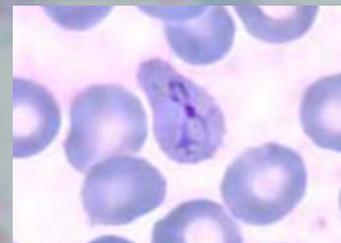
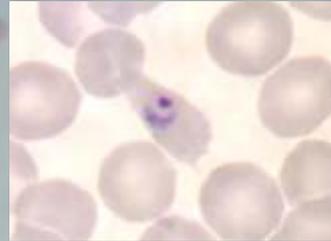
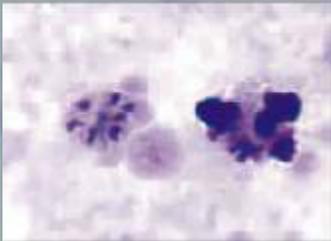
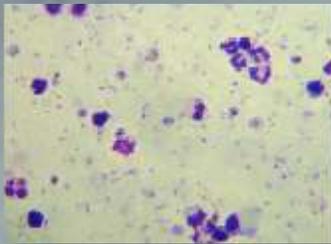




SECRETARIA DE SALUD
DIRECCION GENERAL DE VIGILANCIA DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE LABORATORIO NACIONAL DE VIGILANCIA
PROGRAMA NACIONAL DE MALARIA
LABORATORIO NACIONAL DE MALARIA

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTANDAR PARA EL DIAGNOSTICO MICROSCOPICO DE LA MALARIA



TEGUCIGALPA, M.D.C.

HONDURAS, 2006





SECRETARIA DE SALUD
DIRECCION GENERAL DE VIGILANCIA DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE LABORATORIO NACIONAL DE VIGILANCIA
PROGRAMA NACIONAL DE MALARIA
LABORATORIO NACIONAL DE MALARIA

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTANDAR PARA EL
DIAGNOSTICO MICROSCOPICO DE LA MALARIA

TEGUCIGALPA, M.D.C.

HONDURAS, 2006



Titulo:
Manual de Procedimientos Operativos Estandar Para el Diagnóstico Microscópico de la Malaria

Autores:
Jackeline Alger, MD, PhD
Dra. Maria Luisa Matute, MQC, Msc
Dra. Rosa Elena Mejia de Rivera, MQC

Diagramación:
Josué D. Rodríguez

Impreso en:
Publigráficas S. de R. L.
Tel.: (504) 234-8225

Edición:
Septiembre, 2006

Tiraje:
1,000 Ejemplares

AUTORIDADES DE LA SECRETARIA DE SALUD

DR. ORISON VELÁSQUEZ
SECRETARIO DE ESTADO EN EL DESPACHO DE SALUD

DRA. YENNY MERCEDES MEZA
SUB-SECRETARIA DE SALUD

DR. JOSE ANGEL VASQUEZ
DIRECTOR GENERAL DE VIGILANCIA DE LA SALUD

DRA. LAURA JULIA SALGADO
JEFE DEL PROGRAMA NACIONAL DE MALARIA

DRA. MARIA LUISA MATUTE
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE LABORATORIO DE VIGILANCIA
NACIONAL DE LA SALUD

ELABORADO POR:

JACKELINE ALGER, MD, PhD
SERVICIO DE PARASITOLOGIA, HOSPITAL ESCUELA

DRA. MARIA LUISA MATUTE, MQC, Msc
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE LABORATORIO DE VIGILANCIA

DRA. ROSA ELENA MEJIA DE RIVERA, MQC
JEFE LABORATORIO NACIONAL DE MALARIA

ASESOR:

DR. DELMIN CURY
ASESOR ENFERMEDADES INFECCIOSAS OPS/OMS

REVISION TECNICA DEL MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTANDAR PARA EL DIAGNOSTICO MICROSCOPICO DE LA MALARIA

El 31 de marzo del 2006 se realizó una reunión para la revisión técnica del Manual. Se reconoce y agradece la participación y aportes del personal de salud, del sector público como privado y de los niveles central y periférico, que se listan a continuación.

Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria, Secretaría de Salud

Dra. Laura Julia Salgado
Dr. Ricardo Kaffie
Dra. Sonia Meraz
Técnico Normativo Catalino Rosales

Dirección General de Vigilancia de la Salud, Secretaría de Salud

Dr. Orles Escobar
Lic. Catalina Sherman

Departamento de Laboratorio Nacional de Vigilancia de la Salud, Secretaría de Salud

Dr. Engels Ilich Banegas
Dra. Hilda Carolina Membreño
Dra. Leyla Thumann
Dr. Carlos Ponce
Lic. Elisa de Ponce
Mic. América González
Mic. Blanca Edith Ordóñez
Mic. Jenny Rodríguez
Mic. Lidy Gladis Caballero
Mic. Edith Moncada

Regiones Departamentales de Salud

Dra. Marta Flores, Laboratorio Clínico, Hospital Santa Teresa, Comayagua
Dra. Daisy Guardiola, Epidemiología, Región Departamental de Atlántida
Dra. Olga Lidia García, Laboratorio Regional Departamental de Olancho
Lic. Orbelina Rivera, Epidemiología, Hospital de Tocoa
TSA. Pablo Osorio, Área Municipal de Tocoa, Región Departamental de Colón
Mic. Ángela Andrade, Región Metropolitana San Pedro Sula, Cortes
Mic. Anarda Euceda, Región departamental de Comayagua
Dra. Mitzi Castro, Laboratorio Clínico Centro de Salud Alonso Suaso
Dra. Mirian Aguilera, Región Departamental Metropolitana
Dra. Carol Rodríguez, Laboratorio Clínico Hospital Atlántida

Departamento de Laboratorios Clínicos, Hospital Escuela

Tec. Wendy López
Tec. Susana Martínez

Departamento de Microbiología, Universidad Nacional Autónoma de Honduras

Dra. Doris Quan
Dra. Irma Gloria Gallo

Unidad Técnica del Fondo Global Honduras, Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo

Isidra Sabio, Msc.

Sociedad Hondureña de Enfermedades Infecciosas e Instituto de Enfermedades Infecciosas y Parasitología Antonio Vidal

Dr. Tito Alvarado

RECONOCIMIENTOS

La preparación de este Manual se fundamentó en la consultoría realizada a través del Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria, Proyecto Fondo Global Honduras, y ejecutada por el Dr. Lorrin Pang, Servicios de Salud, Maui, Hawai, USA y la Dra. Fabiana Alves, Consultora OMS, Sao Paulo, Brasil.

Se agradece los comentarios aportados por el Dr. Jean Marc Gabastou, Coordinador Latinoamericano de Laboratorios, OPS/OMS, Washington DC, USA.

Este Manual fue preparado, revisado e impreso a través de financiamiento del Proyecto Fortalecimiento de la Respuesta Nacional para la Protección y Promoción de la Salud en Sida, Tuberculosis y Malaria, Fondo Global Honduras; Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria, Secretaría de Salud. Se reconoce y agradece las gestiones realizadas por el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, especialmente a la Dra. Mary Cáliz y al equipo de la Unidad Técnica de Fondo Global y la Fundación Hondureña para la Lucha contra el Sida, la Tuberculosis y la Malaria.

El 20 de Junio del 2006 se hizo el lanzamiento oficial del Manual de Procedimientos Operativos Estándar para el Diagnóstico Microscópico de la Malaria, por el Secretario de Salud Dr. Orison Velázquez, al personal que labora en las diferentes Regiones Departamentales de Salud. Seguidamente se dio el Taller de Capacitación los días 21 y 22 de Junio del 2006, sobre la implementación de los procedimientos operativos Estándar para el Diagnóstico Microscópico de la Malaria.

PROLOGO

Una de las herramientas utilizadas y de comprobada eficacia en los Programas de Prevención y Control de la Malaria es el diagnóstico y tratamiento de los casos; especialmente, cuando se trata de malaria por *Plasmodium falciparum*, que merece un cuidado especial por la gravedad que suele presentar. La edición del “Manual de Procedimientos Operativos Estándar para el Diagnóstico Microscópico de la Malaria”, iniciativa de la Secretaría de Salud de Honduras, es un instrumento clave de apoyo a los trabajadores de salud, con indicaciones de los principios básicos de toma de muestra, bioseguridad, preparación y lectura de las láminas, evaluación de la respuesta terapéutica y control de calidad.

Un aspecto importante en el control de la malaria es que el tiempo de la toma de muestra, el diagnóstico final y el inicio de tratamiento, debe ser menor que el período que necesita el parásito para ser infectante al vector; usualmente alrededor de una semana en individuos no-inmunes y menor en individuos semi-inmunes. Esa condición nos permite asegurar que al recibir el paciente el tratamiento se corta la cadena de transmisión. Adicionalmente, el tratamiento oportuno y eficaz de todos los casos, como es señalado en la *Iniciativa Hacer Retroceder la Malaria*, es esencial para reducir el riesgo de cuadros graves y prevenir la muerte. Por lo tanto, es necesario que los servicios de salud, especialmente los que se localizan en áreas endémicas de malaria, estén capacitados para ejecutar el diagnóstico de forma correcta.

Finalmente, es necesario que los principales contenidos del Manual sean de conocimiento no solo del personal de laboratorio, pero de todos los funcionarios involucrados en el Programa de Prevención y Control de la Malaria, para que estén conscientes de la importancia que tiene el diagnóstico y tratamiento en el control de esta enfermedad.

Dr. José Fiusa Lima
Representante OPS/OMS Honduras



CONTENIDO

AUTORIDADES DE LA SECRETARIA DE SALUD.....	i
REVISION TECNICA.....	ii
RECONOCIMIENTOS.....	iii
PROLOGO	<
CAPITULO 1.	
Aspectos generales de la malaria y principios del diagnóstico microscópico.....	5
1.1 Introducción.....	5
1.2 Malaria: la enfermedad.....	6
1.3 Situación epidemiológica de la malaria en Honduras.....	6
1.4 Generalidades sobre el diagnóstico microscópico de la malaria.....	7
1.5 Otros métodos diagnósticos.....	8
1.6 Malaria y tamizaje en Bancos de Sangre.....	11
CAPITULO 2	
Preparación de las muestras y coloración.....	12
2.1 Obtención y manejo de las muestras.....	12
2.2 Normas de bioseguridad.....	12
2.3 Listado de insumos, material de vidrio, reactivo, soluciones y equipo.....	14
2.3.1 Insumos.....	14
2.3.2 Material de vidrio.....	14
2.3.3. Reactivos y soluciones.....	14
2.3.4 Equipo.....	15
2.4 Preparación de colorantes y soluciones.....	15
2.5 Preparación y coloración de la gota gruesa y el extendido fino.....	16
2.6 Errores comunes en la preparación de las muestras.....	20
2.7 Transporte y envío de muestras desde el Puesto de Notificación Voluntaria.....	21
CAPITULO 3	
Características Diagnósticas de los Parásitos <i>Plasmodium</i>	22
3.1 Elementos formes de la sangre.....	22
3.1.1 Elementos formes de la sangre en la gota gruesa.....	22
3.1.2 Elementos formes de la sangre en el extendido fino.....	22
3.2 Características morfológicas de <i>Plasmodium spp.</i>	23
3.2.1 Estadios del parásito.....	24
3.2.2 Especies de <i>Plasmodium</i>	24
3.3 Artefactos.....	24



CAPITULO 4

Observación Microscópica de las muestras de sangre	37
4.1 Exploración de la gota gruesa	37
4.2 Exploración del extendido fino	38
4.3 Estimación de la parasitemia	38
4.4 Informe de resultados e interpretación	40
4.5 Evaluación de la respuesta terapéutica	42

CAPITULO 5

Red de Laboratorios y Sistema de Informacion	43
5.1 Estructuración de la Red de Laboratorios	43
5.2 Funciones específicas de los laboratorios de diferentes niveles	43
5.2.1 Laboratorio Nacional de Vigilancia	43
5.2.2 Laboratorios Regionales Departamentales	44
5.2.3 Laboratorios Locales	44
5.2.4 Unidad de Notificación	45
5.3 Sub-sistema de información	45
5.3.1 Formulario para la notificación de pacientes sospechosos de malaria	45
5.3.2 Formulario para el Informe diario del Laboratorio	45
5.3.3 Formulario de Notificación Semanal	46
5.3.4 Formulario para el Informe Semanal del diagnóstico de Malaria	46
5.3.5 Formulario para el Informe de evaluación de la Calidad de Toma y coloración de las Muestras del Control de Calidad	46
5.3.6 Formulario para el Informe de Evaluación de Control de Calidad	46

CAPITULO 6

Supervision y Control de Calidad	48
6.1 Supervisión	48
6.1.1 Supervisión Directa	48
6.1.2 Supervisión Indirecta	49
6.2 Control de Calidad	49
6.2.1 Control de calidad mediante revisión de láminas diagnosticadas	49
6.2.2 Control de calidad semanal	50
6.2.3 Control de calidad anual	50
6.2.4 Procedimiento para las láminas diagnosticadas o revisadas	50
6.3 Evaluación externa del desempeño	53
6.3.1 Preparación y envío de los paneles de láminas	53
6.3.2 Revisión de informe del panel de láminas	53
6.4 Análisis de resultados del control de calidad y medidas correctivas	54



CAPITULO 7

Lineamientos para diagnóstico rapido y tratamiento oportuno de la Malaria..... 57

- 7.1 Capacitación de la Red Departamental de Microscopistas y Técnicos de Laboratorio que ejecutan el diagnóstico de la malaria..... 58
- 7.2 Supervisión de la Red de Unidades de Diagnóstico de Laboratorio y control de calidad 58
- 7.3 Participación comunitaria 59

CAPITULO 8

Limpieza y almacenamiento de las láminas portaobjetos..... 60

CAPITULO 9

El microscopio..... 61

- 9.1 Partes de un microscopio 61
- 9.2 Uso del microscopio 62
 - 9.2.1 Enfoque interpupilar 62
 - 9.2.2 Enfoque ocular 62
 - 9.2.3 Iluminación 62
 - 9.2.4 Estimación de tamaño 63
- 9.3 Cuidado del microscopio..... 64

CAPITULO 10

Referencias 66

CAPITULO 11

ANEXOS 69

- 11.1 Ciclo de vida de *Plasmodium spp.* 71
- 11.2 Información Estadística. Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria, Secretaría de Salud. 72
- 11.3 Formularios para el registro de la información. 74
 - 11.3.1 Formulario M-1..... 74
 - 11.3.2 Formulario ML-1..... 77
 - 11.3.3 Formulario ML-2..... 79
 - 11.3.4 Formulario ML-3..... 81
 - 11.3.5 Formulario ML-4..... 83
 - 11.3.6 Formulario ML-5..... 85



Lista de Cuadros

Cuadro N°. 1	Proporción de reactivos para la preparación de colorante	15
Cuadro N°. 2	Proporción de reactivos para la preparación de soluciones amortiguadoras	16
Cuadro N°. 3	Comparación de las características morfológicas de los parásitos	26
Cuadro N°. 4	Densidad parasitaria estimada por cruces, gota gruesa	39
Cuadro N°. 5	Densidad parasitaria por leucocitos y por microlitro de sangre	39

Lista de Figuras

Figura N°. 1	Electroforesis en gel de agarosa de productos de PCR	9
Figura N°. 2	Prueba de Diagnóstico Rápido	10
Figura N°. 3	Esquema de patrón para la preparación de las muestras de sangre	18
Figura N°. 4	Preparación de la gota gruesa y extendido fino	19
Figura N°. 5	Parásito <i>Plasmodium</i> intracelular en el glóbulo rojo	24
Figura N°. 6	Características diferentes especies de <i>Plasmodium</i> en la gota gruesa	28
Figura N°. 7	Características diferentes especies de <i>Plasmodium</i> en el extendido fino	30
Figura N°. 8	Artefactos en las muestras de sangre	35
Figura N°. 9	Microorganismos en las muestras de sangre	36
Figura N°. 10	Flujograma de captación de pacientes y diagnóstico microscópico de sospechosos de malaria	41
Figura N°. 11	Flujograma de canalización de información	47
Figura N°. 12	Flujograma de canalización del control de calidad	56
Figura N°. 13	Factores que influyen en la oportunidad del tratamiento	57
Figura N°. 14	El microscopio óptico compuesto y sus partes	61
Figura N°. 15	Calibración del micrométrico ocular	64

CAPITULO 1.

Aspectos generales de la malaria y principios del diagnóstico microscópico

1.1 Introducción

La malaria o paludismo, enfermedad parasitaria endémica en las zonas tropicales y algunas subtropicales del mundo, es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Se estima que anualmente se producen entre 300 y 500 millones de episodios de malaria clínica y hasta tres millones de muertes, principalmente en niños. En la última década la situación epidemiológica mundial se ha deteriorado y la malaria está re-emergiendo en estrecha asociación a las crisis ambientales y sociales, y también a factores agravantes tales como la diseminación de la resistencia del parásito a las drogas antimaláricas y del vector a los insecticidas.

La malaria es producida por parásitos del género *Plasmodium* y transmitida a través de la picadura del mosquito hembra del género *Anopheles*. También puede ser transmitida por transfusión sanguínea, vía placentaria o durante el parto. En la sub-región de Centro América prevalece la malaria producida por *P. vivax*, seguida por *P. falciparum* y *P. malariae*. Los países de Guatemala, Honduras y Nicaragua, han informado aproximadamente 80% de los casos de malaria en los últimos años. Exceptuando Guatemala y la frontera entre Panamá y Colombia, los parásitos de la subregión permanecen susceptibles al tratamiento con cloroquina. En Honduras, en el año 2005 se registraron 153,140 casos sospechosos febriles de los cuales se confirmaron microscópicamente 16,007 casos, 974 por *P. falciparum* y 25 por infección mixta (Fuente: Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria, Secretaría de Salud).

Para la identificación de la especie y estadios de los parásitos *Plasmodium*, la microscopía es un método sensible y específico. La toma de la muestra y su procesamiento pueden ser relativamente sencillos, así como la lectura de láminas coloreadas por un microscopista capacitado. Sin embargo, el factor humano hace que la calidad de la técnica sea variable y se puede observar personal con la misma capacitación desempeñando sus funciones con diferentes niveles de responsabilidad. La calidad y reproducibilidad del colorante son factores críticos para un diagnóstico microscópico de una calidad aceptable. Con todo, aun un microscopista responsable y capacitado tiene un límite de láminas por día que puede examinar con precisión, para lo cual requiere de un microscopio con objetivo de inmersión, en buen estado y con buen mantenimiento.

