positividad de 4+) y negativo ambos deben ser material de referencia MR.

6. Hacer improntas en los pozos de los portaobjetos rotulados con la dilución 1:2, hacer lo mismo hasta el marcado con 1:256. Hacer lo mismo con una muestra de cerebro negativa.
7. Colocar los portaobjetos en una rejilla y luego en una caja para tinción con acetona a -20° C durante 30 minutos. Secar al aire.
8. En una microplaca de 96 pozos, se selecciona la primera hilera y se rotulan 8 pozos, indicando en el primer pozo la dilución 1:2; en el segundo 1:4; en el tercero 1:8; en el cuarto 1:16; en el quinto 1:32; en el sexto 1:64 en el séptimo 1:128; y en el octavo 1: 256.
9. Agregar a los 8 pozos 50 µL de solución de trabajo de yoduro de propidio 1:10.
10. Agregar al primer pozo (marcado como 1:2) 50 µL de conjugado, homogenizar y pasar al siguiente pozo (marcado como 1:4) 50 µL de esa dilución. Este proceso se repite hasta el pozo marcado como 1:256.
11. Colocar una gota de la dilución 1:2 en una de las improntas positivas y hacer lo mismo con la dilución 1:2 en la otra impronta negativa. La gota debe cubrir toda la superficie de la impronta; Los pasos se repiten hasta la dilución 1:256.
12. Apagar el gabinete de bioseguridad.
13. Incubar las preparaciones a 37 °C durante 30 minutos en una cámara húmeda.
14. Colocar los portaobjetos en una rejilla y lavar suavemente con PBS pH 7.4 por 20 segundos. Colocar nuevamente en una caja de tinción con PBS pH 7.4 limpio, lavar agitando suavemente durante 20 segundos.
15. Lavar con agua destilada, agitando suavemente durante 20 segundos.
16. Realizar un segundo lavado con agua destilada, agitando suavemente durante 20 segundos.
17. Secar al aire.
18. Agregar una gota de líquido de montaje sobre cada impronta y colocar un cubreobjetos.

19. Encender el microscopio de epifluorescencia según instructivo y observar a 400 aumentos (objetivo 40X y ocular 10X), comenzando por la dilución 1:2 de las improntas.

La dilución óptima del biológico es la última impronta donde se observa una fluorescencia específica 4+ (90 % de afinidad específica), polvo antigénico e hilos a una intensidad verde manzana muy brillante, mientras que en la correspondiente negativa no se debe de observar fluorescencia alguna. Se observa el fondo oscuro, y solo se distingue la presencia de los núcleos celulares de color rojo-naranja por la presencia del yoduro de propidio.

Nota: si en la última dilución (1: 256) se observara una lectura de 4+ se recomienda realizar más diluciones.

20. Una vez que se determinó la dilución óptima, el conjugado se almacena en alícuotas (según las necesidades de trabajo) para evitar congelar y descongelar todo el reactivo ya que esto provoca baja afinidad específica del mismo.

21. Registrar el resultado en la Bitácora para Registro de Resultados de Titulación del Conjugado.

Interpretación de resultados

Las muestras evaluadas con este conjugado muestran que a una dilución 1:32, las lecturas se mantienen con los parámetros de 4+ para la intensidad del fluorocromo, mientras que en la dilución 1:64, la intensidad del fluorocromo bajó, aunado a que no existe fluorescencia inespecífica en el control negativo, esto indica que la dilución óptima de trabajo es 1:32. (Tabla 3).

Tabla 3. Determinación de la Dilución Óptima de Trabajo del Conjugado Antirrábico

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
Control negativo	-	-	-	-	-	-	-	-

CVS	4+	4+	4+	4+	4+	3+	2+	-
-----	----	----	----	----	----	----	----	---

Se valora la Intensidad del fluorocromo

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Solución amortiguadora de fosfatos (PBS), pH 7.4:

Pesar 8.3 g de cloruro de sodio (NaCl) y 1.13 g de fosfato de sodio dibásico (Na₂HPO₄) y 0.3 g. de fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄); disolver los reactivos en 700 ml de agua destilada, ajustar el pH a 7.4 agregando NaOH o HCl según se requiera y aforar a un litro.

Yoduro de Propidio (colorante de contraste):

Pesar 100 µg y disolver en 1 mL de agua bidestilada para la solución madre. Diluir 1:10 para la solución de trabajo.

Mantener en frasco protegido de la luz a 4 °C.

Solución desinfectante de etanol al 70% en benzal:

Medir 700 mL de alcohol absoluto o 729.16 mL de etanol al 96%

Aforar a 1L con benzal comercial.

Técnica de inmunofluorescencia directa (IFD)

Principio del método

La Inmunofluorescencia directa (IFD) es un método que se emplea para la detección de antígenos en donde se observa la unión antígeno-anticuerpo el cual emite fluorescencia al incidir de luz ultravioleta. En éste método en particular se emplea un reactivo comercial "FITC, Anti-Rabies Monoclonal Globulin FDI, REF 800-092, FUJIREBIO. DIAGNOSTICS, Inc." que permite

identificar péptidos de la proteína N del virus de la rabia, mediante interacciones antígeno anticuerpo con mezclas de anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína.

Sistema de muestra primaria

Post mortem

1. Encéfalo completo
2. Asta de Ammón
3. Hipocampo
4. Cerebelo
5. Bulbo raquídeo
6. Médula espinal

Ante mortem

1. Improntas de córnea.

En caso de que las improntas de córneas no lleguen fijadas se sumergirán en acetona a -20° C durante 30 min.

Tipo de contenedor y aditivos

Todas las muestras deben ser enviadas conforme al manual de toma y envío de muestras (REMU-MA-01) 2012, apartado “Manual para la Toma, Envío y Recepción de Muestras para Diagnóstico”

www.indre.salud.gob.mx/interior/publicaciones_tecnicas.html

Objetivo

Identificar antígenos proteicos del virus mediante mezclas de anticuerpos monoclonales conjugados a fluoresceína de todo el sistema de muestras primarias.

Equipo e instrumentos de medición

- Gabinete de Bioseguridad, Clase II Tipo A2.

- Incubadora a 37°C
- Microscopio de Epifluorescencia
- Medidor de pH
- Congelador/ Ultracongelador (-20 °C y -70 °C)
- Refrigerador
- Micropipeta de 100-1000µl
- Micropipeta de 10-100µl

Materiales

- Abatelenguas de madera
- Algodón
- Aplicadores de madera
- Cámara húmeda para laminillas
- Contenedores con porta laminillas (rejilla) para tinción
- Cubreobjetos
- Gasa
- Gradilla
- Guantes de exploración (látex)
- Jarra de plástico de 2L
- Lápiz de tinta libre de xilol
- Lápiz punta de diamante
- Marcador indeleble sin alcohol
- Matraz Erlenmeyer de 4L
- Pizetas de 250 mL
- Papel absorbente

- Portaobjetos biselados
- Puntas para micro-pipeta de 20 μ L, 200 μ L y 1000 μ L
- Tijeras y pinzas de disección
- Tubo con tapa de rosca de 1.8 mm de diámetro y capacidad de 5 mL (Crioviales)
- Vaso de Copling

Reactivos y materiales biológicos

- Acetona (CH_3)₂CO
- Ácido clorhídrico (HCl)
- Agua destilada
- Alcohol etílico ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) de 96°
- Cloruro de Sodio (NaCl)
- Éter etílico
- Fosfato de Potasio monobásico (KH_2PO_4)
- Fosfato de Sodio monobásico (NaH_2PO_4)
- Glicerina para microscopía de fluorescencia ó Líquido de Montaje de Light Diagnostics, Millipore (cat. 5013).
- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Solución germicida de uso quirúrgico (cloruro de benzalconio)
- Anticuerpos monoclonales conjugados a fluoresceína (1 vial, FITC, Globulina Monoclonal Antirrábica liofilizada, reconstituida con 5.0 ml de agua destilada), FDI, REF 800-092, FUJIREBIO. DIAGNOSTICS, Inc.”
- Control Positivo: Alícuotas de 0.5ml de encéfalo de ratones infectados con cepa de rabia CVS
- Control Negativo: Alícuotas de 1.5ml de encéfalo de ratones no infectados.

Preparación de soluciones.

a) Solución amortiguadora de fosfatos (PBS) pH 7.4

1. Pesar 8.3 g de cloruro de sodio (NaCl) y 1.13 g de fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4)

y 0.3 g. de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4);

2. Disolver los reactivos en 700 mL de agua destilada.

3. Ajustar el pH a 7.4 con NaOH o HCl concentrados según se requiera y aforar a un litro.

4. Si sólo se dispone de Na_2HPO_4 entonces se pesarán 1.48 g para un litro y 5.92 g para 4 litros.

b) Solución desinfectante de etanol:benzal (70:30)

- Medir 700 mL de alcohol absoluto o 729.16 mL de etanol al 96%

- Aforar a 1.0 L con benzal comercial.

Procedimiento del método de IFD

1. Encender el gabinete de bioseguridad como indica el instructivo.

2. Desinfectar la base interna del gabinete de bioseguridad con la solución desinfectante y colocar un apósito (toalla absorbente).

3. Etiquetar las muestras que se van a analizar y los viales para almacenar muestras, marcar un portaobjetos por espécimen a analizar.