Este Manual está dirigido al personal que realiza diagnóstico microscópico de la malaria en la Red de Servicios de Salud. Se creó con el propósito de fortalecer el diagnóstico a través de la unificación de criterios. Su contenido incluye textos, diagramas, figuras y fotografías, en secciones que explican de manera práctica aspectos clínicos y epidemiológicos de la enfermedad, el proceso de preparación y coloración de las muestras de sangre, la observación microscópica de la gota gruesa y extendido fino, la evaluación de la respuesta terapéutica a la cloroquina, el registro de la información producida por las unidades de diagnóstico y el control de calidad. El manual también puede utilizarse como instrumento de capacitación.

1.2 Malaria: la enfermedad

La reproducción asexual de los parásitos *Plasmodium* en la fase sanguínea es la responsable de las manifestaciones clínicas de la malaria (ver ciclo de vida en Anexo 11.1). La enfermedad se puede manifestar con sintomatología aguda, sintomatología crónica o infecciones subclínicas, y los casos pueden ser no complicados o complicados y graves.

La malaria no complicada se caracteriza por el paroxismo malárico: escalofrío, fiebre y sudoración. Hay postración durante el pico febril y mejoría en ausencia de la fiebre. El paroxismo se presenta cada tercer día en infecciones con parásitos sincronizados que cumplen la esquizogonia simultáneamente. En infecciones con parásitos en diferentes estadios, el paroxismo puede ser diario. Los pacientes pueden presentar visceromegalia dolorosa y anemia.

Cualquier paciente incapaz de deglutir tabletas, con evidencia de disfunción de órganos y sistemas, ó con una densidad parasitaria superior a 250,000 parásitos/ μ l de sangre o 5% de eritrocitos parasitados, está en riesgo de complicarse y fallecer. La intensidad del riesgo dependerá del grado de las anormalidades, la edad, la inmunidad y acceso a tratamiento oportuno y apropiado. Entre las complicaciones más frecuentes están las hematológicas (anemia, leucopenia, trombocitopenia, pancitopenia, hemorragia, hemólisis), digestivas (diarrea, vómitos incoercibles), metabólicas (deshidratación, hipoglicemia, acidosis), renales (oliguria, insuficiencia renal aguda), respiratorias (edema pulmonar, insuficiencia respiratoria), y neurológicas (convulsiones, alteraciones de conciencia). Las complicaciones se pueden presentar con cualquiera de las especies de *Plasmodium* pero *P. falciparum* se ha asociado a los casos graves y complicados con mayor frecuencia por sus características biológicas: 1) produce hiperparasitemia; 2) se citoadhiera o secuestra en la microvasculatura; y 3) está asociado a resistencia a la cloroquina, fenómeno extenso en Asia, África y América del Sur.

La malaria crónica se caracteriza por febrícula, anemia, debilidad y visceromegalia no dolorosa. Se denomina malaria subclínica a las infecciones en pacientes sin historia de fiebre, aunque pueden informar otros síntomas como cefalea y debilidad. Usualmente es un hallazgo incidental microscópico, donde se identifican estadios asexuales sanguíneos con o sin gametocitos, o bien los casos son detectados a través de encuestas parasitológicas en búsqueda activa de casos.

1.3 Situación epidemiológica de la malaria en Honduras

En los últimos cinco años, 2001 a 2005, la incidencia parasitaria anual de la malaria se ha reducido de 4.56 a 2.22 x 1000 habitantes (ver Anexo 11.2). Por otro lado, los casos de malaria por *P. falciparum* se han mantenido con algunas variaciones. Durante el año 2005, fueron cinco los departamentos que concentraron el 80.4% de los casos totales de malaria y el 99.1% de los casos de malaria por *P. falciparum* (Colón, Olancho, Atlántida, Gracias a Dios e Islas de la Bahía). En el Anexo 11.2 se presenta la distribución de los casos por departamento e índices malariométricos de los últimos dos años (2004-2005).

La malaria no es causa importante de mortalidad en Honduras, pero se encuentra entre las primeras diez causas de morbilidad. A nivel nacional, la mayoría de las atenciones del paciente sospechoso de malaria es brindada por Colaboradores Voluntarios Comunitarios (llamados Col-Vol), constituidos en una red de Puestos de Notificación Voluntaria. Por ejemplo, en el Municipio de Jutiapa, Atlántida, el 61% de los casos de malaria del año 2005 fueron diagnosticados por personal comunitario. Se han documentado casos complicados y graves, tanto en malaria por *P. vivax* como por *P. falciparum*, especialmente entre mujeres embarazadas e infantes. Aunque no se cuenta con una vigilancia sistemática, hasta la actualidad no hay



evidencia de resistencia de *Plasmodium* a la cloroquina en el país. Adicionalmente, se ha documentado la existencia de casos subclínicos los que podrían estar contribuyendo a la persistencia de la transmisión. En cuanto al vector, las principales especies responsables de la transmisión son *Anopheles albimanus* y *An. darlingi*, que se encuentran en la costa atlántica y se relevan la transmisión durante las épocas lluviosa y seca, respectivamente. Ambas especies y otras presentes en el país, son susceptibles a los insecticidas.

Entre los factores de riesgo que se han reconocido para la transmisión de la malaria en Honduras, se han descrito los siguientes: clima tropical húmedo, cultivos extensos (arroz, palma africana, banano, cítricos), situación socio-económica desfavorable (hogares en condiciones de pobreza, viviendas inadecuadas y desprotegidas), movimiento migratorio interno y factores operativos (difícil acceso a los servicios de salud, deficiente asistencia técnica a la red de col - vol). Las principales acciones que se ejecutan para la prevención y el control de la malaria se fundamentan en el Plan Estratégico Nacional 2004-2008, el cual está en concordancia con la Iniciativa de Hacer Retroceder la Malaria, e incluye las áreas estratégicas de: 1) vigilancia epidemiológica, 2) vigilancia entomológica, 3) investigación operativa y 4) promoción de la salud.

A partir de abril del año 2003, por un período de 5 años (2003-2008), se cuenta con el Proyecto *Fortalecimiento de la Respuesta Nacional para la Lucha contra el Sida, la Tuberculosis y la Malaria*, con financiamiento del Fondo Global. El proyecto consta de tres objetivos: 1) Implementación de un modelo ecosistémico de abordaje de la malaria; 2) Fortalecimiento de la respuesta local para la vigilancia de la malaria; y 3) Fortalecimiento de los procesos de rectoría, normalización y evaluación del Programa Nacional de Malaria. Este Manual es producto de la actividad de fortalecimiento de la capacidad del Laboratorio Central de Referencia de Malaria, en el marco del objetivo número dos, y se constituye en una herramienta para alcanzar los objetivos del proyecto.

1.4 Generalidades sobre el diagnóstico microscópico de la malaria

El diagnóstico microscópico de la malaria puede realizarse a partir de dos tipos de muestras de sangre: 1) la gota gruesa que consiste de varias capas de células, y 2) el extendido fino que consiste de una sola capa de células. El examen microscópico de la gota gruesa es considerado el estándar de oro para el diagnóstico de la malaria porque es más sensible para la detección de parásitos. Ambos tipos de muestras, gota gruesa y extendido fino, se pueden preparar en una misma lámina portaobjetos o en láminas individuales. Se recomienda prepararlas en una misma lámina portaobjetos y colorearlas simultáneamente utilizando la coloración de Giemsa. Si se preparan en láminas individuales, el extendido fino puede ser coloreado utilizando la coloración de Wright. Idealmente toda la Red de Laboratorios debería utilizar la preparación de gota gruesa y extendido fino en una sola lámina. Sin embargo, debido a dificultades técnicas y la necesidad de mayor tiempo de capacitación, la red de Col-Vol continuará tomando solamente gota gruesa. Con la implementación de este Manual, se introducirá inicialmente este procedimiento en los Laboratorios de Hospitales y Laboratorios Regionales Departamentales donde se realiza diagnóstico primario.

La identificación de los parásitos se basa en: 1) su apariencia, ya sea libres (gota gruesa) o intracelulares en el glóbulo rojo (extendido fino) y más importante, 2) la coloración de sus componentes (citoplasma, cromatina, pigmento). El extendido fino facilita la determinación de la especie de *Plasmodium*, ya que proporciona un componente adicional a lo que aporta la gota gruesa: las características del glóbulo rojo parasitado y el parásito en su interior que mantiene intactos los componentes de cada fase y características específicas.

Además de la identificación de los parásitos, la microscopía puede proporcionar información sobre su viabilidad y esto, sumado a la estimación de la densidad parasitaria, es útil para evaluar la respuesta al tratamiento. Debido a la relativa sencillez de la microscopía, es posible capacitar personal comunitario para

la toma de muestras, su almacenamiento y transporte posterior, para su procesamiento y lectura por personal competente. La gota gruesa es de 20 a 30 veces más densa que el extendido fino y por lo tanto más sensible. El umbral teórico de detección de la gota gruesa es cuatro parásitos/ μ l de sangre (100 campos/objetivo de inmersión es equivalente aproximadamente a 0.25 μ l de sangre).

1.5 Otros métodos diagnósticos

Adicionalmente al diagnóstico microscópico utilizando gota gruesa y extendido fino, se han desarrollado otras pruebas que apoyan el diagnóstico de la malaria ya sea aumentando la sensibilidad o aumentando la rapidez de la detección de los parásitos o de sus componentes. Entre estas pruebas podemos señalar la microscopía fluorescente que utiliza colorantes como bromuro de etidio y naranja de acridina, o anticuerpos fluorescentes, y que puede ser combinada con centrifugación. Otro método es el inmunodiagnóstico que incluye una variedad de pruebas serológicas entre cuyos principales usos podemos señalar el tamizaje de donadores de sangre, evaluación de tendencias epidemiológicas en áreas endémicas, y evaluación del impacto de los métodos de control del vector en la incidencia de la malaria. Las pruebas de diagnóstico rápido (PDR) basadas en la detección de antígenos específicos de *Plasmodium*, han demostrado su utilidad y aplicabilidad en el trabajo de campo. Otras pruebas como las basadas en la detección de ácido desoxirribonucleico (ADN) como la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o sondas de hibridación de ADN marcadas con radionucleótidos o enzimas, solamente pueden ser utilizadas en laboratorios de referencia y laboratorios de investigación debido a sus requerimientos técnicos. A continuación se describen las pruebas PCR y PDR utilizadas para el estudio de la malaria en Honduras.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta técnica consiste en la detección de ADN de *Plasmodium* amplificado a niveles detectables a partir de cantidades pequeñas presentes en muestras de sangre de pacientes sospechosos de malaria o con malaria confirmada microscópicamente. La técnica se puede realizar a partir de sangre total anticoagulada, muestra de sangre en papel filtro o láminas coloreadas. El ADN amplificado o producto de PCR puede observarse en la electroforesis de un gel de agarosa donde los productos se colorean con bromuro de etidio y pueden compararse con el tamaño de los fragmentos de un marcador de peso molecular estándar (Fig. No. 1). El costo de una prueba utilizando esta técnica se estima entre US \$2.00 - 3.00. En el estudio molecular de la malaria en Honduras, esta prueba se puede utilizar en las situaciones que se describen a continuación:

1. **Detección de infecciones subclínicas:** En vista de la mayor sensibilidad de PCR en comparación con la gota gruesa, esta prueba es ideal para la detección de casos subclínicos con parasitemia baja no detectable por microscopía. En esta situación se utilizan marcadores moleculares que amplifiquen genes conservados, por ejemplo la sub-unidad ribosomal 18 (18S rRNA) tanto para *P. vivax* como *P. falciparum*.
2. **Caracterización de la diversidad genética (polimorfismos) de *Plasmodium*:** Utilizando PCR para amplificar genes polimórficos (variables) de *Plasmodium* spp., es posible tipificar los parásitos y distinguirlos utilizando los productos amplificados como marcadores de la diversidad genética. Para *P. vivax* se cuentan, entre otros, con marcadores de los genes de la Proteína 1 de la Superficie del Merozoito (MSP1), de la Proteína del Circumsporozoito (CSP) y la Proteína del Gametocito (GAM1). Para *P. falciparum* se cuenta, entre otros, con marcadores del Bloque 2 de MSP1 que presenta tres variantes conocidas como MAD20, K1 y RO33. Se ha reconocido que los parásitos de *P. falciparum* de Honduras demuestran limitada diversidad genética y pocas infecciones policlonales.

Identificación de genes asociados a la resistencia de *P. falciparum* a la cloroquina: El marcador molecular PfCRT se ha asociado a parásitos *P. falciparum* resistentes a la cloroquina.

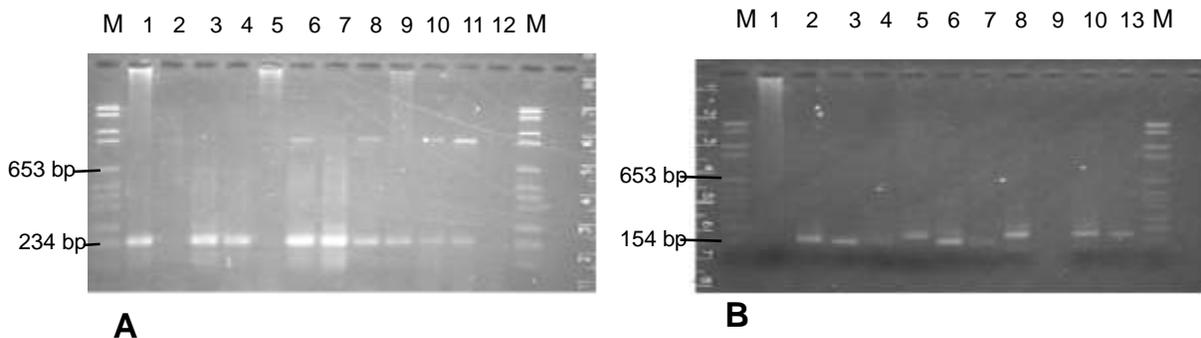


Figura No. 1. Electroforesis de gel de agarosa de productos de PCR de *Plasmodium falciparum* de pacientes residentes en el Municipio de Saba, Departamento de Colon. Variantes K1 (A) y MAD20 (B) del Bloque 2 de la Proteína 1 de la Superficie del Merozoito (MSP1). M= marcador de peso molecular (*BM molecular weight marker VI*), 1= NCH 2, 2= NCH 8, 3= NCH14, 4= NCH 57, 5= NCH 69, 6= NCH 89, 7= NCH 114, 8= NCH 116, 9= NCH 130, 10= NCH 132, 11= muestra control positiva *P. falciparum* Haití, 12= control de reacción de PCR sinADN, 13= muestra control positiva *P. falciparum* Indochina. Servicio de Parasitología, Departamento de Laboratorios Clínicos, Hospital Escuela.

Pruebas de diagnóstico rápido (PDR).

Las PDR detectan antígenos específicos (proteínas) producidos por *Plasmodium*, los cuales están presentes en la sangre de la persona infectada (infección actual o reciente). La muestra puede ser obtenida por pinchazo de dedo con lanceta o puede ser sangre venosa anticoagulada. Las PDR consisten en una detección inmunocromatográfica (reacción inmunológica detectada por cambio de color) de flujo lateral del antígeno, a través de la captura de anticuerpos marcados para producir una banda visible en una cinta de nitrocelulosa. El anticuerpo marcado primero se une al antígeno y luego el complejo antígeno-anticuerpo es capturado en la cinta por anticuerpos monoclonales adsorbidos en la misma, lo cual forma la banda visible. La cinta contiene un control que permite determinar la integridad del anticuerpo marcado. Algunas PDR pueden detectar solamente *P. falciparum*; otras pueden detectar una o más de las otras especies que infectan al humano (*P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*). El costo de una prueba se estima entre US \$1.50 - 3.00, lo cual puede ser hasta 30 veces mayor que el diagnóstico microscópico.

Las PDR pueden alcanzar sensibilidad superior al 95% en pacientes con densidades moderadas y altas; apoyan el diagnóstico de la malaria proporcionando evidencia de la presencia de parásitos en la sangre en situaciones donde el diagnóstico microscópico de buena calidad no está disponible o cuando un diagnóstico rápido permite iniciar un tratamiento diferenciado del paciente. Ese tratamiento o manejo diferenciado puede ser epidemiológico, por ejemplo la instalación de cerco epidemiológico en caso de identificación de casos de malaria por *P. falciparum*, o farmacológico, por ejemplo la detección de casos de malaria por *P. falciparum* en una zona donde los parásitos son

resistentes a la cloroquina. Tienen su mayor utilidad en Honduras cuando se utilizan para fortalecer la vigilancia de la malaria en las situaciones que se describen a continuación:

1. **Brote de febriles:** Cuando existe un brote de individuos con fiebre en una zona con riesgo de malaria, se debe investigar malaria como la causa de la fiebre. Las PDR se convierten en un instrumento ideal para la identificación rápida de la etiología malárica de la fiebre y contención del brote con medidas dirigidas a los individuos y al ambiente. Se recomienda utilizar una PDR que detecte tanto *P. falciparum* como *P. vivax*. En esta situación las PDR se utilizan en una búsqueda activa de casos febriles casa a casa con toma de muestra (PDR y gota gruesa / extendido fino) a todos los individuos febriles. En los casos PDR positiva, se debe obtener muestra de todos los convivientes con y sin fiebre.
2. **Evaluación de las intervenciones de prevención y control:** Las PDR pueden ser un instrumento útil cuando se desea evaluar el impacto de las intervenciones de prevención y control en localidades priorizadas en base a la intensidad de la transmisión (porcentaje acumulado de casos, IPA promedio ponderado de los últimos tres años, casos de malaria por *P. falciparum*) e intervenidas. En esta situación las PDR apoyan la detección de malaria en individuos febriles y en una muestra de individuos no febriles. Se recomienda utilizar una PDR que detecte tanto *P. falciparum* como *P. vivax*. Se realiza una búsqueda activa casa a casa con toma de muestra (PDR y gota gruesa / extendido fino) a todos los individuos febriles y cada cinco - diez casas a todos los individuos residentes, con y sin fiebre. En los casos PDR positiva, se debe obtener muestra de todos los convivientes con y sin fiebre.
3. **Vigilancia de la malaria por *P. falciparum*:** En localidades priorizadas por la incidencia de casos de malaria falciparum, se puede utilizar una PDR específica para fortalecer la vigilancia de la malaria por *P. falciparum* (Fig. No. 2). Las PDR pueden apoyar la instalación de un cerco epidemiológico oportuno a través de Técnicos de Salud Ambiental y otro personal de Salud y posterior detección pasiva de casos en Puestos de Notificación Voluntaria a través de Col-Vol capacitados en su uso.