4. Preparar un vaso de Copling de 50 mL con solución desinfectante (Etanol:Benzal 70:30). Colocarlo en el lugar de trabajo junto con las tijeras, pinzas de disección y torundas de algodón.

5. Preparar abatelenguas para colocar los cortes de tejido y cortar papel absorbente para quitar el exceso de tejido de las improntas.

6. Sacar el encéfalo del recipiente y colocarlo de forma tal, que se identifiquen claramente las circunvoluciones de ambos hemisferios.

7. Hacer un corte profundo a lo largo de la primera circunvolución. Separar la corteza e identificar el asta de Ammón hacia la base. Esta región del encéfalo se observa de color blanco nacarado y al hacer un corte transversal sobre ella se descubre un centro rosado o rojo, colocar el corte de canto en un abatelenguas.

8. Realizar cortes del cerebelo y de la médula seleccionando porciones de la región central colocándolos sobre el abatelenguas.

Nota: Realizar cortes del asta de Ammón, cerebelo y médula, colocarlos en los crioviales de 5 ml, previamente etiquetados, para ser entregados al Banco de Muestras.

9. Limpiar las pinzas y tijeras de disección con algodón impregnado de solución desinfectante entre muestra y muestra. Esperar hasta que se seque el exceso de solución desinfectante y procesar la siguiente muestra.

Nota: El algodón en torunda utilizado se desecha en bolsa amarilla por contener tejido patológico infeccioso.

10. Hacer una impresión del canto interno del tejido (de aproximadamente 0.5 cm de diámetro) de cada región anatómica seleccionada (médula, cerebelo y asta de Ammón).

11. Quitar el exceso de tejido con un pedazo de papel absorbente, presionando la impronta y dejar secar al aire.

12. Preparar los controles positivos y negativos a partir de las alícuotas previamente hechas. Este debe tener una cantidad de antígeno de 4+ (90% de antígeno por campo).

13. Colocar los portaobjetos en la rejilla de una caja de tinción con acetona a -20 °C durante 30 minutos.

14. Reconstituir el conjugado a la dilución de trabajo previamente descrito. En esta etapa el conjugado debe haber sido previamente titulado y almacenado en alícuotas.

15. Sacar los portaobjetos en acetona de la caja de tinción y dejar secar.

16. Circunscribir las improntas con un lápiz graso de color o tinta indeleble para delimitar las áreas de las improntas (solo en caso de no contar con laminillas teflonadas).
17. Agregar a las tres improntas de 20 a 25 μ L de conjugado de manera que cubra toda la impronta.
18. Incubar los portaobjetos en una cámara húmeda por 30 min a 37 °C.
19. Colocar los portaobjetos en una rejilla y lavar con PBS pH 7.4, agitando manualmente por 20 segundos.
20. Repetir el paso anterior cambiando el PBS.
21. Repetir los pasos 19 y 20 colocando agua destilada.
22. Dejar secar las preparaciones y agregar una gota de glicerina o líquido de montaje sobre cada impronta y colocar un cubreobjetos para cubrir todas las improntas.
23. Limpiar la cabina de bioseguridad con solución desinfectante y apagar.
24. Leer en un microscopio de epifluorescencia con el objetivo 40X.
25. La actividad óptima del conjugado se demuestra si el control positivo presenta fluorescencia específica en un 90 % de los campos, el control negativo no presenta fluorescencia específica, se observa el fondo oscuro, y solo se distingue la presencia de los núcleos celulares de color rojo-naranja por la presencia del yoduro de propidio.
26. Todo el material que estuvo en contacto con los residuos patológicos se disponen según el Manejo Interno de RPBI.
27. Reportar resultados.

Interferencias

Las muestra putrefactas pueden presentar estructuras pequeñas circulares con forma de cocos o en fila con un contorno redondo definido y una fluorescencia intensa color verde manzana con un patrón regular sin coloración en su centro, esto significa que la muestra está contaminada con bacterias, principalmente *Staphylococcus aureus*. Esta bacteria produce una proteína que tiene afinidad por la región Fc de cualquier anticuerpo (proteína A del *S. aureus*), por lo que el conjugado se pega en toda su superficie

definiendo claramente el contorno de la misma. En este caso la muestra es inadecuada.

Intervalo reportable

Negativo o Positivo.

Valores de alerta críticos

Un resultado positivo se notifica de manera inmediata a la institución solicitante del servicio.

Interpretación de resultados

Positivo: Se observa la presencia de cuerpos ovoides de color fluorescente verde manzana intensa en su perímetro y fluorescencia débil en el centro. En algunos casos se observa polvo antigénico. (Figura 7).

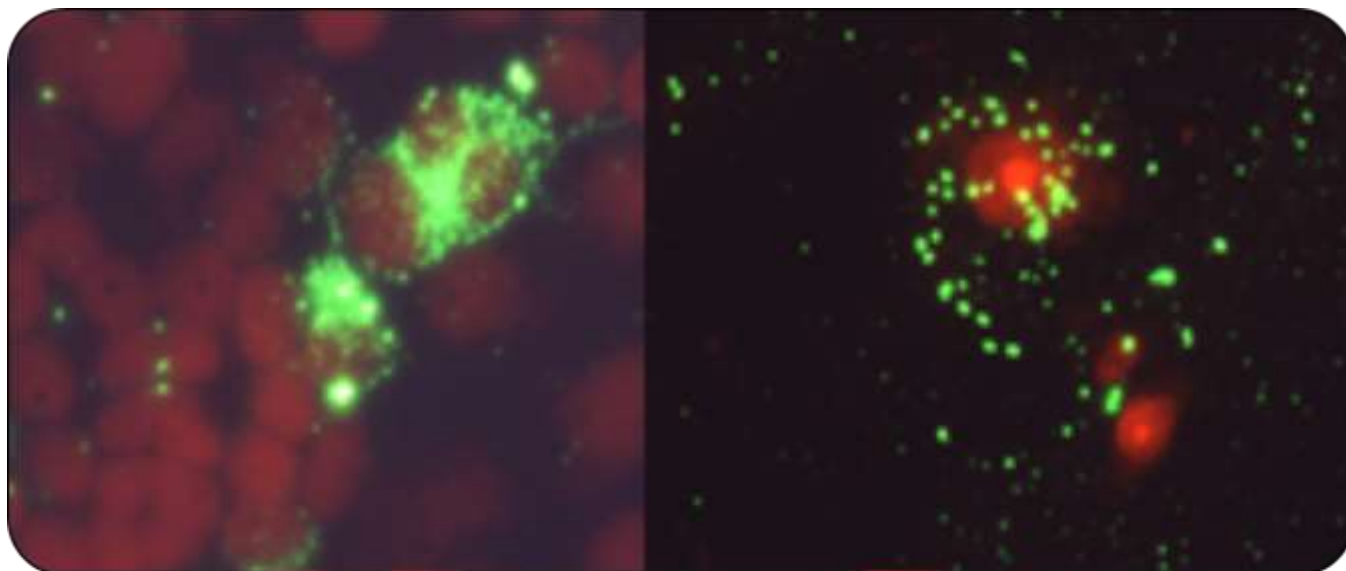
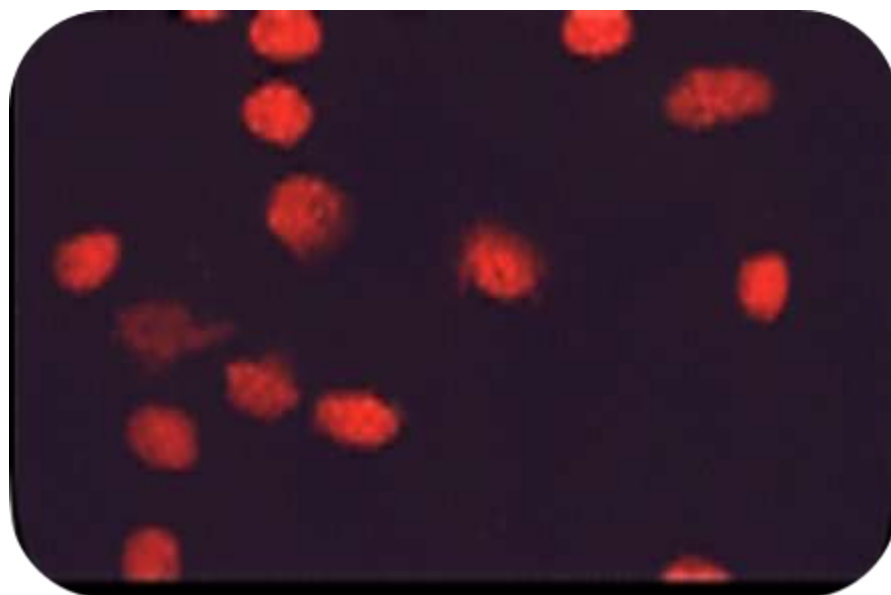


Figura 7. Resultados positivos por Inmunofluorescencia directa

Negativo: ausencia de formas de color fluorescente verde manzana. Solo se distingue la presencia de los núcleos celulares de color rojo-naranja por la presencia del yoduro de propidio. Se puede llegar a observar otro tipo de luminosidad, por ejemplo: en animales con moquillo se observan inclusiones amorfas y abundantes de color amarillo, la acumulación de insecticidas neurotrópicos se observan como cristales de coloración que varía de rojos a amarillos (Figura 8).