Figura No. 2. Prueba de Diagnóstico Rápido *Malaria Pf* específica para detectar *P. falciparum*. Una prueba negativa (A) y una prueba positiva (B). En la imagen se observa la ventana donde se coloca la muestra del paciente marcada A, el pozo de la solución de lavado marcado B, la ventana del resultado de la prueba marcada T (test) y la ventana del resultado del control marcada C. Servicio de Parasitología, Departamento de Laboratorios Clínicos, Hospital Escuela.



1.6 Malaria y tamizaje en Bancos de Sangre

Aunque se ha informado de una variedad de agentes infecciosos que pueden ser transmitidos por transfusión sanguínea, a nivel global la malaria es una de las infecciones más frecuentemente transmitidas por esta vía. La malaria transfusional puede conllevar el desarrollo de complicaciones serias ya que el paciente que recibe la transfusión se encuentra debilitado. Además, la infección por *P. falciparum* puede ser rápidamente fatal. En países endémicos, como Honduras, el riesgo de malaria transfusional se constituye en un problema porque una proporción importante de los donadores pueden estar infectados, incluyendo aquellos con presentaciones subclínicas. Por otro lado, el simple rechazo de donadores puede significar un derroche de unidades de sangre altamente necesitadas y también puede erosionar la base de donadores. Por lo tanto, es necesario implementar una serie de acciones que permitan identificar la población de donadores con mayor riesgo de estar infectados. En Honduras, además del interrogatorio, no se realiza ningún tamizaje para investigar malaria en donadores. Algunas de las acciones que se han recomendado incluyen: un interrogatorio más específico, considerando la época estacional (alta y baja transmisión) y distribución geográfica (zonas con mayor o menor riesgo). Las pruebas y técnicas que se han utilizado incluyen gota gruesa (observación de 300 campos microscópicos), detección de anticuerpos (inmunofluorescencia indirecta, ELISA), detección de antígenos (ELISA, pruebas rápidas) y detección de ADN (PCR). Además, se ha ensayado la administración de antimaláricos a los receptores de la transfusión, así como el tratamiento *in vitro* de las unidades recolectadas con antimaláricos. No importa cual sea la estrategia adoptada, siempre pueden ocurrir los casos de malaria transfusional, por lo que se debe considerar malaria en cualquier paciente que presente fiebre después de una transfusión.

CAPITULO 2

Preparación de las muestras y coloración

2.1 Obtención y manejo de las muestras

La mejor muestra para la preparación de la gota gruesa y extendido fino es sangre periférica obtenida por pinchazo con lanceta o sangre venosa recién tomada. Se recomienda tomar la muestra por pinchazo del dedo anular y en niños en menores de 3 años por pinchazo del lóbulo de la oreja o talón del pie. También es posible utilizar sangre anticoagulada. En este caso, la muestra se debe dejar secar por más tiempo (10 minutos adicionales) ó intensificar el proceso de secado con calor moderado, aproximadamente 60° C, para evitar el lavado de la muestra durante el proceso de coloración.

2.2 Normas de bioseguridad

El personal involucrado en la toma de las muestras, debe seguir lineamientos de bioseguridad ya que todas las muestras de sangre son potencialmente infecciosas. Los Virus de la Hepatitis y el VIH se encuentran entre los agentes infecciosos más peligrosos que pueden ser transmitidos por la manipulación de la sangre. El principal riesgo al manipular las muestras es la contaminación de las manos y de las mucosas de los ojos, la nariz y la boca. La contaminación puede ser producida por lesiones penetrantes causadas por objetos cortantes o punzantes y por derrames o salpicaduras de la muestra.

Para reducir el riesgo de contaminación se recomienda:

1. Todo el personal debe estar suficientemente capacitado en relación con las tareas que desempeñan en la Unidad de Diagnóstico y debe guiarse por procedimientos operativos estándar consignados por escrito.
2. El trabajo en las Unidades de Diagnóstico se debe realizar utilizando ropa de protección (batas o gabachas manga larga) que debe quitarse antes de salir de la Unidad.
3. Se debe utilizar guantes descartables al manipular las muestras de sangre. No se debe salir ni caminar por la Unidad con los guantes puestos.
4. No se debe tocar los ojos, la nariz u otras mucosas expuestas, ni la piel con las manos enguantadas. Cuando se considere que los guantes se han contaminado, deben descartarse. Se debe lavar las manos y utilizar guantes nuevos.
5. Se debe lavar las manos con agua y jabón inmediatamente después de cualquier contaminación y una vez finalizado el trabajo, haya o no utilizado guantes.
6. Las heridas punzantes, los cortes y la piel contaminados por derrames o salpicaduras de sangre, deben lavarse a fondo con agua y jabón. Conviene hacer sangrar la herida.
7. Debe comunicarse de inmediato al supervisor de la Unidad de Diagnóstico todo derrame, accidente y contacto manifiesto o probable con muestras infecciosas, y se adoptarán las medidas apropiadas para evitar su repetición en el futuro.
8. No se debe comer, beber ni fumar en las Unidades de Diagnóstico.



9. Solo el personal autorizado debe tener acceso a las Unidades de Diagnóstico.
10. Cada Unidad de Diagnostico debe contar con un botiquin con insumos básicos para primeros auxilios
11. Las lancetas o jeringas usadas se deben colocar en un recipiente, resistente a perforaciones y con cierre hermético,conteniendo una solución de cloro activo al 0.5%.
12. Se deben desinfectar las superficies de trabajo al concluir las operaciones y al final del día. Se recomienda una solución de cloro activo al 0.5%, la cual debe estar protegida de la luz y el calor. La solución de cloro se puede preparar utilizando un blanqueador líquido doméstico (hipoclorito de sodio), o compuestos de cloro disponibles en polvo (hipoclorito de calcio, cloramina, o cloruro de cal) o en tabletas (dicloroisocianurato de sodio). A continuación se describe la preparación de una solución de cloro diluida al 0.5%.

Blanqueador líquido.

El cloro líquido doméstico tiene diferentes concentraciones y cualquiera de ellas se puede utilizar haciendo el cálculo con la siguiente fórmula:

$$\frac{\% \text{ de cloro en el blanqueador líquido}}{\% \text{ de cloro deseado}} - 1 = \text{partes totales de agua para cada parte de blanqueador}$$

Ejemplo:

Para preparar una solución al 0.5% con 3.5% de blanqueador:

$$\frac{3.5\%}{0.5\%} - 1 = 7 - 1 = 6 \text{ partes totales de agua para cada parte de blanqueador}$$

Por lo tanto, se debe agregar 1 parte de blanqueador a 6 partes de agua para preparar una Sol. cloro al 0.5%. "Parte" se puede usar para cualquier unidad de medida (onza, litro, galón o cualquier recipiente). Algunos productos presentan el cloro activo como "grados cloro". Un grado cloro equivale a 0.3% de cloro activo.

Blanqueador en polvo.

Si se usa cloro en polvo, calcule la relación cloro-agua haciendo el cálculo con la siguiente formula:

$$\frac{\% \text{ de cloro deseado}}{\% \text{ de cloro en el blanqueador en polvo}} \times 1,000 = \text{número de gramos de polvo por cada litro de agua}$$

Ejemplo:

Para preparar una solución al 0.5% de polvo de hipoclorito de calcio con 35% de cloro activo:

$$\frac{0.5\%}{35\%} \times 1,000 = 0.0143 \times 1,000 = 14.3$$

Por lo tanto, se debe disolver 14.3 gramos de polvo de cloro en cada litro del agua usada para preparar una solución de cloro al 0.5%. Cuando se usa cloro en polvo, es probable que la solución de cloro resultante sea turbia (lechosa).

Blanqueador en tabletas.

Siga las instrucciones del fabricante, puesto que el porcentaje de cloro activo en estos productos varía.

2.3 Listado de insumos, material de vidrio, reactivos, soluciones y equipo

2.3.1 Insumos

- Algodón
- Bloque de madera o plástico con hendidura para secar las láminas
- Caja Portaláminas (100 c/u)
- Contador manual de células
- Cinta medidoras de pH (incluyendo rango 6.0 - 8.0)
- Formularios de registro de información
- Guantes
- Lancetas estériles descartables
- Lápiz carbón
- Lápiz graso
- Recipiente o bandeja cóncava para colorear
- Marcadores indelebles
- Papel filtro (Whatman No.1)
- Patrón de cartón para gota gruesa/extendido fino
- Portaobjetos
- Reloj marcador de tiempo

2.3.2 Material de vidrio

- Beaker
- Embudo (diámetro de 10 cm)
- Frascos goteros color ámbar (50 mL)
- Frascos boca ancha transparente y color ámbar (500 mL)
- Láminas portaobjetos de vidrio limpias y libres de grasa
- Mortero (diámetro interno de al menos 10 cm)
- Perlas de vidrio
- Probetas graduadas (50 y 100 mL)
- Termómetro (que mida al menos 100°C)

2.3.3 Reactivos y soluciones

- Aceite de inmersión
- Agua destilada
- Alcohol 70%
- Alcohol metílico absoluto (libre de acetona)
- Giemsa en polvo
- Glicerina
- Soluciones desinfectantes
- Soluciones amortiguadoras
- Wright en polvo

2.3.4 Equipo

- Balanza
- Baño María
- Microscopio binocular con objetivo de inmersión

2.4 Preparación de colorantes y soluciones

1) Solución de Giemsa (1000 mL)

Giemsa en polvo (certificado)	6 g
Glicerina pura	500 mL
Alcohol metílico absoluto (libre de acetona)	500 mL

Mezclar el Giemsa en polvo poco a poco con la glicerina en un mortero. Recoger en un frasco resistente al calor (erlenmeyer o beaker) que contenga unas 50 perlas de vidrio y disolver a baño maría a una temperatura de 55 a 60°C por dos horas; agitar suavemente a intervalos de 30 minutos. Con una parte del alcohol metílico se lava los restos de reactivo que quedaron en el mortero y se recogen en un frasco ámbar que contenga perlas de vidrio y que pueda cerrarse herméticamente. Esperar que la mezcla del baño maría se enfríe para agregarle el resto del alcohol. Mezclar bien y agregarlo al frasco ámbar, continuar agitando. Almacenar durante al menos dos semanas antes de usarlo. Mantenerse siempre bien cerrado y filtrar la solución antes de usarla (papel Whatman No. 1). Cuando se prepara una mayor cantidad, se recomienda fraccionar el colorante en varias botellas de 500 mL bien rotuladas y enumeradas. En el Cuadro No. 1 se señalan las proporciones para preparar diferente volumen del colorante.

Cuadro No. 1. Proporción de reactivos para la preparación de colorante Giemsa

Giemsa en polvo (gramos)	Metanol (mL)	Glicerina (mL)	Volumen total (mL)
0.6	50	50	100
6	500	500	1000
12	1000	1000	2000
24	2000	2000	4000

2) Soluciones amortiguadoras

Solución amortiguadora A (Solución ácida)

NaH ₂ PO ₄ (H ₂ O)	9.2 g
Agua destilada	1000 mL

Disolver la sal (fosfato sódico monobásico) en una pequeña cantidad de agua destilada. Una vez disuelta, agregar agua hasta completar 1000 mL. Mezclar bien e identificar. Esta sal se puede sustituir por fosfato potásico (KH₂PO₄).

Solución amortiguadora B (Solución básica o alcalina)

Na ₂ HPO ₄	9.5 g
Agua destilada	1000 mL

Disolver la sal (fosfato sódico dibásico) en una pequeña cantidad de agua destilada. Una vez disuelta, agregar agua hasta completar 1000 mL. Mezclar bien y guardar en frasco rotulado.

La solución amortiguadora para la coloración con Giemsa se prepara a partir de estas dos soluciones mezcladas en proporciones que producen un pH en el rango de 7.0 a 7.2; por ejemplo, para preparar 100 mL de solución amortiguadora pH 7.0, las proporciones son: 6.1 mL de solución alcalina y 3.9 mL de solución ácida y completar a 100 mL con agua destilada. En el Cuadro No.2 se señalan las proporciones.

Cuadro No. 2. Proporciones de reactivos para la preparación de solución amortiguadora.

pH	Solución Alcalina Na ₂ HPO ₄ (mL)	Solución Ácida NaH ₂ PO ₄ (mL)	Agua destilada (mL)	Volumen Final (mL)
6.8	49.6	50.4	900	1000
7.0	61.0	39.0	900	1000
7.2	72.0	28.0	900	1000

3) Solución de Wright

Wright en polvo (certificado)	3 g
Alcohol metílico absoluto	970 mL
Glicerina	30 mL

En un mortero colocar el Wright y agregar la glicerina poco a poco; macerar hasta obtener una pasta homogénea suave. Transferir a un frasco color ámbar diluyendo con alcohol metílico hasta eliminar todo el colorante del mortero. Agitar el frasco ámbar para lograr una mezcla completa, dejar madurar por una semana (se logra una mejor maduración si se incuba a 37°C). Mezclar por lo menos dos veces al día durante la maduración. Filtrar antes de su uso y almacenar de manera fraccionada en frascos ámbar, bien identificados y enumerados. La solución que está en uso se debe colocar en un frasco gotero. Para colorear utilizar solución amortiguadora de pH 6.8.

2.5 Preparación y coloración de la gota gruesa y el extendido fino

Preparación de la gota gruesa (ver Figs. No. 3 y No. 4)

1. Tener todos los materiales listos. Es importante que las láminas portaobjetos se encuentren limpias y libres de grasa que pueda interferir con la adhesión de la sangre a la superficie o con el deslizamiento de la misma en el caso del extendido.
2. Frotar enérgicamente la yema del dedo del paciente (se prefiere el dedo anular de la mano izquierda, talón en caso de niños pequeños ó lóbulo de la oreja) con algodón humedecido con alcohol al 70% (Fig. No. 4.1). Secar con algodón seco. El dedo se sostiene enérgicamente (importante en caso de niños) y se pincha en forma rápida (Fig. No. 4.2). La primera gota de sangre se seca con el algodón seco.

3. Se utilizan dos láminas portaobjetos. En el centro de una de ellas se depositan tres gotas de sangre que se obtienen por presión leve en el dedo (Fig. No. 4.3). Sobre la superficie de trabajo y usando la esquina de la segunda lámina, se extiende la sangre de manera que forme un rectángulo de grosor uniforme, con dimensiones de 1.5 x 1.0 cm (Fig. No. 4.5).
4. Para identificar la muestra se prepara un extendido de identificación. Depositar una segunda gota de sangre aproximadamente a 1 cm de la gota gruesa y, utilizando la esquina de la segunda lámina, se extiende la sangre como se realizó en el paso 4, con dimensiones de 2.0 x 1.0 cm (Fig. No. 3, Esquema 1).
5. Dejar secar con aire o con calor moderado (hasta 60°C).
6. Con un lápiz grafito identificar la muestra en el extendido de identificación, escribiendo la clave de la Unidad de Diagnostico o el Puesto de Notificación Voluntaria y el número correlativo de la muestra (Fig. 3, Esquema 1).

Coloración de la gota gruesa

Solución de trabajo: 2 gotas de sol. de Giemsa por cada mililitro de sol. amortiguadora pH 7.0-7.2 ó 1 mL de solución de Giemsa en 10 mL de sol. amortiguadora pH 7.0-7.2 para obtener una solución de trabajo de 10% o 1:10, para colorear unas 5 láminas portaobjetos (aprox. 2 mL/lámina). No se debe colorear una gota gruesa con coloración de Wright porque este colorante fija la muestra.

1. Colocar la lámina portaobjetos en un recipiente de coloración o con la muestra hacia la concavidad de la bandeja de coloración. En este caso, deslizar la solución de trabajo recién preparada por debajo de la lámina hasta que se llene el espacio, eliminando las burbujas. Colorear durante 8-10 minutos.
2. El exceso de colorante se lava sumergiendo con delicadeza la lámina portaobjetos en un recipiente con agua corriente del grifo.
3. La muestra se puede secar con aire o calor moderado. Observar al microscopio con objetivo de 100X y aceite de inmersión.

Preparación del extendido fino (ver Figs. No. 3 y No. 4)

1. Observar pasos 1 y 2 de la preparación de la gota gruesa. Se utilizan dos láminas portaobjetos. Después de colocar una gota de sangre en una de las láminas, el borde de la segunda lámina se coloca en un ángulo de 45 grados y se mueve hacia atrás hasta que toca la gota de sangre y entonces se desliza hacia adelante para que la sangre se extienda (Fig. No. 4.4). La gota de sangre debe ser pequeña de tal manera que sea totalmente extendida antes de llegar al final de la lámina donde se está extendiendo. Este extremo del extendido fino debe tener el grosor de una sola capa de glóbulos rojos. El extendido fino se puede preparar en una lámina individual o en la misma lámina donde se preparó la gota gruesa. Cuando el extendido fino se seca, se puede utilizar su extremo grueso para identificar la muestra con un lápiz grafito (Fig. 3, Esquema 2) y (Fig. No. 4.6).

Coloración del extendido fino (Giemsa)

1. Utilizar la solución de trabajo descrita en el paso 1 de la coloración de la gota gruesa.
2. El extendido fino seco se fija cubriéndolo con 2-3 gotas de alcohol metílico, dejándolo secar nuevamente. Cuando se prepare la gota gruesa y el extendido fino en una misma lámina portaobjetos, una vez que ambos ya están secos, proceder a fijar el extendido fino. Para ello, colocar la lámina portaobjetos en posición vertical en el bloque de secado con la gota gruesa hacia arriba y el extendido fino hacia abajo. Con ayuda de una pipeta Pasteur o frasco gotero, verter las gotas de alcohol metílico sobre el extendido fino.
3. Colorear la lámina en bandeja cóncava, como en el paso 2 de la coloración de la gota gruesa.
4. Lavar el exceso de colorante como en el paso 3 de la coloración de la gota gruesa.
5. La muestra se puede secar con aire o calor moderado. Observar con objetivo de 100X y aceite de inmersión.

Coloración del extendido fino (Wright)

1. Cuando el extendido fino se colorea con coloración de Wright, no es necesario fijarlo con metanol puesto que la solución de Wright contiene suficiente cantidad de metanol para fijar y colorear la muestra simultáneamente.
2. Agregue el número de gotas de colorante que sean necesarias para cubrir la muestra. Coloree por 1-3 minutos (el tiempo óptimo de coloración variará con cada botella de colorante).
3. Agregue un número igual de gotas de solución amortiguadora pH 6.8 sobre la muestra, asegurándose que el colorante y la solución se mezclan (puede ayudar soplando sobre la superficie). Colorear durante 4-8 minutos.
4. Lavar con agua corriente del grifo o con una pizeta. Dejar secar y observar al microscopio con el objetivo de inmersión.

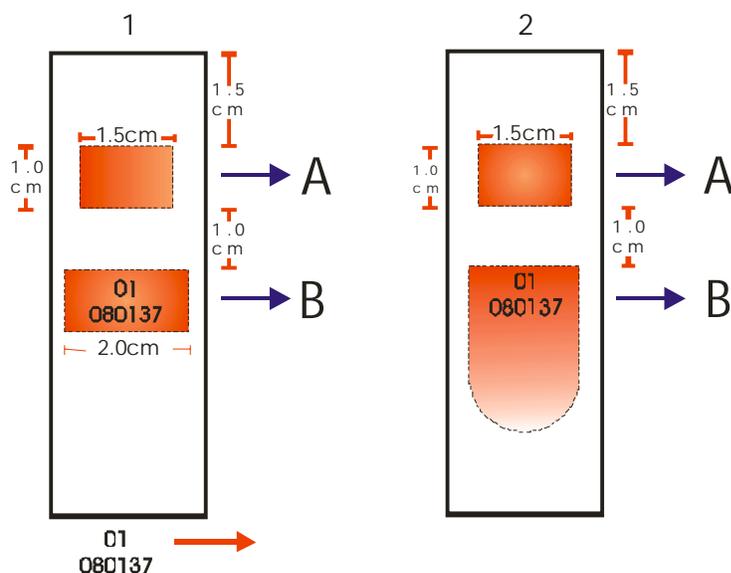


Figura No. 3. Esquema de un patrón para la preparación de las muestras de sangre. Esquema 1: gota gruesa (A) y extendido de identificación; Esquema 2: gota gruesa (A) y extendido fino (B).

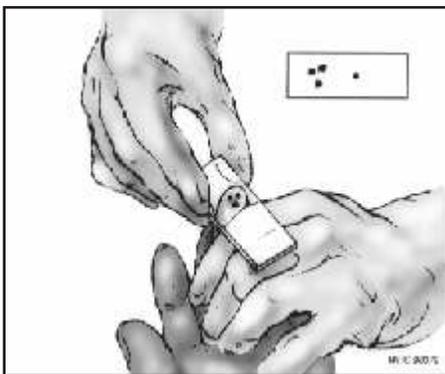
4.1



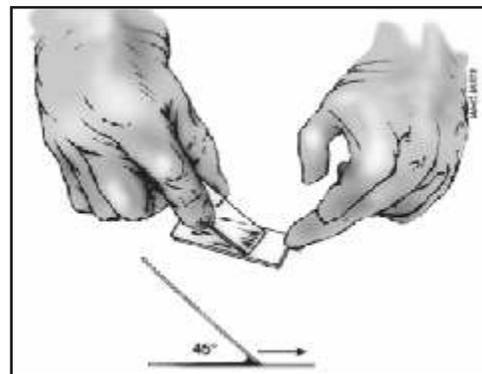
4.2



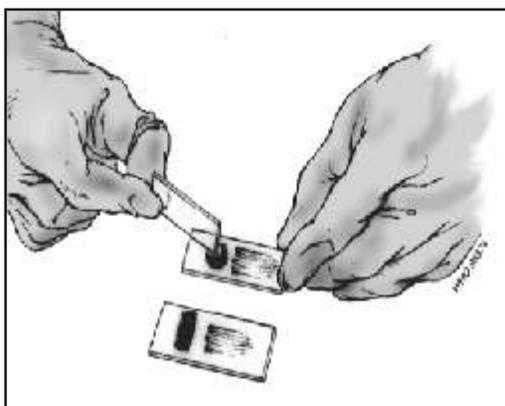
4.3



4.4



4.5



4.6

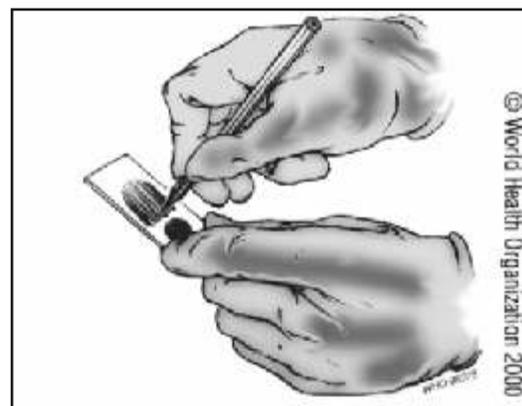


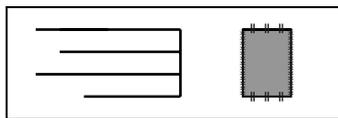
Figura No. 4. Preparación de la gota gruesa y extendido fino en la misma lámina portaobjetos (Fuente: Organización Mundial para la Salud. Lámina 3. Figuras 1-6. Medios Auxiliares para el diagnóstico de las infecciones palúdicas. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, 2000. OMS Sitio Web: <http://www.who.int>).

2.6 Errores comunes en la preparación de las muestras

Al preparar la gota gruesa y el extendido fino se pueden cometer errores que pueden afectar la rotulación, la coloración o el examen microscópico de las muestras, y en algunos casos a más de una de estas operaciones. Los errores más comunes se describen a continuación.

Muestras mal colocados

Las muestras no deben colocarse cerca de los extremos de la lámina porque será difícil su examen microscópico. Además, alguna porción de la muestra puede rayarse y hasta desaparecer durante el proceso de coloración.



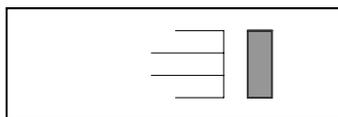
Exceso de sangre

El exceso de sangre puede producir un fondo demasiado azul y exceso de leucocitos que dificultan la observación microscópica en la gota gruesa. En el extendido fino, provocará que los glóbulos rojos queden traslapados y también dificultará la observación microscópica.



Muy poca sangre

Si la gota gruesa se prepara con muy poca sangre no proporcionará un resultado confiable. Si el extendido fino es muy pequeño, no podrá utilizarse para rotular la muestra.



Muestras preparadas en una lámina portaobjetos sucia

La preparación de muestras sobre láminas grasientas produce un patrón irregular en el extendido fino y provocará lavado de la gota gruesa en el proceso de coloración.

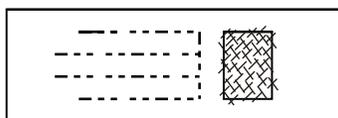
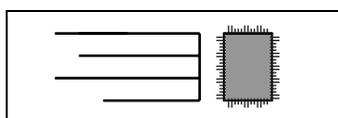


Lámina portaobjetos extensora con borde astillado

Si el borde de la lámina extensora está astillado, el extendido fino no se extiende de manera uniforme produciendo muchas colas. La gota gruesa también puede resultar irregular.





Otros errores

- Muestras preparadas sobre láminas muy opacas, rayadas o superficie iridiscente.
- Gota gruesa de forma irregular con zonas más gruesas formadas durante el proceso de secado.
- La autofijación de la gota gruesa por exposición a calor o transcurso de demasiados días entre su preparación y coloración, lo que dificulta la observación.
- Láminas envueltas en el formulario antes de que la muestra esté lo suficientemente seca lo que permite que la muestra se pegue en el papel.
- Láminas no coloreadas y descubiertas pueden ser dañadas por insectos (moscas, hormigas, cucarachas, otros).

2.7 Transporte y envío de muestras desde el Puesto de Notificación Voluntaria

Se debe esperar que las muestras se sequen completamente antes de rotularlas y proceder a envolverlas en su respectivo formulario M-1. Las muestras se deben guardar en el botiquín o lugar designado en el Puesto de Notificación Voluntaria hasta que sean transportadas a la unidad de diagnóstico correspondiente. Se debe evitar que durante el transporte las muestras sean expuestas a temperaturas extremas o golpes. Ver en el Capítulo 7 las recomendaciones para la organización comunitaria e institucional para el envío oportuno de muestras.

CAPITULO 3

Características diagnósticas de los parásitos *Plasmodium*

En la gota gruesa el fondo debe aparecer limpio, exento de residuos y los parásitos deben encontrarse en forma libre. Los núcleos de los leucocitos o glóbulos blancos deben aparecer teñidos de un color púrpura oscuro intenso y los parásitos deben verse con la cromatina de color rojo oscuro y el citoplasma azul purpúreo pálido. En el extendido fino, se observan los leucocitos completos (núcleo y citoplasma) y los parásitos se encuentran intracelulares en los glóbulos rojos o eritrocitos (ver Fig. No. 5). El pigmento malarico se observa de color pardo-amarillo.

3.1 Elementos formes de la sangre

Es necesario reconocer las diferentes células y componentes encontrados en la sangre. Su apariencia difiere levemente en la gota gruesa y el extendido fino.

3.1.1 Elementos formes de la sangre en la gota gruesa (ver Figs. No. 6A - D)

Cuando la gota gruesa se examina con un objetivo de inmersión, se observa lo siguiente:

- Restos de glóbulos rojos
- Leucocitos
- Plaquetas o trombocitos

El proceso de deshemoglobinización ocurre mientras la gota gruesa se colorea con el colorante Giemsa produciendo que el contenido de los glóbulos rojos sea disuelto dejando solamente restos de su estructura. Los leucocitos y las plaquetas tienen una apariencia similar a la que muestran en el extendido fino. En general, los leucocitos se observan más pequeños, con el citoplasma más compacto alrededor del núcleo, porque no han sido extendidos en una sola capa sobre la lámina.

3.1.2 Elementos formes de la sangre en el extendido fino

Cuando el extendido fino se examina con un objetivo de inmersión, se observa lo siguiente:

- Glóbulos rojos
- Leucocitos
- Plaquetas

Glóbulos rojos

Los glóbulos rojos tienen una forma de disco bicóncavo. Es la célula más común que se encuentra en el extendido fino. Hay cerca de 5,000,000 de glóbulos rojos por cada microlitro de sangre. Con una buena coloración de Giemsa, los glóbulos rojos, que miden aproximadamente 7.5 μm de diámetro y no tienen núcleo, se colorean rosa-grisáceo pálido. Sin embargo, algunas células inmaduras pueden contener material que se colorea diferente y parecen más grandes que los glóbulos rojos normales. Estos se denominan reticulocitos.

Leucocitos

El número total de leucocitos por microlitro de sangre oscila entre 6,000 y 8,000 células. Existen diferentes tipos de leucocitos los cuales se colorean de manera diferenciada. En el extendido fino se les puede reconocer el núcleo, el citoplasma y la membrana celular. Cada leucocito contiene un núcleo rodeado por citoplasma, algunos tienen núcleo multilobulado y algunas veces el citoplasma es de apariencia granular. Los leucocitos pueden dividirse en dos grupos.

Grupo 1. Leucocitos multilobulados o polimorfonucleares.

Neutrófilos: Corresponden hasta el 60-65% del total de los leucocitos de una persona sana. Tienen gránulos bien definidos en el citoplasma y núcleo que se colorea púrpura intenso. En algunos casos de malaria se pueden observar neutrófilos conteniendo pigmento malárico, como un producto final de la fagocitosis de los parásitos. Eosinófilos: Corresponden a 1-4% del total de leucocitos de una persona sana. La apariencia granular del citoplasma es bien característica, con gránulos color rosado. Basófilos: Son infrecuentes; usualmente corresponden a menos del 1% del total de leucocitos de una persona sana. Sus gránulos son grandes y de color azul o morado pálido.

Grupo 2. Leucocitos no-multilobulados o mononucleares.

Monocitos: Son los leucocitos de mayor tamaño, diámetro de 12-18 μm . El núcleo grande tiene forma de riñón o frijol y el citoplasma puede contener poca cantidad de gránulos de color rosado o rojo. Corresponden a 2-10% del total de leucocitos de una persona sana. También pueden fagocitar parásitos. Linfocitos: Los dos tipos de linfocitos, grandes y pequeños, corresponden a 20-45% del total de leucocitos de una persona sana. El núcleo del linfocito grande es redondo y de color morado intenso. El citoplasma se colorea azul celeste y puede presentar algunos gránulos morado claro. El linfocito pequeño es escasamente más grande que un glóbulo rojo. Tiene poco citoplasma y su núcleo se colorea azul oscuro.

Plaquetas

Son pequeños cuerpos de forma irregular que se colorean de rojo y que no poseen núcleo. Se estiman unas 100,000 plaquetas por microlitro de sangre. Con frecuencia aparecen en grupos de 5-10 pero puede agruparse un número mayor si el extendido fino no está bien hecho. Es importante identificarlas porque microscopistas sin experiencia pueden confundirlas con parásitos.

3.2 Características morfológicas de *Plasmodium* spp.

Los parásitos *Plasmodium* se colorean con Giemsa (gota gruesa y extendido fino) y con Wright (extendido fino) de una manera característica. En su desarrollo, el parásito pasa por una serie de estadios. Es posible distinguir diferentes componentes del parásito en la célula hospedera ya que en todos los estadios, las mismas partes del parásito se colorean de la misma forma (Fig. No. 5):

- Cromatina (componente del núcleo del parásito): usualmente redonda y se colorea de rojo intenso.
- Citoplasma: demuestra una serie de formas, desde la forma de anillo hasta una forma totalmente irregular. Siempre se colorea de azul, aunque la intensidad del color azul puede variar entre diferentes especies de parásito.

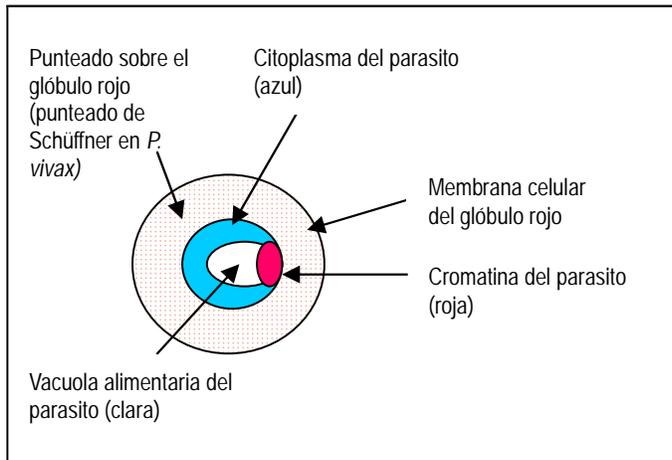


Figura No. 5. Parásito *Plasmodium* intracelular en el glóbulo rojo demostrando sus diferentes componentes.

3.2.1 Estadíos del parásito

Trofozoíto: Este es el estadio más frecuentemente encontrado. En la fase de desarrollo más temprano comúnmente se le denomina "anillo", aunque a veces puede tener la forma de un anillo incompleto. Como este es un estadio que crece, el parásito dentro del glóbulo rojo puede variar de tamaño de pequeño a grande. El pigmento aparece a medida que el parásito crece. El pigmento malarico es un producto del metabolismo del parásito y no se colorea, pero tiene su propio color, el cual oscila entre amarillo pálido hasta café oscuro o negro.

Esquizonte: En este estadio, el parásito comienza a reproducirse. A esta reproducción se le denomina asexual porque el parásito no es hembra ni macho pero se reproduce por simple división celular. Hay varias fases en este estadio: desde parásitos con dos fragmentos de cromatina hasta aquellos con muchos puntos de cromatina y citoplasma definido. Al proceso de formación de esquizontes, en la sangre (esquizonte sanguíneo) y en el hígado (esquizonte tisular), se le denomina esquizogonia.

Gametocito: Es el estadio sexual en el cual el parásito se convierte en hembra o macho preparándose para la siguiente fase que ocurre en el estómago del mosquito hembra del género *Anopheles*. Los gametocitos pueden tener forma redonda o forma de banano o luna creciente, dependiendo de la especie. La forma en que el parásito se colorea, permite identificar si es un gametocito hembra (macrogametocito) o macho (microgametocito).

3.2.2 Especies de *Plasmodium*

Para identificar las cuatro especies de *Plasmodium* que parasitan a los seres humanos, se deben reconocer sus características morfológicas en sus diferentes estadios de desarrollo (gota gruesa y extendido fino) y su efecto sobre los glóbulos rojos parasitados (extendido fino).

Hay cuatro especies de *Plasmodium*:

- *Plasmodium vivax*: la especie más común en Honduras y en la sub-región de Centro América. Es la especie más común en las zonas menos calientes del trópico y el parásito más grande encontrado en el humano.
- *Plasmodium falciparum*: la segunda especie en frecuencia en Honduras y en la sub-región de Centro América. Es la especie más común encontrada en las zonas más calientes del trópico y la más frecuentemente asociada con casos complicados y fatales.

- *Plasmodium malariae*: Es la especie menos común pero se encuentra en muchos lugares alrededor del mundo y se ha informado de la sub-región de Centro América.
- *Plasmodium ovale*: Una especie rara pero se ha informado de muchos países, especialmente de África. No se encuentra en el continente americano. Se puede confundir con *P. vivax*.

Apariencia de los parásitos en la gota gruesa: Así como los leucocitos, los parásitos en la gota gruesa parecen más pequeños que en el extendido fino. Se necesita mirar detenidamente y enfocar ajustando el tornillo micrométrico para observar a diferentes niveles de profundidad en la muestra. Los anillos finos de citoplasma de los trofozoítos más jóvenes parecen incompletos o interrumpidos. La ausencia de glóbulos rojos hace que no se pueda apreciar el punteado de Schüffner (*P. Vivax*); aunque en la periferia de la muestra, en las partes más delgadas, se pueden observar algunos glóbulos rojos "fantasmas" que contienen el punteado. Las fisuras de Maurer (*P. falciparum*) no pueden ser vistas en la gota gruesa. Ver Fig. No. 6 A-D y Cuadro No. 3 para la descripción de las características de los parásitos *Plasmodium* en la gota gruesa.

Apariencia de los parásitos en el extendido fino: El efecto de los parásitos sobre el glóbulo rojo es una característica muy útil para diferenciar entre las especies de *Plasmodium*. Estas características incluyen el tamaño de los glóbulos rojos (aumentado o no) y el patrón de coloración que puede revelar punteado de Schüffner o fisuras de Maurer. Ver Fig. No. 7 A-D y Cuadro No. 3 para la descripción de las características de los *Plasmodium* y morfología del glóbulo rojo en el extendido fino.