Prueba
(PB)

biológica

Figura 8. Resultado negativo por Inmunofluorescencia directa

Principio del método

Esta prueba se aplica en todas las muestras de seres humanos donde se refiere encefalitis y en los que exista el antecedente de posible infección por el virus rábico, muestras de humano analizadas por IFD que hayan sido negativas y positivas. Al inocular una suspensión de estas muestras en el encéfalo de los ratones lactantes, se incrementará la cantidad de virus que originalmente estaba presente, debido a la replicación del virus dentro de las neuronas del ratón, lográndose su detección mediante IFD.

El procedimiento de la PB involucra la inoculación del virus por vía intracerebral a ratones albinos, suizos de tres días de edad. A los 28 días en promedio, aunque puede ser hasta los 40 días de vida, se debe observar parálisis; pelo erizado y encorvamiento. Cuando estos signos se presentan, los ratones se sacrifican y se realiza la prueba de IFD en el encéfalo.

Aislamiento del Virus de Rabia en Células de Neuroblastoma Murino

Principio del método

Las células de neuroblastoma, son muy sensibles a la infección por Lyssavirus. Las células se cultivan en Medio Mínimo de Eagle modificado por Dulbecco (D-MEM) en presencia de 10% de suero fetal bovino (SFB) y se incuban a 37 °C con 0.5% de CO₂, pueden llevarse a cabo pruebas de cultivo celular en placas de plástico con múltiples pozos, portaobjetos de vidrio con múltiples pozos o botella de plástico. Se ha observado que la utilización de pases bajos tienen alta sensibilidad de detección del virus de la rabia; sin embargo se realizan varios pases de la infección con una muestra para aumentar la sensibilidad. La toxicidad es un factor limitante de la robustez de la prueba que se observa con frecuencia.

Caracterización Antigénica del Virus de la Rabia por Inmunofluorescencia

Principio del Método

Mediante la utilización de monoclonales dirigidos contra diferentes epítomos de la proteína N del virus de la rabia y un anticuerpo (anti IgG) de ratón marcado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) se determina el reservorio responsable de la transmisión de la enfermedad.

Los anticuerpos monoclonales (AcMo) son moléculas producidas por híbridos producto de la fusión de un mieloma y un esplenocito hiperinmune.

Cuando estos AcMo se emplearon para analizar su reactividad contra los virus aislados de diferentes reservorios; perro, zorrillo, mapache, zorro, murciélago hematófago e insectívoro, se encontró que algunos reconocían todas las cepas virales, pero otros poseían una reactividad específica para un solo tipo de reservorio. De esta manera al utilizar un grupo o panel de anticuerpos se pueden determinar patrones de reacción también denominados patrones antigénicos, los cuales son específicos dependiendo de la especie animal (reservorio) de la cual se ha aislado el virus. Esto se pudo determinar gracias al estudio de un gran número de cepas virales, aisladas de diferentes especies de animales en todo el continente Americano.

Al inicio éste panel estaba constituido por más de 100 anticuerpos. Sin embargo, estudios conjuntos entre el CDC de Atlanta Georgia y el Instituto

Nacional Para la Protección de Alimentos y Zoonosis de Buenos Aires Argentina (INPPAZ) permitieron la reducción a ocho del número de anticuerpos utilizados. Con éste panel se pudo determinar la existencia de variantes antigénicas del virus de la rabia dentro de la especie uno, además de la asociación específica existente entre las variantes antigénicas y algunas especies de animales en América.

La técnica de caracterización con anticuerpos monoclonales (AcMo) se utiliza exclusivamente para investigaciones epidemiológicas. Su utilidad se hace evidente donde la información es limitada, dudosa o inexistente. Actualmente se usa para confirmar la fuente de infección en cualquier caso de rabia.

Para obtener resultados oportunos es importante disponer de una muestra de encéfalo fresca y en buen estado de conservación, lo cual garantiza la presencia del virus viable y permite el desarrollo rápido de la técnica.

Técnica de Retro-transcripción de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR)

Principio del Método

La RT-PCR es un método que nos permite amplificar un fragmento del gen N del virus de la rabia, esto se lleva a cabo en dos etapas: en la primera se utiliza la Transcriptasa Reversa para obtener cDNA a partir de un molde de RNA. La segunda etapa se lleva a cabo con la enzima Taq Polimerasa para obtener DNA de doble cadena y se realiza en tres etapas:

Desnaturalización: La muestra se somete a una temperatura de ebullición de 94°C, en donde la doble la cadena de DNA se separa.

Alineación: Al bajar la temperatura a 55°C se incorporan los iniciadores y se alinean a los extremos 5´ y 3´ terminal del fragmento que se desea amplificar.

Extensión: Se lleva a cabo a 72°C, temperatura óptima en la que la Taq polimerasa junto con el cofactor catiónico MgCl₂ incorpora los desoxinucleótidos (dTTP, dGTP, dATP, dCTP) para formar la nueva cadena.

- Extracción y purificación del ARN

La extracción y purificación del ARN del virus de la rabia se lleva a cabo mediante la utilización de agentes caotrópicos que permiten la eliminación de material orgánico, así como también de las diferentes cápsides que conforman al virus de la rabia, dejando libre al ARN el cual puede ser solubilizado en agua grado PCR, quedando listo para su posterior utilización en las diferentes técnicas de biología molecular.

Secuenciación nucleotídica automática

Secuenciación automática de ADN de un producto de PCR de 900 pb del gen N del virus de la rabia

La secuenciación del ADN es un conjunto de métodos cuya finalidad es la determinación del orden de los nucleótidos; A, C, G y T, en un fragmento de ADN.

Anexo III. Solicitud de insumos de rabia

Política para la solicitud de insumos de rabia

La Coordinación de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (CRNL) del InDRE, tiene como política, proporcionar un servicio de calidad y respuestas oportunas para los laboratorios integrantes de la Red, así como de los particulares que requieren de los servicios que proporciona el InDRE. La red está integrada dentro del sistema de gestión de calidad y observa los procedimientos vigentes y busca la mejora continua de su servicio. Para cumplir con este propósito se observarán con los siguientes lineamientos:

Los laboratorios estatales de salud pública:

1. Solicitar por escrito sus insumos para el diagnóstico de rabia a través de un oficio dirigido a el/la Director General Adjunto del InDRE; con atención al Coordinador de la Red Nacional de Salud Pública de rabia.
2. Deberán enviar su solicitud a más tardar el día jueves de la semana anterior al envío.

3. Deben enviar su solicitud por correo ordinario, para poder darle trámite de forma oficial sin embargo, para asegurar una respuesta oportuna se les solicita hacer el envío de sus oficios de solicitud escaneados (con número de folio ya asignado y rubricados) por e-mail al correo electrónico crnl.indre@salud.gob.mx.
4. Deberán indicar de forma explícita los insumos que requieren.
5. Tendrán que asegurar que sus mensajerías tengan un tiempo de entrega de 24 horas para las solicitudes de reactivos.
6. Deben asegurarse que los envíos sean en no más de 48 horas.
7. En caso de tener solicitudes expeditas justificadas y que planee venir por los insumos al Instituto debido a la premura de tenerlos en existencia en el laboratorio de la entidad deberá enviar su solicitud, con 24 horas de antelación y en horario laboral de 8:00 a 16:00 horas, para que se puedan gestionar sus requerimientos.
8. Será responsable de sancionar a la mensajería contratada y si fuera el caso recuperar el costo de los daños ocasionados, en caso de retraso y/o extravío del insumo solicitado.
9. Deben indicar a la coordinación de la Red, el o los correo(s) electrónicos del contacto con el que se mantendrá comunicación permanente para atender sus necesidades de insumos para el diagnóstico de rabia.
10. Debe informar al InDRE de los problemas que pudieran tener con el sistema de diagnóstico implementado por descompostura o falta de calibración, con la finalidad de darle seguimiento a su problemática.
11. Hacer los envíos los días martes y miércoles de cada semana, para lo cual deberemos de contar con su solicitud a más tardar el día jueves de la semana anterior al envío.
12. El InDRE informará al laboratorio estatal vía correo electrónico, el número de guía, hora y servicio de mensajería, inmediatamente después de que el paquete haya sido enviado. Con la finalidad de que el laboratorio estatal este enterado que su solicitud ya fue atendida.
13. El InDRE proporcionará la información técnica y la de los posibles proveedores de los insumos con los que no cuente (en caso de que cuenten

con ella), para que el laboratorio estatal pueda solventar sus necesidades de forma directa. Esta información se le enviará vía correo electrónico y por oficio en caso de ser necesario.

14. El InDRE a través de la CRNLSP hará el contacto con las áreas técnicas correspondientes para la información de cursos de capacitación.

El área técnica del InDRE

1. Deberá de tener un tiempo de respuesta no mayor a 24 horas una vez que se ha recibido la solicitud de insumos por parte de la coordinación de la RNLSP.

2. Deberá tener los materiales previamente autorizados, de las solicitudes respectivas, los cuales deberán estar debidamente embalados en cajas de cartón.

3. Deberá rotular las cajas de envío con los datos del remitente y del lugar a donde se manda.

4. Deberá entregar sus paquetes a la CRNLSP a la hora acordada, esto dependerá de cada mensajería.

5. Tendrán que hacer los envíos de reactivos para IFD y caracterización antigénica utilizando una hielera, con suficientes refrigerantes para asegurar que el envío llegue en buenas condiciones. En caso de que la hielera se envíe como un solo envío esta deberá ir a su vez en una caja de cartón para asegurar la integridad de la misma y por tanto de cada uno de los reactivos.

6. Debe asegurar el contar con suficiente material de empaque para sus envíos; cajas de 60 cm x 90 cm x 60 cm; 90 cm x 150 cm x 150 cm; hielera con caja de 20 cm x 30 cm x 30 cm y hieleras con caja de cartón de 15 cm x 22 cm x 20 cm; así como cinta canela.

7. Proporcionará la información solicitada a la CRNLSP sobre las capacitaciones, así como dudas técnicas de este diagnóstico en un tiempo no mayor de 24 horas. Para poder hacer las respuestas a los laboratorios estatales en tiempo y forma.

Anexo IV. Formatos





Secretaría de Salud
Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud
Dirección General de Epidemiología
Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
"Dr. Manuel Martínez Báez" (InDRE)
 Prolongación de P. Morelos 177, Col. Lomas de Pedernales, C.P. 05400
 Tel.: (0222) 5062-1800 ext. 19386 Fax: (0222) 5062-0043
www.indre.salud.gob.mx indre@salud.gob.mx

FORMATO ÚNICO PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS
DATOS DE LA INSTITUCIÓN SOLICITANTE

HEM01-F-1204

No. de paquete: _____		Fecha de envío: ____/____/____	
Institución solicitante: _____			
Calle: _____		Colonia: _____	
Municipio: _____		Estado: _____ C.P. _____	
Teléfono: _____		Fax (indispensable): _____ E-mail: _____	
Nombre del médico solicitante: _____			

DATOS DEL PACIENTE

Nombre y/o Referencia: _____			
Nombre(s): _____		Apellido Paterno: _____	
Apellido Materno: _____		Colonia: _____	
Domicilio: _____		Estado: _____	
Municipio: _____		Localidad: _____ C.P. _____	
Fecha de nacimiento: ____/____/____		o Edad: ____ Años ____ Meses ____ Días	
Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> I		CURP: _____	
Entidad de nacimiento: _____		Nacionalidad: _____	
Hospitalizado: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		Situación: <input type="checkbox"/> Vivo <input type="checkbox"/> Muerto	

INFORMACIÓN SOBRE LA MUESTRA

Justificación del envío: <input type="checkbox"/> Diagnóstico <input type="checkbox"/> Referencia <input type="checkbox"/> Control de calidad		Tipo de Vigilancia: <input type="checkbox"/> Rutina <input type="checkbox"/> Brote <input type="checkbox"/> Contingencia	
Origen: <input type="checkbox"/> Humana <input type="checkbox"/> Animal <input type="checkbox"/> Alimento <input type="checkbox"/> Ambiental			
Tipo de muestra: <input type="checkbox"/> Plasma <input type="checkbox"/> Suero <input type="checkbox"/> Orina <input type="checkbox"/> Cepa <input type="checkbox"/> Hisopo <input type="checkbox"/> LCR <input type="checkbox"/> Espula <input type="checkbox"/> Cerebro <input type="checkbox"/> Hemocultivo			
<input type="checkbox"/> Saliva <input type="checkbox"/> Exudado faríngeo <input type="checkbox"/> Exudado nasofaríngeo <input type="checkbox"/> Biopsia <input type="checkbox"/> Laminilla <input type="checkbox"/> Gargatoma <input type="checkbox"/> Imprints			
<input type="checkbox"/> Sangre <input type="checkbox"/> Pel <input type="checkbox"/> Tejido cerebral <input type="checkbox"/> Pel cabelluda <input type="checkbox"/> Lavado nasofaríngeo <input type="checkbox"/> Agua			
Heces: <input type="checkbox"/> Sólidas <input type="checkbox"/> Pastosas <input type="checkbox"/> Líquidas			
Otras: _____			
Cantidad o volumen: _____		Fecha de toma: ____/____/____	
		Fecha de inicio de síntomas: ____/____/____	

DIAGNÓSTICO SOLICITADO

Impresión diagnóstica: _____	
Estudio solicitado: _____	
Clase: _____	Descripción: _____

INFORMACIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO

Estudios realizados previamente: _____	
Vive en zona endémica: _____ ¿Se presentó algún tipo de paratífico? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
Fecha de inicio de la paratífico: ____/____/____ ¿Ha estado en contacto con casos similares? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Se ignora	
En caso afirmativo indique la fecha: ____/____/____ y el lugar geográfico: _____	
¿Efectuó algún viaje los días previos al inicio de la enfermedad? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No ¿Cuántos días antes? _____	
Especifique los lugares visitados: _____	
Ingestión de lácteos: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No ¿Cuáles?: _____ Ingestión de carne de res o cerdo: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
Exposición con animales: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No Especie animal: _____	

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA PARA EL DIAGNÓSTICO

En casos de sospecha de RABIA conteste lo siguiente: ¿Sufrió agresión por parte de algún animal? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No Fecha de la agresión: ____/____/____	
Especie agresora: _____	
Sitio anatómico de la lesión: _____ Núm. de personas que estuvieron en contacto con el animal: _____	
Edad del animal: _____ Fecha de muerte del animal: ____/____/____ Causa de la muerte: _____	
Tipo de vacuna: _____ Fecha de última dosis: ____/____/____ No. de caso: _____	
Datos clínicos del animal: <input type="checkbox"/> Agresividad <input type="checkbox"/> Frotabio <input type="checkbox"/> Anestibio <input type="checkbox"/> Hidrotibio <input type="checkbox"/> Salivación profusa <input type="checkbox"/> Incoordinación <input type="checkbox"/> Parálisis <input type="checkbox"/> Agresor <input type="checkbox"/> Víctima	