En el caso de *P. falciparum*, generalmente solo se observan los trofozoítos más jóvenes (anillos) y los estadios sexuales o gametocitos (Cuadro No. 3). Esto se debe a que los otros estadios (trofozoítos en crecimiento y esquizontes) se encuentran citoadheridos o secuestrados en la microvasculatura. Este secuestro microvascular es mediado por una interacción receptor - ligando: los receptores en la superficie del eritrocito parasitado por *P. falciparum* (*Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 o *PfEMP1*) interactúan con ligandos en la superficie de las células endoteliales de capilares y vénulas (por ejemplo ICAM-1, CD-36, VCAM, CSA). El secuestro o citoadherencia en la microvasculatura ocasiona trastornos mecánicos y funcionales de la perfusión, nutrición y oxigenación de los tejidos, produciendo las complicaciones asociadas a la malaria falciparum (ver manifestaciones clínicas arriba). En infecciones con hiperparasitemia, los estadios maduros comienzan a circular y es un signo de malaria grave.

Cuadro No. 3. Comparación de las características morfológicas de los parásitos *Plasmodium*.
(Fuente: Comparación de las especies de *Plasmodium* spp. que parasitan a los seres humanos. División de Enfermedades Parasitarias, CDC, Atlanta, GA, Estados Unidos de América. Sitio Web: <http://www.cdc.gov>).

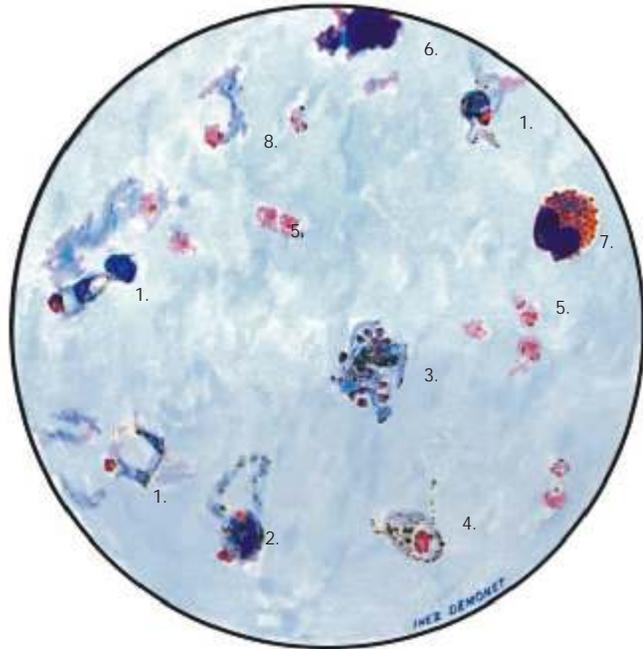
PARASITO	ESTADIO	MORFOLOGIA DEL PARASITO	MORFOLOGIA DEL ERITROCITO
<i>P. vivax</i>	Trofozoito anular o anillo	Citoplasma grande con pseudópodos ocasionales; punto grande de cromatina.	Normal 1¼ veces más grande; redondo; ocasionalmente punteado de Schüffner fino. Infección múltiple del eritrocito no es infrecuente.
	Trofozoito	Citoplasma ameboideo grande; cromatina grande; pigmento fino café amarillo.	Agrandado de 1½ a 2 veces, puede estar distorsionado. Punteado de Schüffner fino.
	Esquizonte	Grande, puede llenar todo el eritrocito; esquizonte maduro con 12-14 merozoitos; pigmento café-amarillo convergente.	Agrandado de 1½ a 2 veces, puede estar distorsionado. Punteado de Schüffner fino.
	Gametocito	Redondo a oval; compacto; puede casi llenar el eritrocito; cromatina difusa (microgametocito) o compacta y excéntrica (macrogametocito). Pigmento café disperso.	Agrandado de 1½ a 2 veces, puede estar distorsionado. Punteado de Schüffner fino.
<i>P. falciparum</i>	Trofozoito anular o anillo	Citoplasma delicado; 1-2 puntos pequeños de cromatina; ocasionalmente se observan formas marginales.	Normal; infección múltiple puede encontrarse más comúnmente que en las otras especies.
	Trofozoito	Muy raramente se observan en circulación porque están citoadheridos o secuestrados en la microvasculatura; citoplasma compacto; pigmento oscuro.	Normal; raramente se observan fisuras de Maurer (según las condiciones de la coloración)
	Esquizonte	Muy raramente se observan en circulación porque están citoadheridos o secuestrados en la microvasculatura. En el maduro 8-24 merozoitos pequeños, pigmento oscuro agrupado en una masa.	Normal; raramente se observan fisuras de Maurer (según las condiciones de la coloración)
	Gametocito	Forma de luna creciente o salchicha; cromatina difusa (microgametocito) o en una sola masa (macrogametocito). Masa de pigmento oscuro.	Distorsionado por el parásito

PARASITO	ESTADIO	MORFOLOGIA DEL PARASITO	MORFOLOGIA DEL ERITROCITO
<i>P. malariae</i>	Trofozoíto anular o anillo	Citoplasma grueso; cromatina grande.	Normal a $\frac{3}{4}$ de su tamaño.
	Trofozoíto	Citoplasma compacto; cromatina grande; pigmento grueso, café oscuro. Ocasionalmente formas en banda.	Normal a $\frac{3}{4}$ de su tamaño, ocasionalmente punteado de Ziemman (según coloración).
	Esquizonte	Esquizonte maduro con 6-12 merozoitos con núcleos grandes alrededor de una masa de pigmento café oscuro, ocasionalmente formas en "margarita".	Normal a $\frac{3}{4}$ de su tamaño, ocasionalmente punteado de Ziemman (según coloración).
	Gametocito	Redondo a oval; compacto; casi llena el eritrocito, cromatina difusa (microgametocito) o compacta y excéntrica (macrogametocito). Pigmento café disperso.	Normal a $\frac{3}{4}$ de su tamaño, ocasionalmente punteado de Ziemman (según coloración).
<i>P. ovale</i>	Trofozoíto anular o anillo	Citoplasma grueso; cromatina grande.	Normal $\frac{1}{4}$ veces más grande; redondo a ovalado; ocasionalmente punteado de Schüffner; ocasionalmente fimbriado; infección múltiple del eritrocito no es infrecuente.
	Trofozoíto	Compacto con cromatina gruesa; pigmento café oscuro.	Normal $\frac{1}{4}$ veces más grande; redondo a ovalado; algunos fimbriados, punteado de Schüffner.
	Esquizonte	Esquizonte maduro con 6-14 merozoitos con núcleos grandes alrededor de una masa de pigmento café oscuro.	Normal $\frac{1}{4}$ veces más grande; redondo a ovalado; algunos fimbriados, punteado de Schüffner.
	Gametocito	Redondo a oval; compacto; puede casi llenar el eritrocito, cromatina difusa (microgametocito) o compacta y excéntrica (macrogametocito). Pigmento café disperso.	Normal $\frac{1}{4}$ veces más grande; redondo a ovalado; algunos fimbriados, punteado de Schüffner.

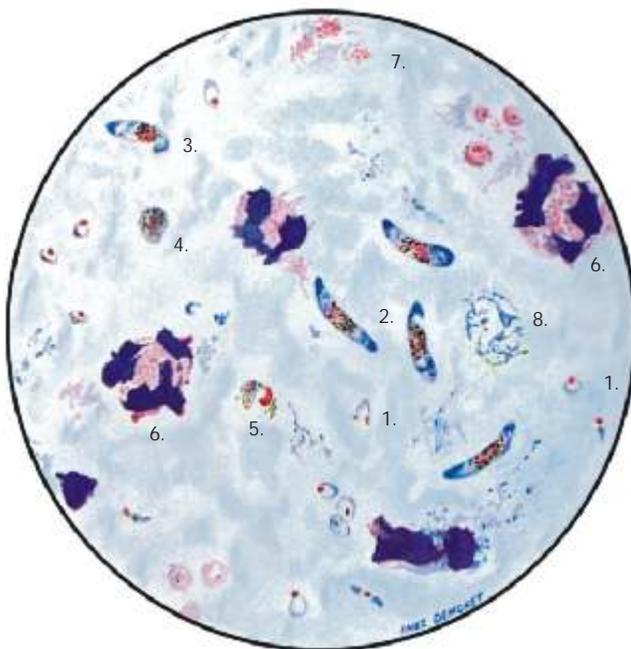
Figura No.6. Características de las diferentes especies de *Plasmodium* en la gota gruesa (Fuente: *Plasmodium* spp. Estadios sanguíneos, gota gruesa. División de Enfermedades Parasitarias, CDC, Atlanta, GA, Estados Unidos de América. SitioWeb: <http://www.cdc.gov>).

6A. *Plasmodium vivax*

1. Trofozoito anular o anillo
2. Esquizontes con dos fragmentos de cromatina
3. Esquizonte maduro
4. Gametocito
5. Plaquetas
6. Neutrófilo
7. Eosinófilo
8. Plaqueta asociada a restos de un glóbulo rojo joven



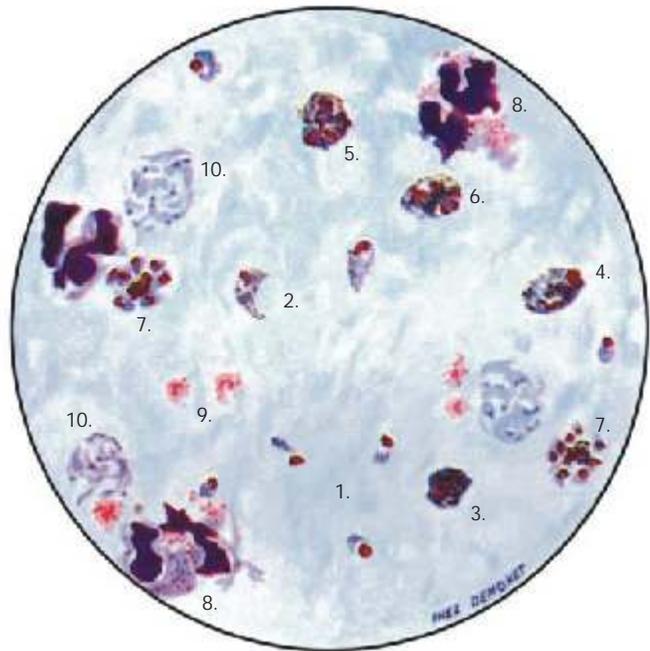
6B. *Plasmodium falciparum*



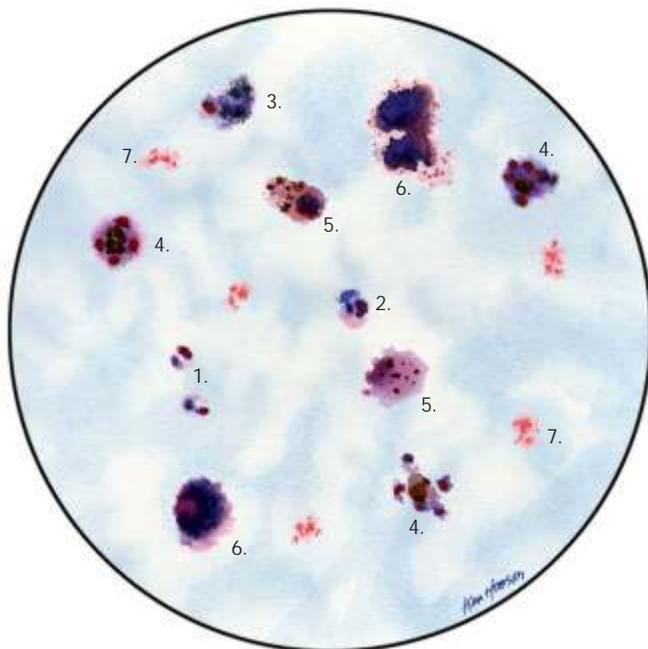
1. Trofozoito anular o anillo
2. Gametocitos normales
3. Gametocito levemente distorsionado
4. Gametocito enrollado
5. Gametocito desintegrado
6. Leucocito polimorfonuclear
7. Plaquetas
8. Restos de glóbulo rojo joven

6C. *Plasmodium malariae*

1. Trofozoíto anular o anillo
2. Trofozoito inmaduro
3. Trofozoíto maduro
- 4, 5, 6. Esquizontes con diferente número de Fragmentos de cromatina
7. Esquizonte maduro
8. Leucocito polimorfonuclear
9. Plaquetas
10. Restos de glóbulo rojo joven

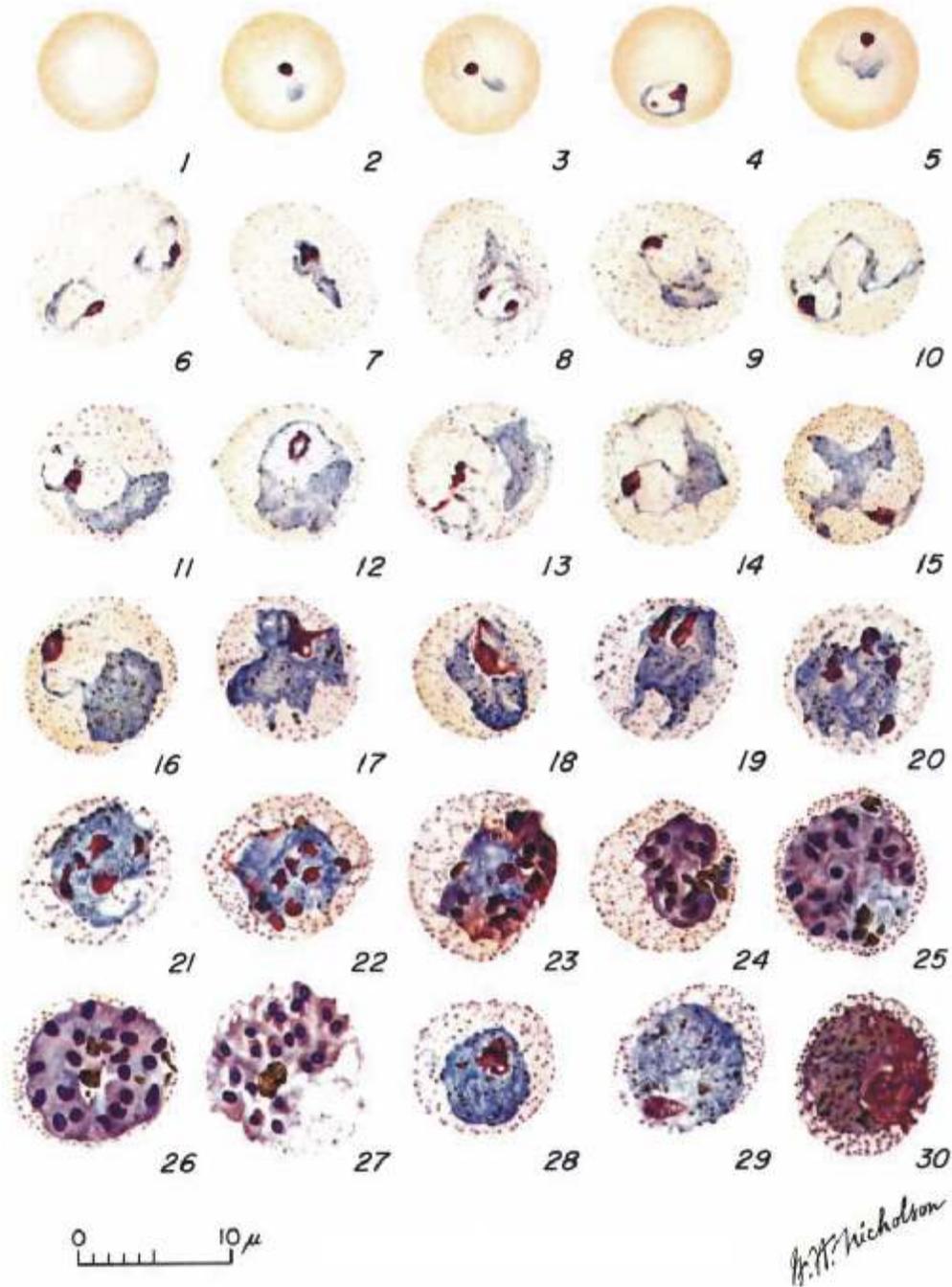


6D. *Plasmodium ovale*



1. Trofozoíto anular o anillo
2. Trofozoitos inmaduros
3. Trofozoitos maduros
4. Esquizontes
5. Gametocitos
6. Leucocitos polimorfonucleares
7. Plaquetas

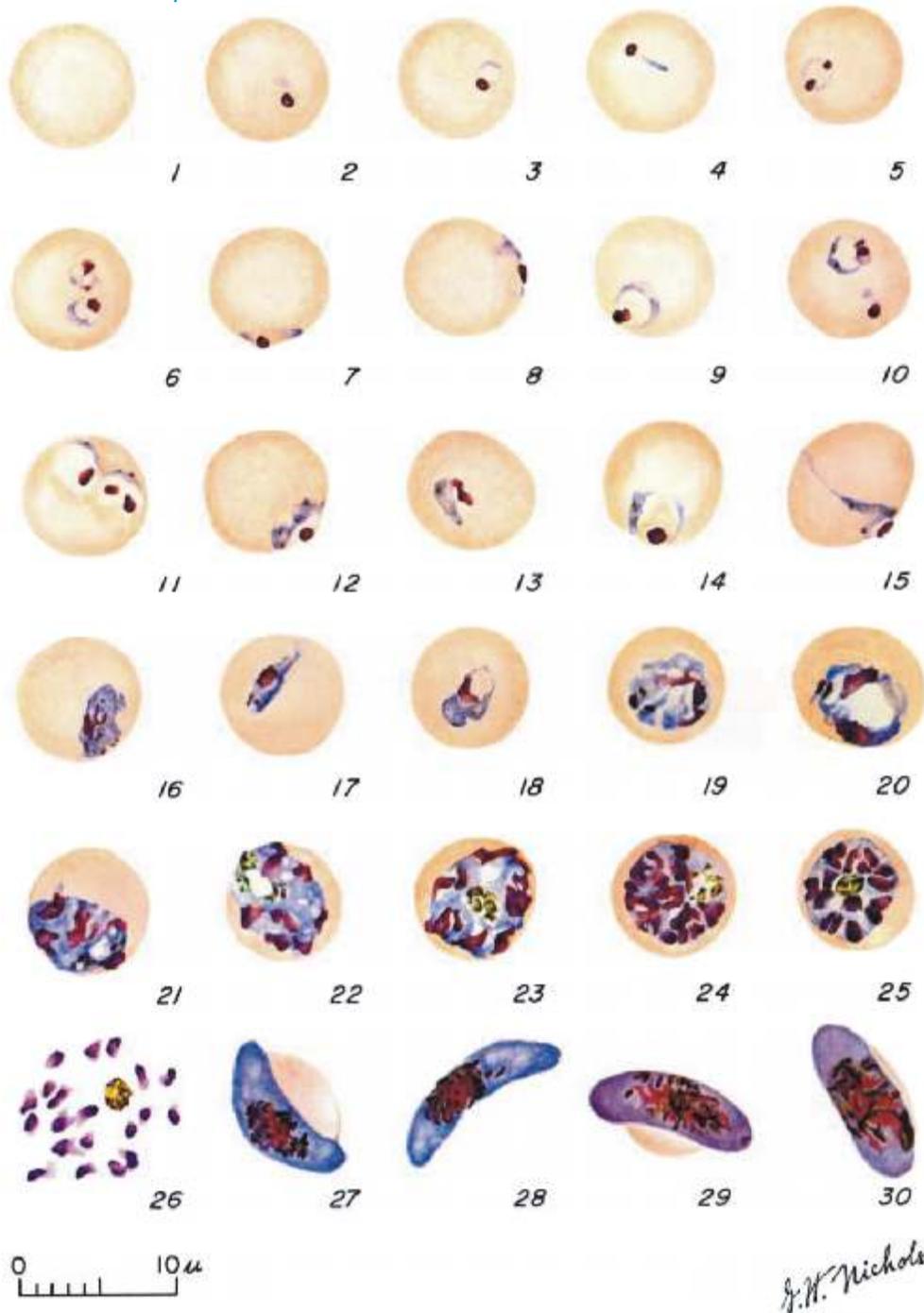
Figura No. 7. Características de las diferentes especies de *Plasmodium* en el extendido fino.
(Fuente: *Plasmodium* spp. Estadios sanguíneos, extendido fino. División de Enfermedades Parasitarias, CDC, Atlanta, GA, Estados Unidos de América. Sitio Web: <http://www.cdc.gov>).



1. Glóbulo rojo normal
- 2-6. Trofozoítos em forma anular
- 7-18. Trofozoítos

- 19-27. Esquizontes
- 28-29. Macrogametocitos (hembra)
30. Microgametocito (macho)

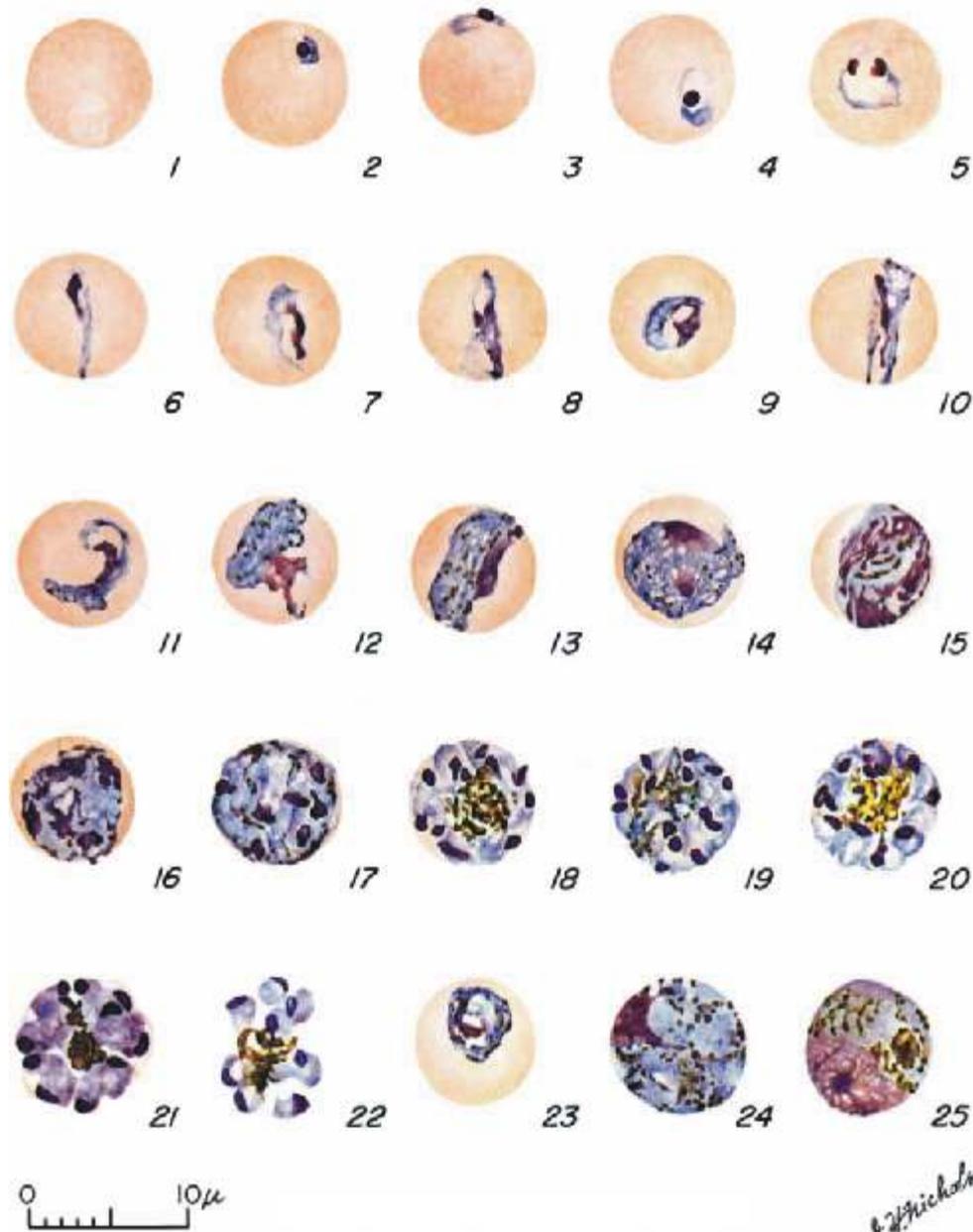
7B. *Plasmodium falciparum*



- 1. Glóbulo rojo normal
- 2-10. Trofozoitos em forma anular o anillos
- 11-18. Trofozoitos imaduros
- 19-26. Esquizontes

- 27-28. Gametocitos maduros (macrogametocito o hembra)
- 29-30. Gametocito maduro (microgametocito o macho)

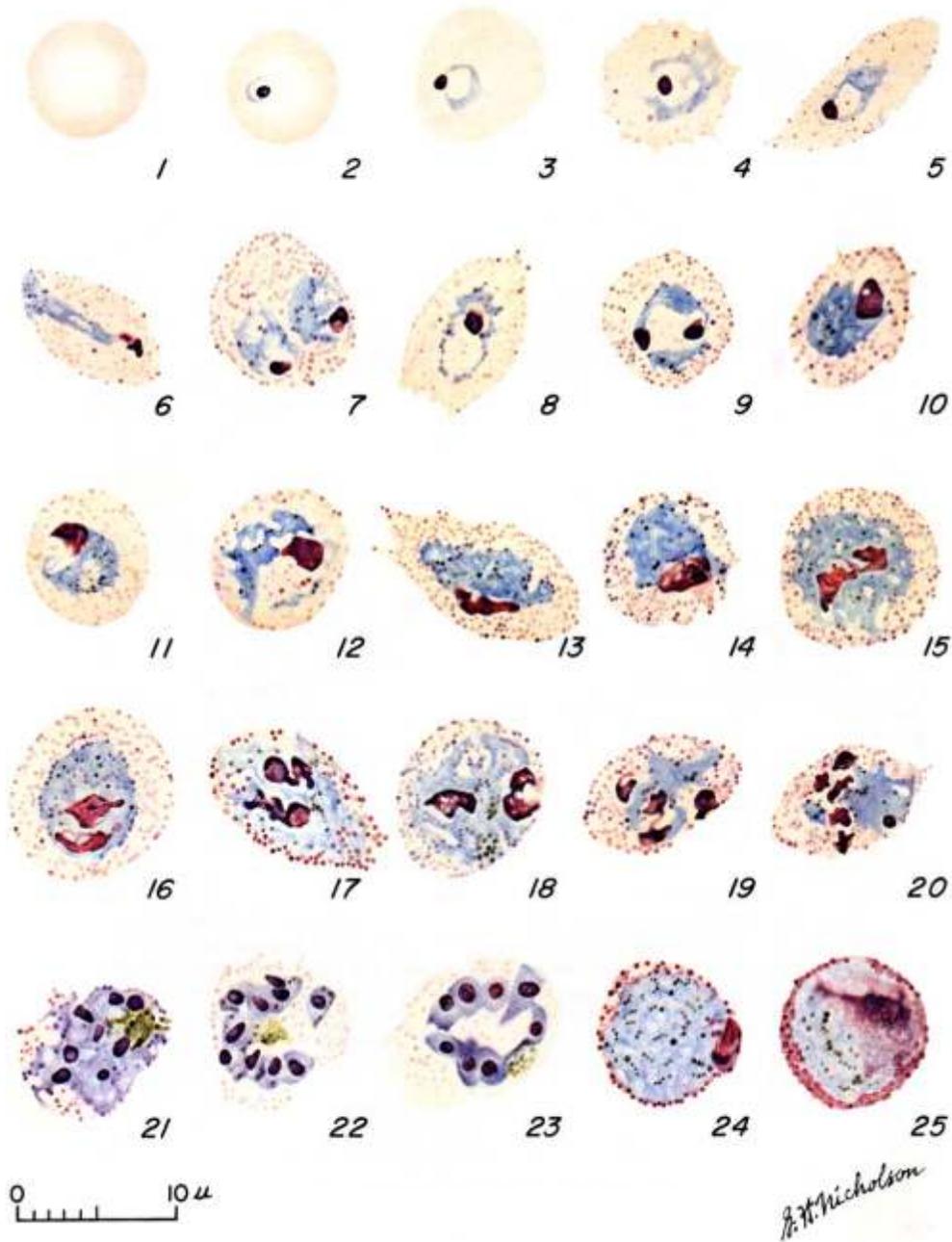
7C. *Plasmodium malariae*



- 1. Glóbulo rojo normal
- 2-5. Trofozoitos en forma anular o anillos
- 6-13. Trofozoitos
- 4-22. Esquizontes

- 23. Gametocito en desarrollo
- 24. Gametocito maduro (macrogametocito o hembra)
- 25. Gametocito maduro (Microgametocito o macho)

7D. *Plasmodium ovale*



- | | | | |
|--------|---------------------------------------|-----|--------------------------|
| 1. | Glóbulo rojo normal | 24. | Macrogametocito (hembra) |
| 2-5. | Trofozoitos en forma anular o anillos | 25. | Microgametocito (macho) |
| 6-15. | Trofozoitos | | |
| 16-23. | Esquizontes | | |

3.3 Artefactos

Las muestras de sangre, gota gruesa y extendido fino, pueden demostrar algunas características que producen confusión y dificultan el diagnóstico. Estas características se conocen como artefactos. Algunos artefactos son más comunes que otros y algunos se pueden prevenir (ver Figs. No. 8 y 9). Los hongos están entre los artefactos comunes y la mejor manera de prevenirlos es utilizar reactivos no contaminados (láminas, agua, soluciones) y colorear las muestras dentro de 48 horas de haber sido tomadas. Esto no siempre es posible. Otros contaminantes están en el ambiente y se depositan en las muestras: partículas de polvo, sucio, células vegetales y bacterias.

En las muestras también se pueden detectar otros parásitos o microorganismos, los cuales deben ser informados. A continuación se describen brevemente algunos microorganismos que se pueden detectar en la gota gruesa o extendido fino.

1. *Leishmania* spp. (Fig. No. 9.1): los amastigotes de *Leishmania* spp. se pueden observar libres o intracelulares en monocitos. Tienen una forma esférica a ovoide, tamaño de 1-5 μm de largo y 1-2 μm de ancho, y contienen un núcleo grande y un kinetoplasto (ADN extranuclear de forma ovoide o de barra).
2. *Histoplasma capsulatum* (Fig. 9.2): las esporas de *H. capsulatum* no deben confundirse con amastigotes. Se pueden observar libres o intracelulares en leucocitos polimorfonucleares o mononucleares; tienen una forma esférica a ovoide, tamaño de 2-4 μm de largo, y contienen un núcleo grande.
3. *Trypanosoma cruzi* (Fig. 9.3): los tripomastigotes de *T. cruzi* tienen una longitud de 12-30 μm , poseen un núcleo central y un kinetoplasto subterminal en el extremo posterior del parásito. El flagelo, adherido al cuerpo a través de una membrana ondulante, abandona el cuerpo en el extremo anterior. La porción libre del flagelo mide de 2-11 μm de largo.
4. Microfilarias (Fig. 9.4): Existen ocho especies de filarias (nematodos) que infectan varios tejidos del ser humano. Los parásitos pueden vivir varios años y las hembras producen microfilarias que circulan por la sangre y otros tejidos. La microfilaria que se observa en la figura es *Mansonella ozzardi*. Esta microfilaria no tiene vaina, mide 163-203 μm por 3-4 μm y posee una cola delgada cuyos núcleos no se extienden hasta el final.
5. *Babesia* spp (Fig. 9.5): este parásito, al igual que *Plasmodium*, infecta eritrocitos. Tiene formas múltiples: anillo, pera, huso, redonda, ameboide. Puede observarse individual, en parejas o múltiples de dos (tétradas), dependiendo de la especie. El tamaño puede variar de 1-5 μm .

Elementos de la Sangre



"Nubes" y restos de cromatina
derivados de glóbulos rojos
inmaduros en anemia severa.



Grupos aislados de
gránulos eosinofílicos.

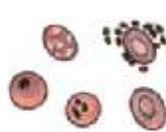


Plaquetas y un linfocito
para comparación de
tamaño.

Bacterias



Esporas



Células vegetales



Esporas e hifas



Miscelaneas



Partículas de polvo



Cristales de colorante
de Giemsa



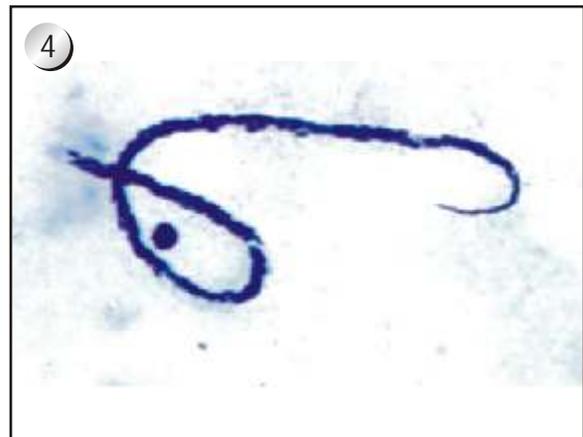
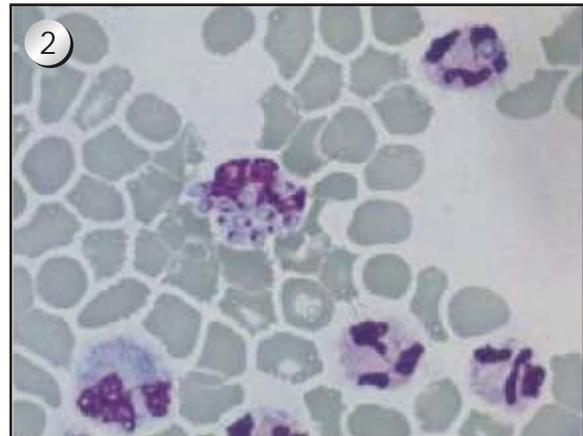
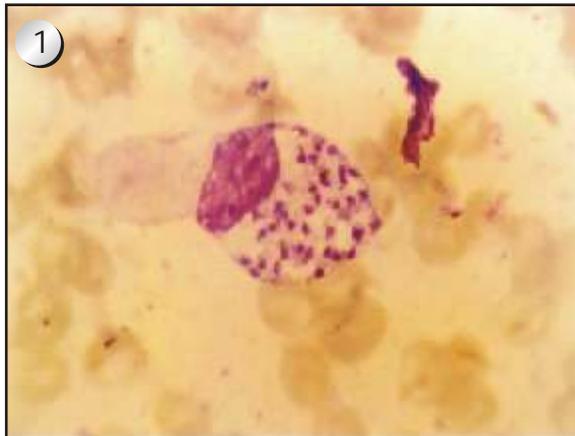
Rayones en forma de
espinazo de pescado
sobre la lámina
porta-objetos



"Huecos" cristalinos
en porta-objetos
viejos

Figura No. 8. Artefactos que se pueden encontrar en la observación microscópica de muestras de sangre (Fuente: World Health Organization. Basic Malaria Microscopy. Part I. Learner's Guide. Geneva 1991. SitioWeb: <http://www.who.int>).

Figura No. 9. Microorganismos que se pueden encontrar en la observación microscópica de muestras de sangre: amastigotes de *Leishmania* (1), levaduras de *Histoplasma* (2), tripomastigotes de *T. cruzi* (3), microfilarias (4) y *Babesia* (5).



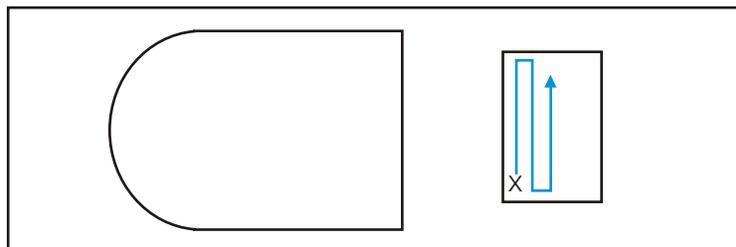
CAPITULO 4

Observación microscópica de las muestras de sangre

El diagnóstico microscópico de la malaria se basa en la observación inicial de la gota gruesa seguido de la observación del extendido fino en los casos que sea necesario. Se inicia observando la gota gruesa porque ésta es 20-30 veces más sensible que el extendido fino ya que está formada por una mayor cantidad de sangre en un área pequeña. Para observar el equivalente de 100 campos de gota gruesa (objetivo de inmersión), tendríamos que observar de 2000 a 3000 campos en el extendido fino. Por lo tanto, no se recomienda la observación microscópica del extendido fino como una práctica rutinaria en el diagnóstico microscópico de la malaria. Se recomienda la observación del extendido fino en las siguientes situaciones: 1) cuando la gota gruesa es inadecuada o no se cuenta con una gota gruesa, 2) es necesario confirmar la especie de *Plasmodium*, 3) es necesario determinar la viabilidad de los parásitos. El caso más frecuente de necesidad de confirmar la especie de *Plasmodium* es cuando solo se encuentran trofozoitos jóvenes o anillos. La observación microscópica del extendido fino provee información sobre el glóbulo rojo parasitado que nos permite identificar al parásito como *P. vivax* (glóbulos rojos agrandados, deformados y con punteado de Schüffner) o como *P. falciparum* (glóbulos rojos no agrandados ni deformados y sin punteado). Se recomienda revisar primero la muestra con objetivo de 40X para poder identificar las zonas con una distribución homogénea de leucocitos (gota gruesa) y eritrocitos (extendido fino).