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA PARA EL DIAGNÓSTICO

<p>En caso de sospecha de Tuberculosis conteste lo siguiente:</p> <p>¿Ha recibido tratamiento antituberculoso? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso afirmativo indique cual(es):</p> <p><input type="checkbox"/> Estreptomicina <input type="checkbox"/> Isoniacida <input type="checkbox"/> Rifampicina <input type="checkbox"/> Etambutol</p> <p><input type="checkbox"/> Pirazinamida <input type="checkbox"/> Etionamida <input type="checkbox"/> Otras: _____</p> <p>Fecha última toma: ____/____/____</p>		<p>Gastrointestinal:</p> <p><input type="checkbox"/> Anorexia <input type="checkbox"/> Dolor abdominal <input type="checkbox"/> Constipación <input type="checkbox"/> Tenesmo</p> <p><input type="checkbox"/> Diarrea recurrente <input type="checkbox"/> Diarrea sanguinolenta <input type="checkbox"/> Mucosa</p> <p>Consistencia de diarrea: <input type="checkbox"/> Sólida <input type="checkbox"/> Pastosa <input type="checkbox"/> Líquida <input type="checkbox"/> Prolongada (>1 sem.)</p> <p>- No. de evacuaciones en las últimas 24 horas: _____</p> <p>- No. de evacuaciones en los últimos 15 días <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>- No. de cuadros diarreicos durante el año: _____</p> <p><input type="checkbox"/> Deshidratación: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Severa</p> <p>Num. de vómitos en las últimas 24 hrs. _____ Num. de días con vómito: _____</p> <p>Ha expulsado lombrices: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No Fecha de expulsión: ____/____/____</p> <p>Ha expulsado proglótidos: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No Fecha de expulsión: ____/____/____</p>	
<p>Antecedentes citopatológicos:</p> <p>Tipo de revisión: <input type="checkbox"/> Primera vez <input type="checkbox"/> Después de 3 años <input type="checkbox"/> Subsecuente</p> <p>Actividad sexual: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No Edad de inicio: _____</p> <p>Número de parejas sexuales: _____</p> <p>Antecedentes de Vacunación para VPH: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Fecha de vacunación: ____/____/____</p> <p>Sintomatología: <input type="checkbox"/> Ardor <input type="checkbox"/> Prurito <input type="checkbox"/> Secreción y/o Leucorrea</p> <p>Situación Gineco-obstétrica: <input type="checkbox"/> Puerperio o postaborto <input type="checkbox"/> Postmenopausia</p> <p><input type="checkbox"/> DIU <input type="checkbox"/> Uso de hormonas <input type="checkbox"/> Histerectomía <input type="checkbox"/> Embarazo actual</p> <p><input type="checkbox"/> Tratamiento farmacológico <input type="checkbox"/> Tratamiento colposcópico previo <input type="checkbox"/> Ninguno</p>		<p>Estadio de la enfermedad</p> <p><input type="checkbox"/> Agudo <input type="checkbox"/> Crónico <input type="checkbox"/> Sintomático <input type="checkbox"/> Asintomático <input type="checkbox"/> Localizado</p> <p><input type="checkbox"/> Diseminado <input type="checkbox"/> Recaída <input type="checkbox"/> Convaleciente <input type="checkbox"/> Defunción</p> <p>Otros: _____</p>	
<p>Factores de riesgo para infección por VIH:</p> <p><input type="checkbox"/> Pareja <input type="checkbox"/> Hepatitis <input type="checkbox"/> Transfusión <input type="checkbox"/> Hemofílico <input type="checkbox"/> Hijo de madre infectada</p> <p><input type="checkbox"/> Heterosexual <input type="checkbox"/> Homosexual <input type="checkbox"/> Bisexual <input type="checkbox"/> Sexoservidor(a)</p> <p><input type="checkbox"/> Uso de droga IV <input type="checkbox"/> Número de parejas _____</p>		<p>Hemorragias y otras alteraciones hematológicas:</p> <p><input type="checkbox"/> Fragilidad capilar <input type="checkbox"/> Petequias <input type="checkbox"/> Equimosis <input type="checkbox"/> Gingivorragia <input type="checkbox"/> Epistaxis</p> <p><input type="checkbox"/> Melena <input type="checkbox"/> Hematuria <input type="checkbox"/> Rectorragia <input type="checkbox"/> Hematemesis <input type="checkbox"/> Metrorragia</p> <p><input type="checkbox"/> Shock <input type="checkbox"/> Plaquetopenia <input type="checkbox"/> Hemocentración <input type="checkbox"/> Eosinofilia</p>	
<p>Fiebre:</p> <p>Fecha de inicio: ____/____/____ Temperatura: _____</p> <p>Duración: _____ Días Periodicidad: _____</p> <p>Signos y síntomas generales:</p> <p><input type="checkbox"/> Enfermedad crónica <input type="checkbox"/> Pérdida de peso <input type="checkbox"/> Fatiga <input type="checkbox"/> Artralgias</p> <p><input type="checkbox"/> Escalofrío <input type="checkbox"/> Mialgias <input type="checkbox"/> Sudoración profusa <input type="checkbox"/> Postración <input type="checkbox"/> Náuseas</p> <p><input type="checkbox"/> Dolor retroocular <input type="checkbox"/> Disminución de agudeza visual <input type="checkbox"/> Conjuntivitis</p> <p><input type="checkbox"/> Cefalea <input type="checkbox"/> Presencia de quiste/módulo <input type="checkbox"/> Uveítis <input type="checkbox"/> Geofagia</p> <p><input type="checkbox"/> Ictericia <input type="checkbox"/> Lesión en mucosas <input type="checkbox"/> Coriorretinitis <input type="checkbox"/> Esplenomegalia</p> <p><input type="checkbox"/> Hepatomegalia <input type="checkbox"/> Edema <input type="checkbox"/> Linfadenopatía (Cervical, Supradavicular o Retroauricular)</p>		<p>Tratamiento:</p> <p>¿Ha recibido tratamiento? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>¿Cuál? _____</p> <p>Fecha de inicio: ____/____/____ Fecha de término: ____/____/____</p> <p>Dosis <input type="checkbox"/> Convencional <input type="checkbox"/> Especial</p> <p>Especifique: _____</p>	
<p>Exantema y piel:</p> <p><input type="checkbox"/> Macular <input type="checkbox"/> Papular <input type="checkbox"/> Eritematoso <input type="checkbox"/> Vesicular <input type="checkbox"/> Pústula <input type="checkbox"/> Úlcera</p> <p><input type="checkbox"/> Costra <input type="checkbox"/> Presencia de nódulos <input type="checkbox"/> Koplik <input type="checkbox"/> Chagoma de inoculación</p> <p>Fecha de inicio: ____/____/____ Fecha de término: ____/____/____</p>		<p>Antecedentes vacunales:</p> <p>Tipo de vacuna: _____</p> <p>Fecha de primera vacuna: ____/____/____</p> <p>Fecha de última dosis: ____/____/____</p> <p>Notas adicionales:</p> <p>(Resultados de laboratorio y gabinete importantes en el caso)</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	
<p>Respiratorios:</p> <p><input type="checkbox"/> Congestión nasal <input type="checkbox"/> Rinitis <input type="checkbox"/> Rinorrea <input type="checkbox"/> Dolor o ardor de garganta</p> <p><input type="checkbox"/> Disfonía <input type="checkbox"/> Faringitis <input type="checkbox"/> Tos seca <input type="checkbox"/> Disnea <input type="checkbox"/> Neumonía</p> <p><input type="checkbox"/> Cianosis <input type="checkbox"/> Apneas <input type="checkbox"/> Tos productiva <input type="checkbox"/> Hemoptisis <input type="checkbox"/> Coriza</p>		<p>Fuente de información:</p> <p><input type="checkbox"/> Registro hospitalario <input type="checkbox"/> Vig. Epid. Activa <input type="checkbox"/> Certificado de defunción</p>	
<p>Cardiovascular:</p> <p><input type="checkbox"/> Miocarditis <input type="checkbox"/> Endocarditis <input type="checkbox"/> Pericarditis <input type="checkbox"/> Vasculitis <input type="checkbox"/> Flebitis</p>		<p>Servicios de atención:</p> <p><input type="checkbox"/> Consulta externa <input type="checkbox"/> Hidratación oral <input type="checkbox"/> Urgencias <input type="checkbox"/> Hospitalización</p>	
<p>Sistema Nervioso Central:</p> <p><input type="checkbox"/> Convulsiones <input type="checkbox"/> Incoordinación <input type="checkbox"/> Cambios de conducta <input type="checkbox"/> Fotofobia</p> <p><input type="checkbox"/> Meningitis <input type="checkbox"/> Hidrocefalia <input type="checkbox"/> Parálisis <input type="checkbox"/> Paranoia <input type="checkbox"/> Alucinaciones</p> <p><input type="checkbox"/> Hidrofobia <input type="checkbox"/> Calcificaciones <input type="checkbox"/> Hipertensión endocraneal <input type="checkbox"/> Coma</p> <p><input type="checkbox"/> Cambio del ciclo circadiano</p>		<p>Motivo del término de la atención:</p> <p><input type="checkbox"/> Mejoría <input type="checkbox"/> Alta voluntaria <input type="checkbox"/> Defunción</p> <p>Fecha de término de la atención: ____/____/____</p>	
<p>Génito urinario:</p> <p><input type="checkbox"/> Dolor durante la micción <input type="checkbox"/> Uretritis <input type="checkbox"/> Insuficiencia renal</p> <p>Lesiones en genitales: <input type="checkbox"/> Úlceras <input type="checkbox"/> Vesículas</p> <p><input type="checkbox"/> Chancro <input type="checkbox"/> Chancroide <input type="checkbox"/> Flujo vaginal <input type="checkbox"/> Embarazo</p> <p>Fecha de última regla: ____/____/____</p> <p>Semanas de gestación: _____</p>		<p>Observaciones:</p> <p>A) No se recibirá muestra alguna si no viene acompañada de este formato</p> <p>B) Verificar que el nombre del paciente sea el mismo en la muestra que en este formato</p> <p>C) Utilizar letra de molde en el formato y en la etiqueta de la muestra</p> <p>D) La muestra debe identificarse utilizando una cinta de tela adhesiva, escrita con lápiz donde se incluyan los datos relevantes del caso como:</p> <p>-Nombre o clave, Diagnóstico presuntivo, Fecha de toma, tipo de muestra indicando también si es la 1a, 2a, 3a, etc., Si es cepa anotar la fecha de siembra y el tipo de muestra.</p> <p>E) Enviar la muestra adecuada y en cantidad suficiente al estudio solicitado</p> <p>F) No se recibirán muestras en envases de cristal</p>	

Figura 9. Formato único para el envío de muestras biológicas

Hoja de Trabajo para Reporte de Resultados de Inmunofluorescencia Directa para el Diagnóstico de Rabia en Muestras de Encéfalo

Fecha: _____ Hora de inicio del proceso: _____ Hora de término de proceso: _____

Marca/Lote/ Fecha de caducidad del Conjugado: _____

No.	No. LESP	Resultado			Médula	Cerebelo	Asta Ammón	Responsable de Lectura	Observaciones
1		+	-	D					
2		+	-	D					
3		+	-	D					
4		+	-	D					
5		+	-	D					
6		+	-	D					
7		+	-	D					
8		+	-	D					
9		+	-	D					
10		+	-	D					
11		+	-	D					
12		+	-	D					
13		+	-	D					
14		+	-	D					
15		+	-	D					
16		+	-	D					
17		+	-	D					
18		+	-	D					
19		+	-	D					
20		+	-	D					

(+) Positivo (-) Negativo D= Dudosa (repetir)

Nombre y firma del Analista

Revisó

Figura 10. Hoja de Trabajo para Reporte de Resultados de IFD para muestras de encéfalo

Cuadro de variables para la base de rabia la cual debe enviarse al correo electrónico laboratorioderabiaindre@gmail.com de forma trimestral:

Estado: _____

Mes: _____

Número de muestra	Especie	Localidad	Municipio	Centro antirrábico	Fecha de recepción en el laboratorio	Fecha de emisión del resultado de la muestra.	Resultado	Observaciones

Nota: En caso de que sea muestra rechazada, especificar la causa de rechazo en observaciones

Figura 11. Cuadro de variables que se debe enviar trimestralmente al Laboratorio de Rabia



FORMATO ÚNICO PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DE RABIA HUMANA Y ANIMAL