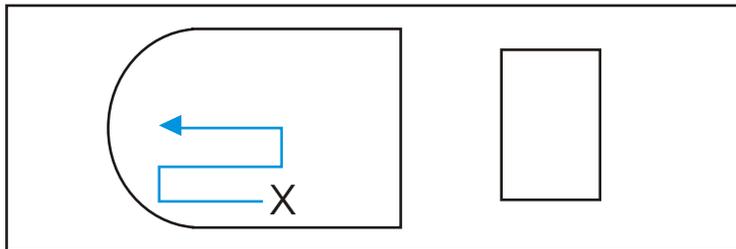
4.1 Exploración de la gota gruesa

En general, siempre que la gota gruesa esté bien preparada y coloreada, no debe haber dificultad en la identificación de las especies de *Plasmodium* presentes. Se debe colocar la lámina sobre la platina del microscopio y se dispone del objetivo de inmersión (100X) en dirección a la X marcada en el diagrama abajo. Se coloca una gota de aceite de inmersión y se hace descender el objetivo hasta que hace contacto con el aceite. Se deben observar 100 campos siguiendo la pauta de movimiento indicada. Si se encuentran parásitos, se debe observar un total de 100 campos para confirmar la especie encontrada antes de proceder a estimar la densidad parasitaria. La observación de 100 campos posibilita la identificación de infecciones mixtas. Para el conteo de 100 campos y el conteo de la parasitemia se puede utilizar un contador manual. En la detección pasiva de casos (DPC), el diagnóstico microscópico de la malaria se realiza con la observación de 100 campos de inmersión. En la detección activa de casos (DAC), se deben observar más campos (300) para detectar infecciones subclínicas e infecciones agudas con parasitemia baja.



4.2 Exploración del extendido fino

El extendido fino se observa en el borde distal (cola) debido a que es ahí donde las células 1) están distribuidas de manera más uniforme, 2) se encuentran en una sola capa, y 3) presentan una distorsión mínima. Se debe colocar la lámina sobre la platina del microscopio y se dispone del objetivo de inmersión (100X) en dirección a la X marcada en el diagrama abajo. Se coloca una gota de aceite de inmersión y se hace descender el objetivo hasta que hace contacto con el aceite. Se debe observar siguiendo la pauta de movimiento indicada.



4.3 Estimación de la densidad parasitaria

La magnitud de la parasitemia o densidad parasitaria permite estimar la intensidad de la infección, la que a su vez se puede relacionar con la severidad de las manifestaciones clínicas. En situaciones de transmisión acentuada y estable de la malaria, la adquisición de inmunidad (premunición) produce una protección clínica de los individuos, quienes podrían no presentar fiebre aún con densidades parasitarias moderadas a altas. Sin embargo, la gran mayoría de los casos de malaria que se manejan en los hospitales y centros de salud de Honduras, corresponden a casos agudos, algunos complicados, y en menor proporción, a casos crónicos. En la malaria aguda, la densidad parasitaria permite evaluar la evolución clínica del paciente y el manejo de complicaciones tales como anemia, acidosis metabólica e hipoglicemia. En la malaria crónica, la parasitemia es generalmente baja pero de larga duración. La parasitemia también proporciona al clínico un dato objetivo para evaluar la respuesta terapéutica y permite vigilar la susceptibilidad *in vivo* a las drogas esquizonticidas sanguíneas como la cloroquina. La primaquina es una droga esquizonticida tisular que tiene poco efecto sobre los estadios sanguíneos, excepto los gametocitos de *P. falciparum*.

Al determinar la parasitemia, se debe informar de manera independiente los estadios asexuales y los estadios sexuales (gametocitos). Esto es así, debido a que los estadios asexuales son los responsables de las manifestaciones clínicas y complicaciones. Existen varios métodos para determinar la densidad parasitaria. A continuación se describe: 1) el sistema de cruces utilizado por la Secretaría de Salud (gota gruesa), y 2) un método cuantitativo que permite estimar la parasitemia en la gota gruesa y en el extendido fino, y que se informa como número de parásitos en 100 leucocitos (gota gruesa) o porcentaje de glóbulos rojos parasitados (extendido fino). Tanto en la gota gruesa como en el extendido fino, el cálculo inicial se puede traducir a número de parásitos por microlitro de sangre si conocemos los parámetros hematológicos de los pacientes o utilizamos las constantes recomendadas.

Sistema de Cruces. Este sistema se fundamenta en la observación microscópica de 100 campos. En el Cuadro No. 4 se describe la densidad parasitaria correspondiente al sistema de cruces.

Sistema Cuantitativo. Gota Gruesa (Cuadro No. 5): Se cuentan leucocitos y parásitos simultáneamente. El conteo se detiene cuando se llega a 100 leucocitos y se han identificado 10 o más parásitos, por ejemplo 40

parásitos en 100 leucocitos. Cuando hay dos veces más parásitos que leucocitos por campo, se recomienda hacer el conteo de parásitos en 50 leucocitos. Si se identificaron menos de 10 parásitos, el conteo sigue hasta 500 leucocitos. Si no se identifican más parásitos, el conteo se detiene en 500 leucocitos y la densidad se informa como, por ejemplo "3 parásitos en 500 leucocitos". Se debe terminar de contar los leucocitos existentes en el campo, por lo que el conteo final puede ser mayor que 100 o 500 leucocitos.

Extendido Fino: Se localiza una porción en la cola del extendido en que los campos sean uniformes y se cuenta el número de glóbulos rojos en un campo. Luego se cuentan simultáneamente glóbulos rojos parasitados y campos hasta llegar a un número de campos equivalentes a 10,000 glóbulos rojos. Los glóbulos rojos infectados por más de un parásito se cuentan como uno. Por ejemplo, si el área escogida contiene 280 glóbulos rojos por campo, se deben contar los parásitos presentes en 36 campos. Si el conteo arroja un resultado de 40 parásitos en 10,000 glóbulos rojos, la parasitemia se informa como 0.4%. Una parasitemia de 1% es una densidad parasitaria elevada y de 5% es hiperparasitemia que puede poner en peligro la vida del paciente.

Densidad parasitaria estimada por microlitro de sangre (Cuadro No. 5). Se debe disponer del conteo de glóbulos rojos y leucocitos del paciente. Si no se dispone de esta información, se asumen concentraciones constantes de 5,000,000 eritrocitos/ μ l y 6,000 - 8,000 leucocitos/ μ l. **Gota Gruesa:** si se contaron 40 parásitos en 100 leucocitos, entonces $40 \times 6000/100 = 2,400$ parásitos/ μ l de sangre. **Extendido fino:** Si se estimó una parasitemia de 0.4%, entonces $0.4 \times 5,000,000/100 = 20,000$ parásitos/ μ l de sangre.

Cuadro No. 4. Densidad parasitaria estimada por cruces, gota gruesa.

Densidad parasitaria por cruces*	Cantidad de parásitos observados
1 – 39	1-39 parásitos en 100 campos
½+	40-60 parásitos en 100 campos
+	60 – 100 parásitos en 100 campos (1 parásito/campo)
++	2-20 parásitos por campo
+++	>20 parásitos por campo
++++	Incontables por campo

Cuadro No. 5. Densidad parasitaria estimada por leucocitos y por microlitro de sangre, gota gruesa y extendido fino.

Densidad	<i>P. falciparum</i>		<i>P. vivax</i>	
	/100 leucocitos	/ microlitro	/100 leucocitos	/ microlitro
Baja	< 10	< 800	< 10	< 800
Moderada	10 – 50	800-4000	10-30	800-2400
Alta	> 50	> 4000	> 30	> 2400

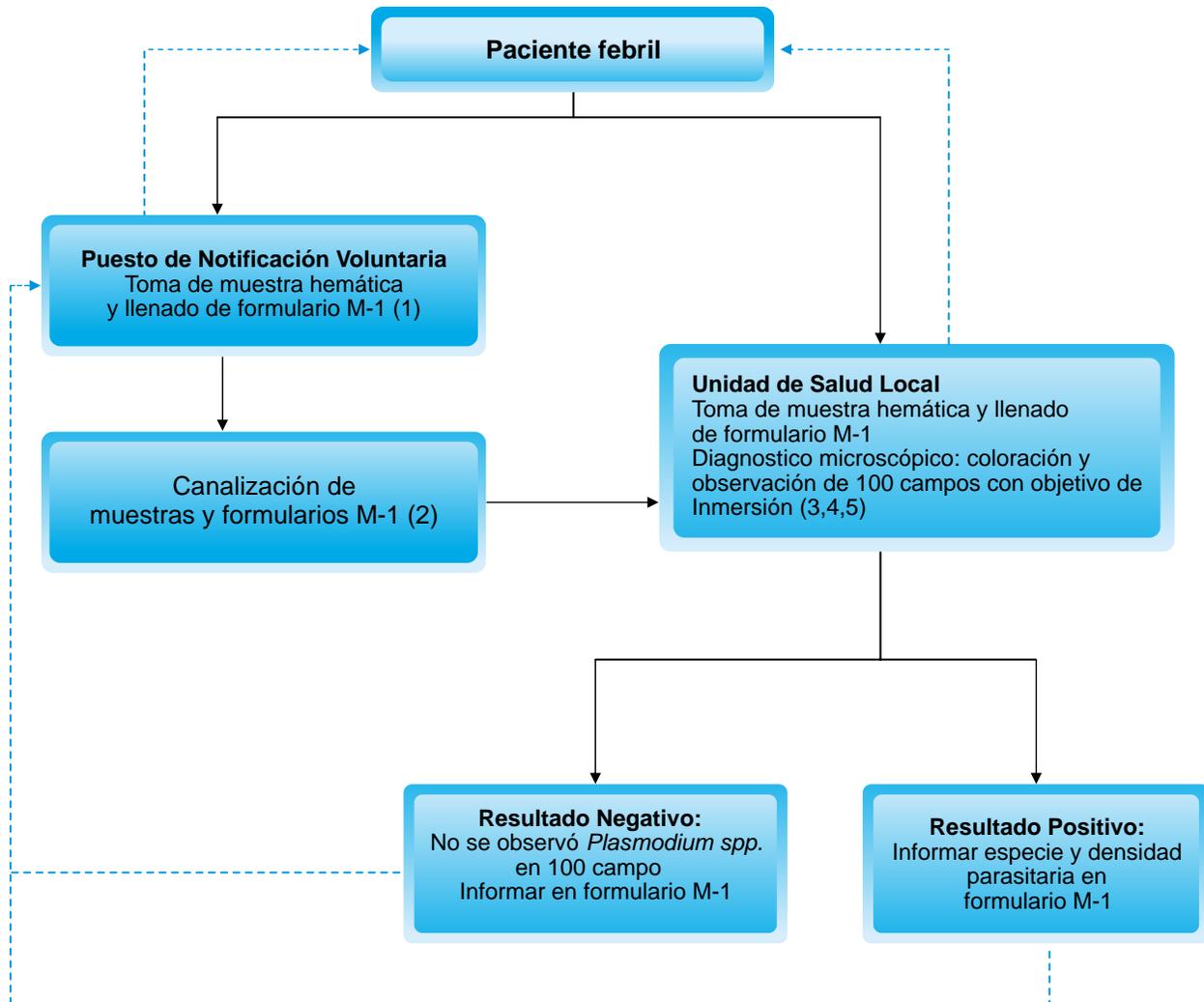
4.4 Informe de resultados e interpretación.

La malaria no se descarta con un resultado de gota gruesa negativo. Cuando se está examinando un paciente individual de quien se posee evidencia clínica y epidemiológica de malaria, es necesario tomar una o dos muestras adicionales si la primera gota gruesa es negativa. Las muestras adicionales se deben tomar durante o inmediatamente después de la fiebre. Esta recomendación es para *P. falciparum* en cuya infección solamente circulan los estadios más jóvenes (anillos), después de la ruptura del esquizonte (asociada a la fiebre), y los gametocitos. Los estadios de *P. vivax* siempre circulan. El resultado de la observación microscópica se debe informar en el formulario respectivo y no debe ser escrito sobre la lámina para no sesgar el control de calidad. Cuando la observación de 100 campos microscópicos de gota gruesa no ha permitido identificar parásitos, el informe se escribe así: No se observó *Plasmodium* spp. en 100 campos.

A continuación se presentan varios ejemplos de resultados positivos, informados en el sistema de cruces ó en el sistema cuantitativo, utilizando las siguientes abreviaturas: F = estadios asexuales sanguíneos de *P. falciparum*, Fg = gametocitos de *P. falciparum*, V = estadios asexuales sanguíneos de *P. vivax*, Vg = gametocitos de *P. Vivax*.

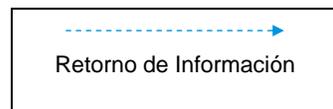
- 15V (*P. vivax* 15 EAS en 100 campos)
- ++V +Vg (*P. vivax* 2-20 EAS / campo y 1 gametocito/campo)
- *Plasmodium vivax*
20 estadios asexuales sanguíneos / 102 leucocitos
- *Plasmodium vivax*
20 estadios asexuales sanguíneos + 3 gametocitos / 105 leucocitos
- *Plasmodium vivax*
8 estadios asexuales sanguíneos / 502 leucocitos
- *Plasmodium vivax*
8 estadios asexuales sanguíneos parcialmente lisados / 502 leucocitos
- 15 F (*P. falciparum* 15 anillos en 100 campos)
- ++ F + Fg (*P. falciparum* 2-20 anillos / campo y 1 gametocito/campo)
- *Plasmodium falciparum*
20 estadios asexuales sanguíneos / 102 leucocitos
- *Plasmodium falciparum*
20 estadios asexuales sanguíneos + 3 gametocitos / 105 leucocitos
- *Plasmodium falciparum*
110 estadios asexuales (anillos, trofozoítos maduros y esquizontes)/50 leucocitos
- *Plasmodium falciparum*
8 estadios asexuales sanguíneos / 502 leucocitos
- *Plasmodium falciparum*
6 estadios asexuales sanguíneos parcialmente lisados / 502 leucocitos

Figura No. 10. Flujograma de Captación de Pacientes y Diagnóstico Microscópico de casos sospechosos de Malaria (Detección Pasiva de Casos)



Responsable:

- (1) Colaborador Voluntario (ColVol)
- (2) T.S.A. / A.S.A.
- (3) Microscopista
- (4) Técnico de Laboratorio
- (5) Microbiólogo



4.5 Evaluación de la respuesta terapéutica

La cloroquina y la primaquina son los medicamentos antimaláricos incluidos en el Cuadro Básico de Medicamentos de la Secretaría de Salud de Honduras (2006). Hasta la actualidad no existe en el país evidencia de resistencia de *Plasmodium* spp. a la cloroquina, aunque sí existen informes anecdóticos locales de falla terapéutica y se reconoce el uso inadecuado de la misma. En la costa atlántica del país existen además otras condiciones que propiciarían la aparición de parásitos resistentes: mayor prevalencia de *P. falciparum* y ser una zona de tránsito para personas procedentes de países sudamericanos con resistencia reconocida a la cloroquina y a otros medicamentos antimaláricos. En la sub-región de Centro América, Guatemala y Panamá han informado la existencia de *P. falciparum* resistente, por lo que Honduras y el resto de los países centroamericanos también se encuentran en riesgo de su introducción.

La densidad parasitaria es un parámetro objetivo para estimar la intensidad de la infección y evaluar la respuesta terapéutica, comparando la densidad antes y después del inicio del tratamiento. Para estudios de la susceptibilidad de *Plasmodium* spp. a la cloroquina y otras drogas antimaláricas, se recomienda el sistema de evaluación *In vivo* de la Organización Mundial de la Salud. El día del diagnóstico e inicio del tratamiento se denomina Día Cero (D0). Se debe evaluar al paciente (evaluación clínica y parasitológica) el D0 y después de iniciado el tratamiento, los días dos o tres, siete, catorce, veintiuno y veintiocho (D2-3, 7, 14, 21, 28). La parasitemia del D2 debe ser menor al 25% de la parasitemia del D0. A partir del D3 no se deben encontrar parásitos en la gota gruesa. Para informar una muestra como negativa, se deben observar 300 campos microscópicos. En la práctica clínica, se recomienda evaluar la respuesta terapéutica diariamente en los casos complicados y graves hospitalizados, con infecciones debido a *P. vivax* o *P. falciparum*. En los casos no complicados ambulatorios, se recomienda tomar una muestra de seguimiento en cualquier día antes de D28 si los pacientes presentan nuevos síntomas, especialmente fiebre. En infecciones por *P. falciparum*, se debe tomar muestra a todos los pacientes, casos complicados y no complicados, con o sin síntomas, en el D28 (Ver lineamientos del diagnóstico temprano y tratamiento oportuno en el Capítulo 7).

Las muestras de seguimiento deben ser diferenciadas de la muestra inicial de cada paciente. Las láminas deben contener exactamente el mismo código que la lámina inicial, acompañado de un guión y el número correlativo respectivo. A continuación se presenta un ejemplo:

Código del Puesto de Colaboración 090517, Número de muestra 120

Muestra inicial	090517,120
Primera muestra de seguimiento	090517,120 - 1
Segunda muestra de seguimiento	090517,120 - 2
Tercera muestra de seguimiento	090517,120 - 3

CAPITULO 5

Red de Laboratorios y Sistema de Información

5.1 Estructuración de la Red de Laboratorios

La Red de Laboratorios provee una estructura en la cual varios laboratorios trabajan en diferentes niveles y están unidos por objetivos comunes, información, suministros, programas, supervisión, evaluación y sistema de control de calidad. La conformación de la Red es necesaria para suministrar información que permita planificar y evaluar las actividades de prevención y control de la malaria.

Los servicios de laboratorio de malaria están organizados en cuatro niveles:

1. Nivel Central: representado por el Laboratorio Nacional de Vigilancia, que es de referencia nacional.
2. Nivel Intermedio: constituido por los Laboratorios Regionales Departamentales.
3. Nivel local: Comprende por los Laboratorios de Hospitales y Centros de Salud. Incluye además los establecimientos que no cuentan con laboratorio de análisis clínicos, pero si cuentan con microscopistas que ejecutan el diagnóstico microscópico de la malaria, principalmente en zonas endémicas.
4. Unidades de Notificación: Constituidas por los Centros de Salud que no cuentan con Unidad de Diagnóstico y por los Puestos de Notificación Voluntaria donde el Col-Vol cumple funciones de detección de casos, toma y canalización de muestras, recolección y canalización de la información y suministro de medicamentos a los pacientes.