DATOS DE LA INSTITUCIÓN SOLICITANTE

NOMBRE DE LA MENSAJERÍA DE ENVÍO _____ NUM. DE GUÍA: _____
FECHA DE ENVÍO AL LESP: ____/____/____ FECHA DE RECEPCIÓN EN EL LESP: ____/____/____ FECHA DE ENVÍO AL INDRE: ____/____/____
INSTITUCIÓN: _____
CALLE: _____ COLONIA: _____
MUNICIPIO: _____ ESTADO: _____ C.P. _____
TEL.: _____ FAX:(indispensable) _____ Email : _____
MÉDICO SOLICITANTE: _____
ESTUDIO SOLICITADO: _____

RABIA HUMANA INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

JUSTIFICACIÓN DEL ENVÍO: ☐ DIAGNÓSTICO ☐ REFERENCIA ☐ ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

NOMBRE

DEL PACIENTE: _____ EDAD: ____ AÑOS ____ MESES ____ DÍA

Nombre(s) Apellido Paterno Apellido Materno

SEXO: ☐ M ☐ F

NO. DE

JURISDICCIÓN

CASO O CLAVE: _____

SANITARIA: _____

LUGAR DE RESIDENCIA

LOCALIDAD :

DEL PACIENTE: _____

O COLONIA _____

MUNICIPIO U DELEGACIÓN: _____

ESTADO: _____

SITUACIÓN DEL PACIENTE: ☐ VIVO ☐ MUERTO

TIPO DE MUESTRA: ☐ SUERO ☐ LCR ☐ SALIVA ☐ HISOPO SUBLINGUAL ☐ BIOPSIA DE CUERO CABELLUDO ☐ IMPRONTA DE CORNEA ☐ TEJIDO CEREBRAL (MEDULA ESPINAL, ASTA DE AMMON, CEREBELO)

DATOS CLÍNICOS DEL PACIENTE: ☐ AGRESIVIDAD ☐ FOTOFOBIA ☐ AEROFOBIA ☐ SALIVACIÓN PROFUSA ☐ INCOORDINACIÓN ☐ HIDROFOBIA ☐ PARÁLISIS ☐ CAMBIOS DE CONDUCTA ☐ ALUCINACIONES ☐ COMA

FECHA DE TOMA: ____/____/____

FECHA DE INICIO DE SÍNTOMAS: ____/____/____

HOSPITALIZACIÓN: ☐ SI ☐ NO

NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN

QUE ATIENDE EL CASO _____

EN CASO DE HABER AGRESIÓN,
MENCIONE EL AGRESOR: _____

SITIO ANATÓMICO

DE LA LESIÓN: _____

NÚMERO DE PERSONAS

FECHA DE MUERTE DEL AGRESOR: ____/____/____

O ANIMALES QUE ESTUVIERON

EN CONTACTO CON EL AGRESOR: _____

CAUSA DE LA MUERTE DEL AGRESOR: _____

VACUNA ANTIRRÁBICA EN EL AGRESOR: ☐ SI ☐ NO ☐ SE IGNORA

FECHA DE ÚLTIMA DOSIS ____/____/____

VACUNA ANTIRRÁBICA EN EL AGREDIDO: ☐ SI ☐ NO ☐ SE IGNORA

FECHA DE ÚLTIMA DOSIS ____/____/____

RABIA ANIMAL DE IMPACTO DOMÉSTICO INFORMACION DE LA MUESTRAJUSTIFICACIÓN DEL ENVÍO: ☐ DIAGNÓSTICO ☐ REFERENCIA ☐ ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

NOMBRE DE LA ESPECIE: _____ NO. DE CASO O CLAVE: _____

JURISDICCION SANITARIA: _____

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA: FECHA ____/____/____ LOCALIDAD O COLONIA: _____

MUNICIPIO O DELEGACIÓN: _____ ESTADO: _____ EDAD: ____ AÑOS ____ MESES ____ DÍAS

SEXO: ☐ M ☐ H SITUACIÓN DE LA ESPECIE AFECTADA: ☐ VIVO ☐ MUERTOTIPO DE VIGILANCIA: ☐ AGRESIÓN ☐ MONITOREO ☐ SACRIFICIO ☐ FALLECIMIENTO

TIPO DE MUESTRA: _____

DATOS CLÍNICOS DE LA ESPECIE: ☐ AGRESIVIDAD ☐ FOTOFOBIA ☐ AEROFOBIA ☐ SALIVACIÓN PROFUSA ☐ INCOORDINACIÓN ☐ HIDROFOBIA ☐ PARÁLISIS ☐ CAMBIOS DE CONDUCTA ☐ ALUCINACIONES ☐ COMA

FECHA DE TOMA DE MUESTRA: ____/____/____ FECHA DE INICIO DE SÍNTOMAS: ____/____/____

EN CASO DE HABER AGRESIÓN:

MENCIONE EL AGRESOR: _____ MENCIONES EL AGREDIDO _____

SITIO ANATÓMICO DE LA LESIÓN: _____ NÚMERO DE PERSONAS O ANIMALES QUE ESTUVIERON EN CONTACTO CON EL AGRESOR: _____

VACUNA ANTIRRÁBICA EN EL AGREDIDO: ☐ SI ☐ NO ☐ SE IGNORA FECHA DE ÚLTIMA DOSIS ____/____/____**RABIA ANIMAL SILVESTRE INFORMACION DE LA MUESTRA**JUSTIFICACIÓN DEL ENVÍO: ☐ DIAGNÓSTICO ☐ REFERENCIA ☐ ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

NOMBRE DE LA ESPECIE: _____ NOMBRE CIENTÍFICO DE LA ESPECIE: _____ NO. DE CASO O CLAVE: _____

JURISDICCION SANITARIA: _____ RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA: FECHA ____/____/____

LOCALIDAD O COLONIA: _____ MUNICIPIO O DELEGACIÓN: _____ ESTADO: _____

SEXO: ☐ M ☐ H SITUACIÓN DE LA ESPECIE AFECTADA: ☐ VIVO ☐ MUERTO ☐ AGRESIÓN ☐ MONITOREO ☐ SACRIFICIO ☐ FALLECIMIENTO

TIPO DE MUESTRA: _____

DATOS CLÍNICOS DE LA ESPECIE: ☐ AGRESIVIDAD ☐ FOTOFOBIA ☐ AEROFOBIA ☐ SALIVACIÓN PROFUSA ☐ INCOORDINACIÓN ☐ HIDROFOBIA ☐ PARÁLISIS ☐ CAMBIOS DE CONDUCTA ☐ ALUCINACIONES ☐ COMA

FECHA DE TOMA DE MUESTRA: ____/____/____ FECHA DE INICIO DE SÍNTOMAS: ____/____/____

EN CASO DE HABER AGRESIÓN:

MENCIONE EL AGRESOR: _____ MENCIONE EL AGREDIDO _____

SITIO ANATÓMICO DE LA LESIÓN: _____ NÚMERO DE PERSONAS O ANIMALES QUE ESTUVIERON EN CONTACTO CON EL AGRESOR: _____

VACUNA ANTIRRÁBICA EN EL AGREDIDO: ☐ SI ☐ NO ☐ SE IGNORA FECHA DE ÚLTIMA DOSIS ____/____/____**RESULTADO DE ORIGEN Y OBSERVACIONES**

RESULTADOS DE ORIGEN: _____ VARIANTE ANTIGÉNICA: _____ FECHA DEL RESULTADO: ____/____/____

NOMBRE Y FIRMA DE QUIEN REALIZA EL DIAGNÓSTICO: _____

OBSERVACIONES:

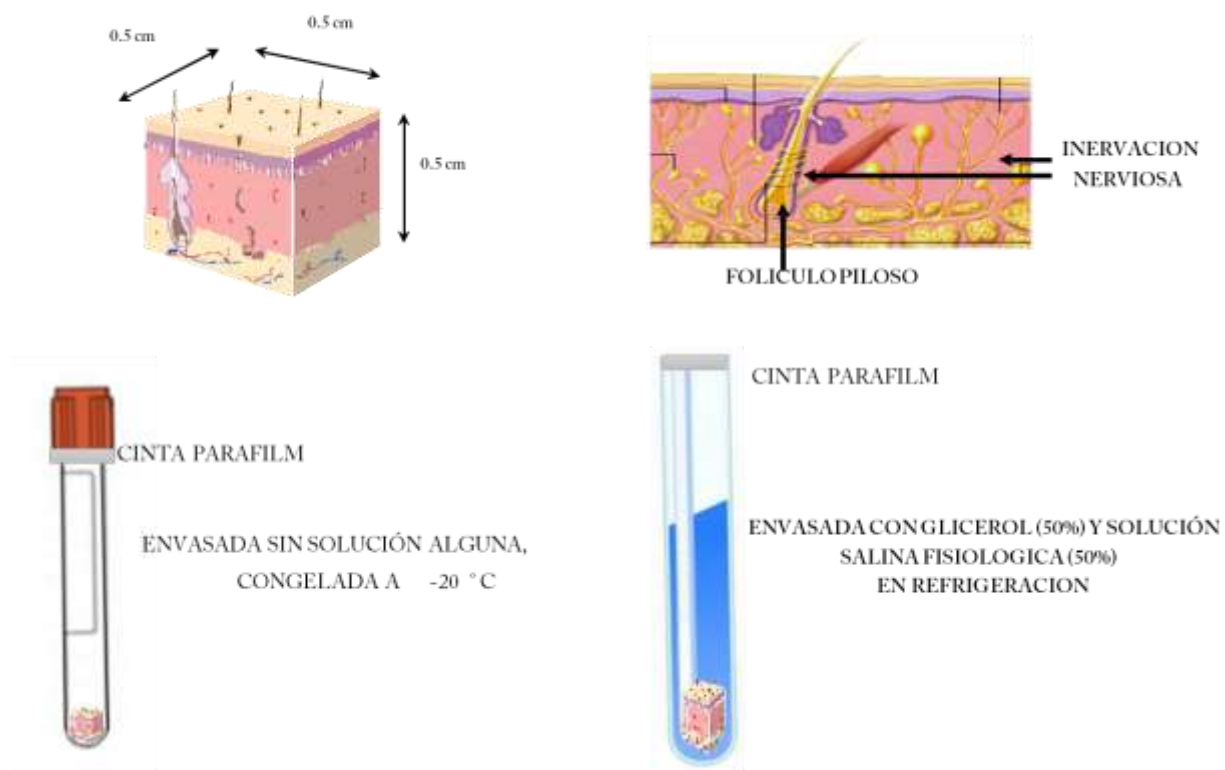
Instrucciones de llenado

- Todas las muestras remitidas al Laboratorio de Rabia del InDRE deberán contener la información completa del apartado: **Datos de Institución solicitante** así como el apartado de *Resultado de Origen y Observaciones*.
- Identificar el origen de la muestra: humana, animal doméstico o animal silvestre y completar **ÚNICAMENTE** la información del apartado correspondiente.
- Indique si es femenino o masculino (F o M) en casos humanos y macho o hembra en casos animales (H o M).
- Las muestras que carezcan de la información solicitada serán rechazadas.

Figura 12. Formato único para el envío de muestras de rabia humana y animal. Para ser llenado por la Institución que solicita el estudio.

Anexo V. Esquemas para la toma de muestra

Biopsia de cuero cabelludo



NO ENVIAR CON FORMALDEHIDO O FORMALINA

Figura 13. Toma de muestra de Biopsia de Cuero Cabelludo

HISOPO SUBLINGUAL



Figura 14. Toma de muestra de hisopo sublingual

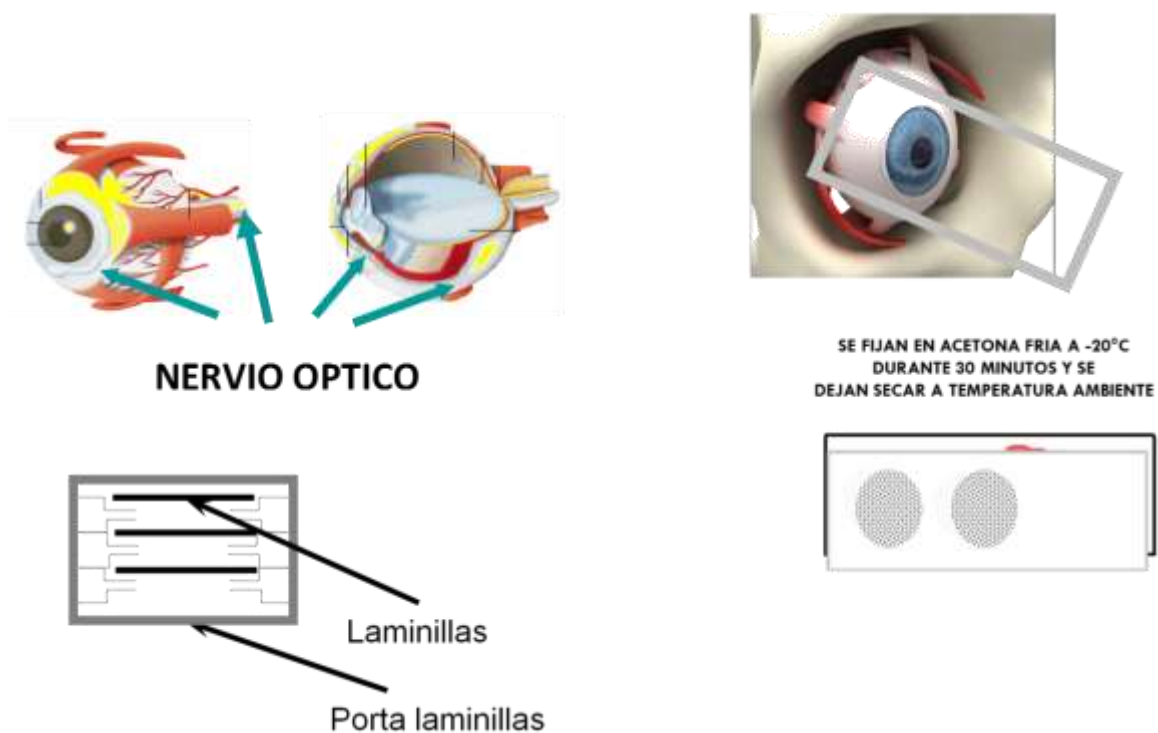
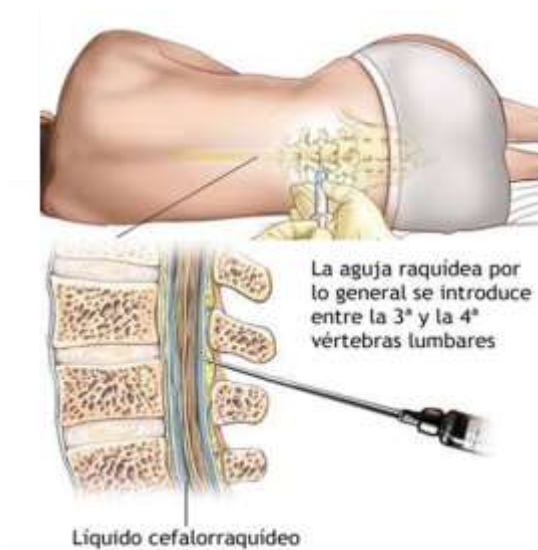


Figura 15. Toma de muestra de impronta de córnea



LA MUESTRA DEBERÁ SER TOMADA POR UN ESPECIALISTA

Figura 16. Toma de muestra de líquido cefalorraquídeo

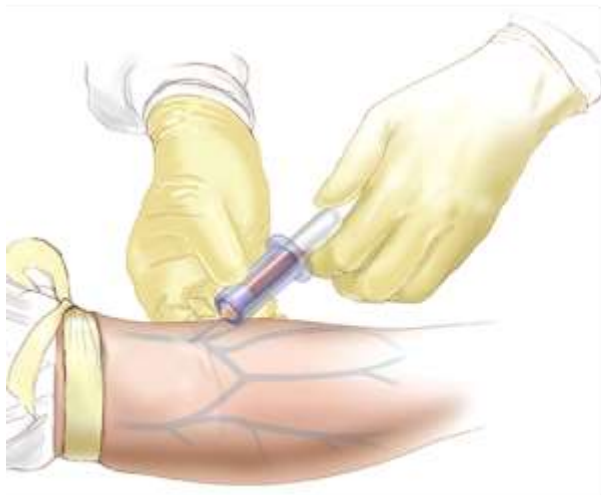
SALIVA



Se recolectan de 2.0 a 3.0 mL de saliva con una jeringa sin aguja en un tubo estéril con tapón de rosca. Guardar entre 4 y 8°C.

Figura 17. Toma de muestra de saliva

SUERO



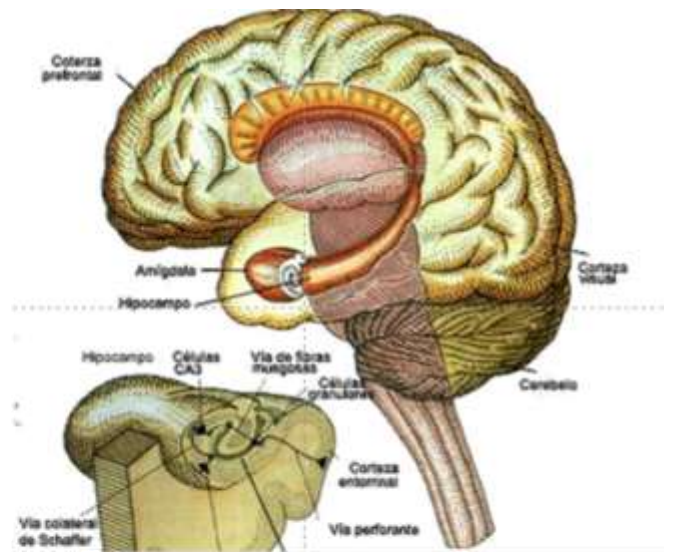
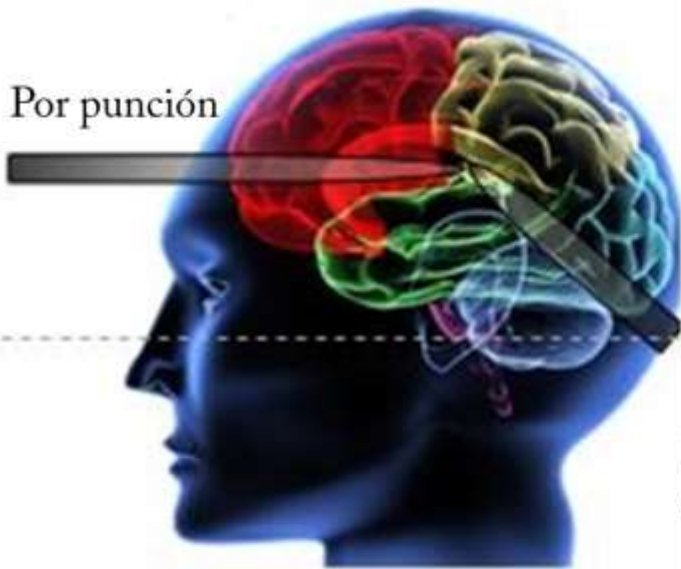
3.0 a 5.0 mL
REFRIGERACIÓN
(ENTRE 4 Y 8°C)

Figura 18. Toma de muestra de suero.

Cerebro:

- Cerebelo
- Médula Espinal
- Hipocampo

Por punción



Orificio occipital

En lo casos en los que no se autoriza la necropsia

Figura 19. Toma de muestra de cerebro humano

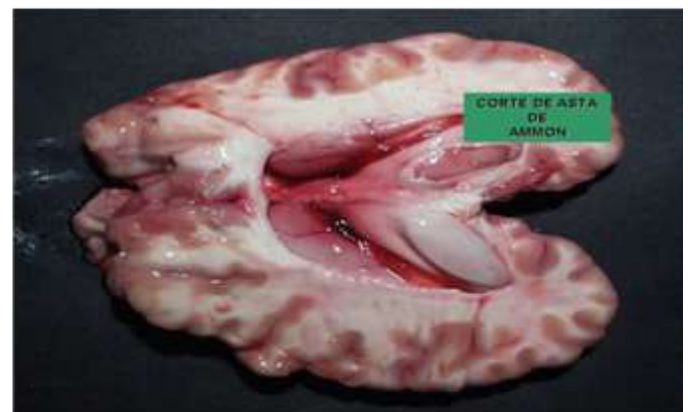
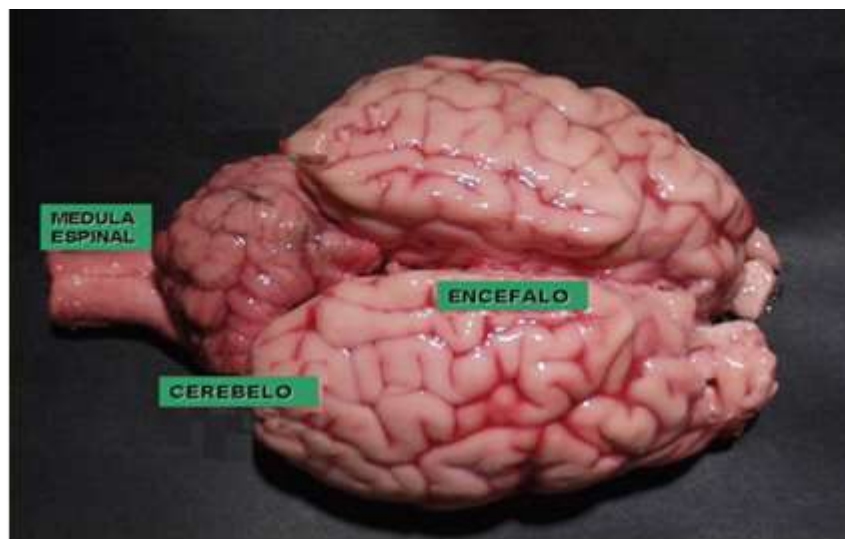


Figura 20. Imágenes de los cortes representativos indicados en el diagnóstico por IFD

Figura 21. Toma de Muestra por la Vía Occipital



1. Sostenga al animal por la cabeza, exponiendo el agujero occipital



2. Introduzca la aguja con una inclinación aproximada de 45°



3. Realice la retracción del émbolo de la jeringa suavemente.



4. Verifique que la cantidad de tejido sea suficiente, si no, repita la operación hasta que cuente con la cantidad necesaria.



5. Realizar la impronta que se empleará en el diagnóstico



6. Realizar el diagnóstico de rutina (Ver Guía Rápida II) y congele el ejemplar a -20°C en un contenedor

Anexo VI. Embalaje y transporte de sustancia infecciosas

Formato para el etiquetado de contenedores primarios y exteriores

<p>FECHA: (toma de la muestra)</p> <p>No. DE MUESTRA: _____</p> <p>ESPECIE: _____</p>
--

Figura 22. Etiqueta del Contenedor Primario

<p style="text-align: center;">(a)</p> <p>Remitente: _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p style="text-align: center;">(b)</p> <p>Destinatario: _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p style="text-align: center;">(c)</p> <p>Persona responsable: _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p style="text-align: center;">(d)</p> <p style="text-align: center; font-size: 24pt; font-weight: bold;">UN3373</p>

Figura 23. Etiqueta “a,b, c y d” para el contenedor existente



Nombre:

Orientación del paquete

Dimensiones mínimas: 74x105 mm

Para paquetes pequeños: 37x52.5 mm

Color: negro y blanco, o bien rojo y blanco

Figura 24. Etiquetas de orientación del contenedor exterior (2)



Figura 25. Contenedores primarios

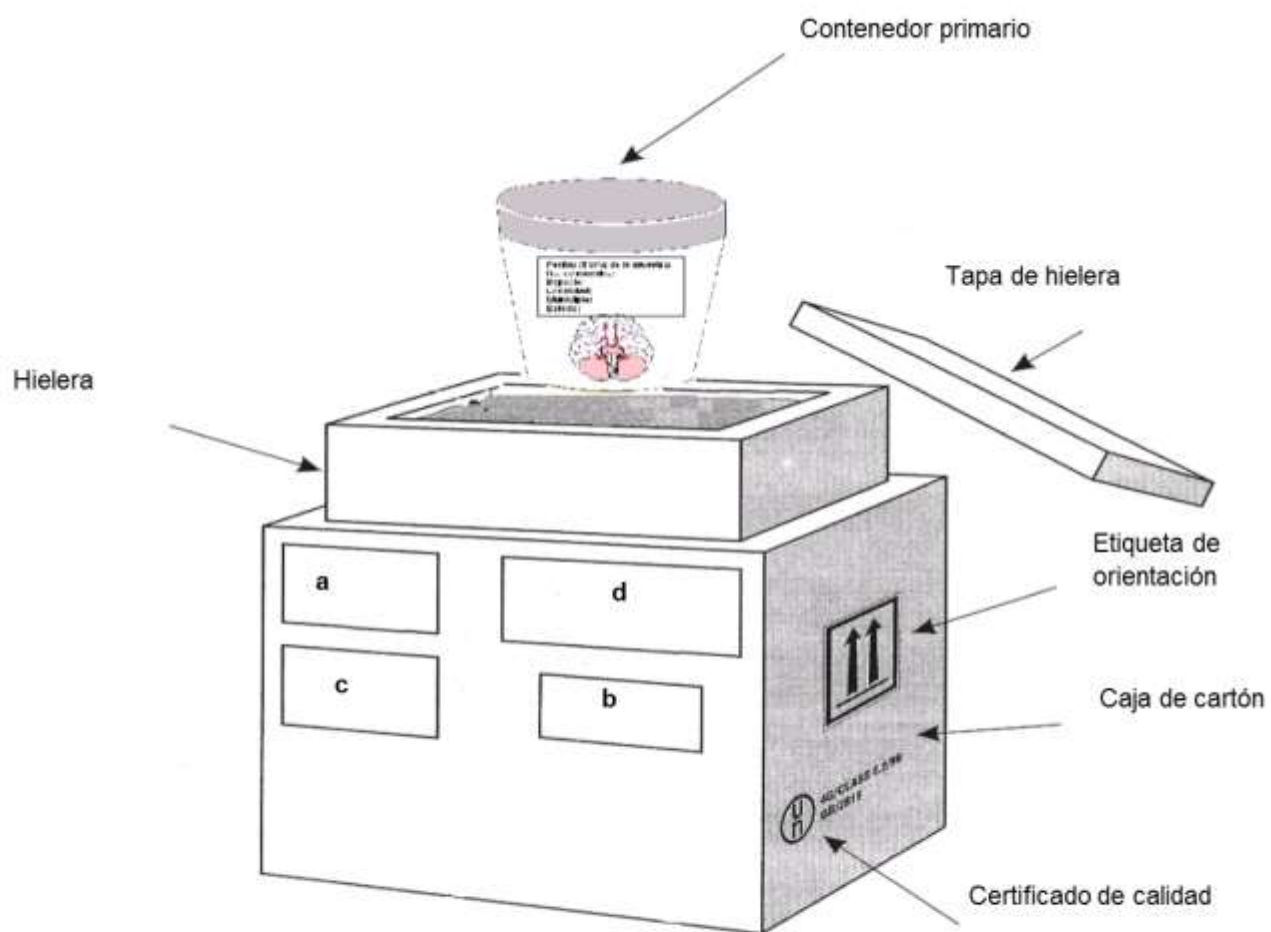


Figura 26. Sistema de embalaje y contenedor para transporte en frío o en congelación



AÑOS

Siendo Referencia Nacional en Salud Pública

INDRE

SALUD

SECRETARÍA DE SALUD



Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud
Dirección General de Epidemiología

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
"Dr. Manuel Martínez Báez"