5.2 Funciones específicas de los laboratorios de diferentes niveles

5.2.1 Laboratorio Nacional de Vigilancia

1. Funcionar como laboratorio nacional de referencia para el diagnóstico de la malaria.
2. Establecer las normas referentes a métodos y técnicas.
3. Formar al personal nuevo y actualizar al existente en las técnicas normadas.
4. Coordinar las actividades con los Laboratorios Departamentales, Intermedios y Locales.
5. Recopilar, consolidar y analizar información estadística.
6. Ejercer supervisión directa e indirecta a los laboratorios de la Red Nacional.
7. Realizar el control de calidad de los resultados de los laboratorios de la Red Nacional.
8. Participar en programas de control de calidad a nivel internacional.
9. Realizar o coordinar investigaciones de interés en salud pública.



10. Actuar como centro de estudio de resistencia a los antimaláricos con fines de vigilancia epidemiológica.
11. Coordinar con el Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria la identificación de necesidades para el fortalecimiento de las unidades de diagnóstico.
12. Suministrar a los laboratorios los insumos adquiridos a través del Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria.

5.2.2 Laboratorios Regionales Departamentales

1. Realizar el diagnóstico microscópico de malaria de la zona que corresponde.
2. Capacitar al personal en la toma de muestra, coloración y diagnóstico microscópico de acuerdo a los lineamientos del Manual de Procedimientos Operativos Estándar (POE) para el Diagnóstico microscópico de la Malaria.
3. Supervisar la realización del diagnóstico microscópico en su Red Regional Departamental e implementar las medidas correctivas de acuerdo a los resultados.
4. Realizar el control de calidad del diagnóstico microscópico de malaria en su Red de Laboratorios e implementar las medidas correctivas de acuerdo a los resultados.
5. Enviar los informes de la supervisión directa y control de calidad realizado a su Red.
6. Remitir láminas una vez al año al Laboratorio Nacional de Malaria, con sus respectivos formularios según lineamientos y calendario establecidos para el Control de Calidad.
7. Recopilar, consolidar y enviar al nivel central la información estadística proveniente de los laboratorios locales.
8. Coordinar con el nivel local en lo que respecta a la referencia de muestras y supervisar dicho procedimiento.
9. Coordinar con la administración departamental el abastecimiento de materiales, insumos y equipo de la Red.
10. Preparar las soluciones amortiguadoras, (solución ácida y solución básica), solución stock de Giemsa y Wright de acuerdo a los lineamientos del Manual POE y distribuir las oportunamente en su Red.
11. Participar en las investigaciones operativas que se realizan en la Región Departamental en coordinación con el Programa Nacional de Malaria, incluyendo encuestas parasitológicas.

5.2.3 Laboratorios Locales

1. Tomar muestras por demanda en su establecimiento de salud y realizar el diagnóstico microscópico de estas muestras y de las muestras tomadas por las Unidades de Notificación de su área de influencia, de acuerdo a los lineamientos del Manual POE para el Diagnóstico de la Malaria.



2. Remitir láminas al Laboratorio Regional Departamental, según lineamientos establecidos para el Control de Calidad.
3. Utilización adecuada de los formularios para el sistema de información, con énfasis en el llenado correcto y completo de los mismos.
4. Apoyar las investigaciones operativas, incluyendo investigación de brotes, encuestas parasitológicas, evaluación de la susceptibilidad a los antimaláricos y otras de interés de salud pública, en coordinación con la Región Departamental y el Programa Nacional de Malaria.

5.2.4 Unidad de Notificación voluntaria

1. Brindar asistencia a los pacientes febriles en su comunidad, tomar muestra de gota gruesa, recolectar los datos en el formulario M-1 (notificación de sospechosos para el diagnóstico de malaria) y administrar el tratamiento.
2. Transportar las muestras al laboratorio local o Microscopista más cercano a través de su Red de Col-Vol, de líderes comunitarios, TSA, otro personal de salud u otro medio que sea accesible a la comunidad. El transporte debe ser con una frecuencia que no exceda una semana.
3. Recoger los resultados del diagnóstico de laboratorio a través de su Red de Col-Vol, de líderes comunitarios, TSA, otro personal de salud u otro medio que sea accesible a la comunidad, en la forma más rápida posible, dentro de los cuatro días subsiguientes a la fecha de recibo. En el caso de *P. falciparum* la notificación deberá ser inmediata.
4. Integrar la información estadística de su área referente a las muestras tomadas por la unidad de recolección y los resultados proporcionados por el laboratorio (Uso del formulario ML-1).

5.3 Sub-sistema de información

5.3.1 Formulario para la Notificación de Pacientes Sospechosos de Malaria (Formulario M-1, Anexo No. 13.4.1)

El formulario consta de tres secciones, las cuales deben llenarse de forma completa y correcta: 1) Datos generales, 2) Datos del paciente y 3) Datos del laboratorio. Es utilizado individualmente por paciente atendido, es llenado por el responsable de la notificación (Col-Vol o personal institucional). Permite establecer ciertos parámetros de vigilancia epidemiológica y contiene un apartado para colocar el resultado de laboratorio.

5.3.2 Formulario para el Informe Diario del Laboratorio (Formulario ML-2, Anexo 13.4.2)

Este informe es de uso diario para el registro de cada paciente consignando la información básica (nombre, edad, localidad de residencia y resultado del diagnóstico, etc). Debe ser llenado por el personal encargado del diagnóstico de malaria en cada laboratorio de la red nacional.



5.3.3 Formulario de Notificación Semanal (Formulario L-1, Anexo 13.4.3)

Este informe es de uso semanal, en donde se registra a cada uno de los pacientes atendidos en la semana, obteniendo diferente tipo de información como ser fecha de toma de muestras, clave del ColVol, procedencia y diagnóstico por cada paciente.

Este formato está dirigido para los Microbiólogos departamentales o de nivel central, ya que en este informe es donde se incluyen los resultados obtenidos en el diagnóstico de cada uno de los pacientes.

5.3.4 Formulario para el Informe Semanal del Diagnóstico de Malaria (Formulario ML-3, Anexo 13.4.4)

Este informe está dividido en dos secciones: 1) Consolidado de las muestras diagnosticadas por semana, y 2) Registro de láminas de Control de Calidad por semana.

El responsable por la consolidación de la información, debe de partir del total de muestras registradas en el Formulario ML-2 por semana, así como la identificación de las muestras se envían para el control de calidad (100% láminas positivas y el 10% de las láminas negativas cuando es del Nivel Local y el 100% de las láminas revisadas de 4 semanas programadas cuando es del Nivel Departamental) evitando en todo momento en este proceso la inclusión de los resultado de cada lámina en este informe.

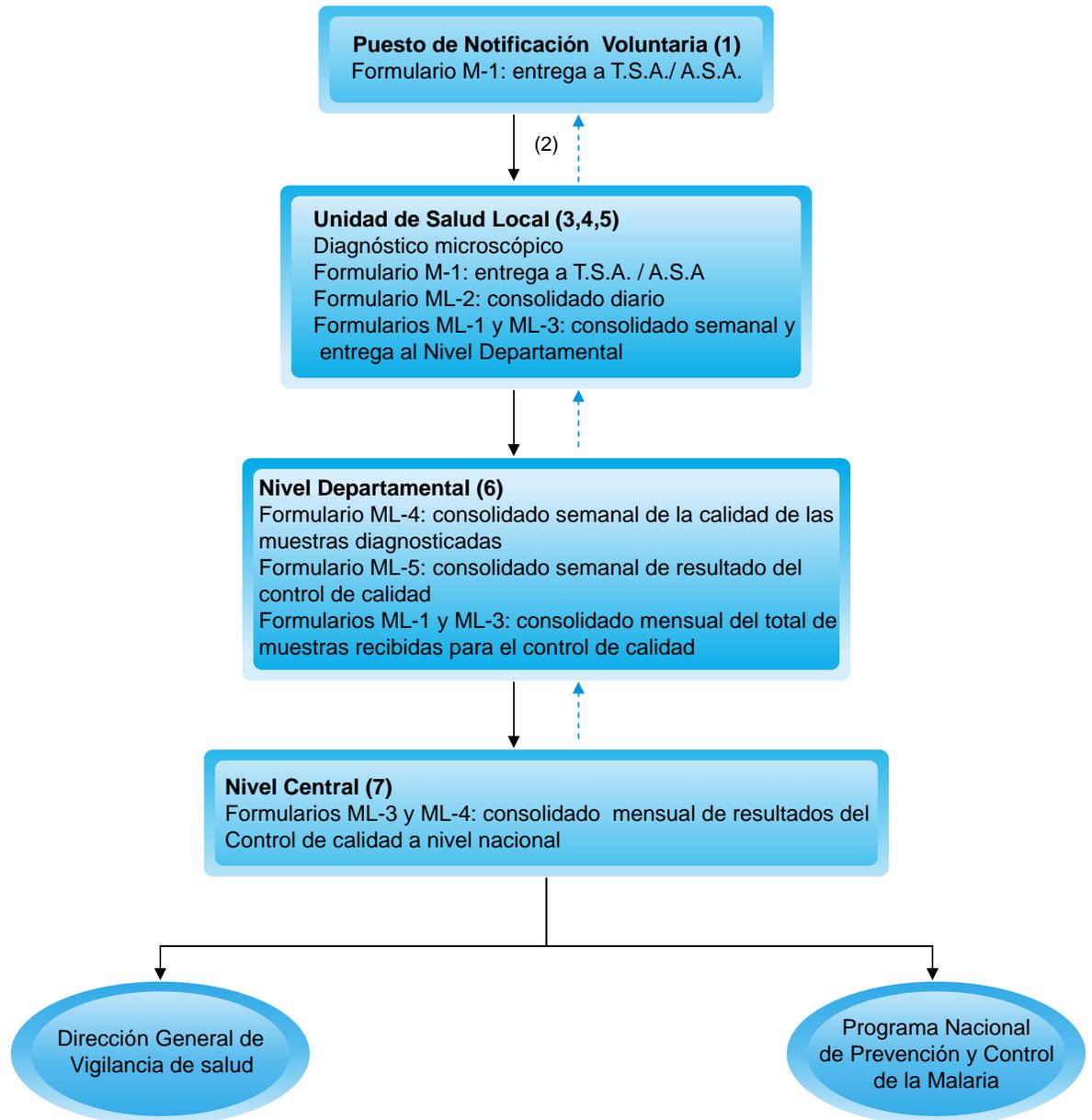
5.3.5 Formulario para el Informe de Evaluación de la Calidad de Toma y coloración de las Muestras del Control de Calidad (Formulario ML-4, Anexo No. 13.4.5)

Este informe es de uso exclusivo de los laboratorios revisores (Nivel Departamental o Central) en el que se evalúa la calidad de los procesos de toma de muestra y coloración de las láminas ingresadas a los laboratorios para la evaluación del control de calidad.

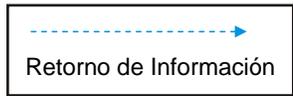
5.3.6 Formulario para el Informe de Evaluación de Control de Calidad (Formulario ML-5, Anexo 13.4.6)

Este informe esta diseñado para evaluar el diagnóstico de las muestras hemáticas enviadas para el control de calidad de parte de los laboratorios en Nivel Local o Departamental en comparación al diagnóstico realizado por los laboratorios revisores (Nivel Departamental o Central).

Figura No. 11. Flujograma de canalización y diagnóstico de muestras.



- Responsable:**
- (1) Colaborador Voluntario (ColVol)
 - (2) T.S.A./A.S.A.
 - (3) Microscopista
 - (4) Técnico de Laboratorio
 - (5) Microbiólogo
 - (6) Microbiólogo Departamental y Microscopistas Revisores
 - (7) Microbiólogo y Microscopista Revisor Nivel Central



CAPITULO 6

Supervisión y Control de Calidad

6.1 Supervisión

Es un proceso educativo y motivador recíproco, permanente, regulador y planificado, que permite desarrollar los conocimientos y la capacidad del personal, crear aptitudes respecto al trabajo y contribuir a mantener la eficacia y eficiencia de una Red de Laboratorios organizados, para el diagnóstico microscópico de la malaria. El Manual de Procedimientos Operativos Estándar para el Diagnóstico Microscópico de la Malaria constituirá la base para ejercer la supervisión de los laboratorios de la Red Nacional. La supervisión se aplicará en dos modalidades, directa e indirecta.

6.1.1 Supervisión Directa

Es una evaluación formalizada efectuada por el nivel superior (Laboratorio Nacional a Laboratorios Regionales Departamentales y estos a los Laboratorios Locales). Este tipo de evaluación permite medir la adecuación del sistema de calidad con respecto a la política de calidad de la Secretaria de Salud y a sus objetivos en la Red de Laboratorios. Es una forma de observación directa del desempeño por medio de visitas programadas y periódicas al personal de los laboratorios de la Red para observar directamente las condiciones de trabajo, así como los procedimientos técnicos y administrativos. Por el contacto personal, es efectiva y rápida, ya que nos permite tomar decisiones oportunas. Durante la supervisión directa se realizan entrevistas al personal encargado de procesar muestras de pacientes sospechosos de Malaria (Microbiólogos, Técnicos de Laboratorio, Microscopistas, Col-Vol.) para conocer directamente las condiciones de trabajo, procedimientos técnicos administrativos, control de calidad, así como los problemas que se presentan en los laboratorios, para recomendar soluciones apropiadas de acuerdo a los recursos locales. Se observaran los siguientes aspectos:

Local:

- Condiciones del área de trabajo (iluminación y ventilación).
- Orden y aseo
- Existencia de un sitio para colgar las gabachas
- Lavamanos con agua, jabón, toalla o papel toalla.

Personal:

- Número de personas que trabajan en el laboratorio (Microbiólogos, Técnicos de Laboratorio clínico, Auxiliares, Conserjes, Secretarias y otros)
- Encargado del diagnóstico de malaria, Microscopistas o Técnicos
- Disponibilidad y capacidad para realizar las tareas de diagnóstico de malaria.

Equipo:

- Cuidado y utilización correcta del microscopio
- Mantenimiento y estado general del microscopio.

Materiales y reactivos:

- Disponibilidad de material y reactivos
- Conservación del reactivo de Giemsa.



Procedimientos técnicos:

- Realiza el análisis de las muestras en el tiempo oportuno
- Toma de la muestra
- Preparación del colorante de Giemsa
- Proceso de coloración
- Lectura de las láminas.
- Revisión del control de calidad y formularios

Registros:

- Papelería
- Revisión de los formularios

Control de Calidad:

- Recibe control de calidad interno del nivel central
- Cuantas veces al año
- Envía los resultados del control de calidad a la fecha estipulada
- Recibe un informe de los resultados del control de calidad

Comentarios y Sugerencias

En esta sección se describen diferentes aspectos no contemplados en las secciones anteriores.

Al finalizar la supervisión se debe realizar una reunión informativa para discutir la situación encontrada, hacer las sugerencias necesarias y las recomendaciones. Posteriormente se debe elaborar un informe escrito, breve y concreto con los compromisos adquiridos tanto del personal local y departamental como del personal nacional. El laboratorio nacional conjuntamente con el local o departamental deberá diseñar un plan de intervención y cronograma para periodos de 3 a 6 meses.

6.1.2 Supervisión Indirecta

Se ejercerá a través de la revisión y análisis de los resultados del laboratorio en los respectivos formularios del sistema de información (M-1, ML-1, LM-2, LM-3). El nivel nacional analizará la información proveniente de los niveles departamentales y estos a su vez serán responsables de analizar la información de los niveles locales. Como resultado de la supervisión indirecta, se dictaran recomendaciones y se podrá tomar decisiones tendientes a corregir los errores detectados.

6.2 Control de Calidad

El control de calidad del diagnóstico microscópico de la malaria ejecutado por la red de laboratorios se efectúa bajo las modalidades: 1) Revisión de láminas diagnosticadas y 2) Evaluación externa del desempeño.

6.2.1 Control de calidad mediante revisión de láminas diagnósticas

Este control de calidad se realiza a través de: 1) revisión por parte del nivel departamental de las láminas diagnosticadas y entregadas semanalmente por el nivel local y 2) revisión por parte del nivel nacional de las láminas revisadas por el nivel departamental, correspondientes a un periodo de cuatro semanas de cada una de las unidades de diagnóstico locales, y entregadas anualmente.



6.2.2 Control de calidad semanal

El personal responsable de cada Unidad de Diagnóstico local, debe enviar semanalmente al nivel departamental el 100% de las láminas positivas y el 10% de las láminas negativas. Las láminas negativas deben ser escogidas de forma aleatoria. El envío debe realizarse en los primeros dos días de la semana siguiente. Las láminas solamente deben estar identificadas con su código, no deben contener el resultado del diagnóstico, y la papelería acompañante (Formulario ML-1, ML-3) debe contener la información completa. La documentación y las láminas deben dirigirse al funcionario de quien dependa el laboratorio departamental, quien entregará las láminas al Microbiólogo o Microscopista Departamental reteniendo el formulario ML-1, después de realizado el Control de Calidad. El Microbiólogo o Microscopista Departamental solicitará el formulario ML-1 para consignar los resultados más el formulario ML-3.

6.2.3 Control de calidad anual

El personal responsable de cada Unidad de Diagnóstico Departamental, debe enviar al Laboratorio Nacional el 100% de las láminas revisadas procedentes de cada Unidad de Diagnóstico Local. La cantidad de láminas debe corresponder a un periodo de cuatro semanas al año, de acuerdo a una programación establecida. En el Laboratorio Nacional se seleccionará aleatoriamente el 50% de las láminas positivas y 50% de las láminas negativas de cada unidad de diagnóstico evaluada, estableciendo como límite máximo 50 en cada grupo. En caso de una producción total menor a 50 láminas, se evaluará el 100% de las mismas. La documentación (ML-1 y ML-3) y las láminas deben dirigirse al Jefe del Laboratorio Nacional, Sección de Malaria, quien entregará las láminas a los Microscopistas Revisores y retendrá los formularios. Después de realizado el Control de Calidad, el Microscopista y el Microbiólogo consignaran los resultados en el formulario ML-4. En el formulario ML-5 se realizara un consolidado mensual (departamental y nacional).

6.2.4 Procedimiento para las láminas diagnósticadas o revisadas

1. La revisión de las láminas se realizará desconociendo el diagnóstico inicial.
2. Se debe evaluar la calidad técnica de la preparación de la muestra, gota gruesa y extendido fino, de acuerdo a los siguientes criterios: a) Toma de muestra: identificación, tamaño, ubicación y grosor; b) Coloración de la muestra: deshemoglobinización, tonalidad y precipitados
3. Se realiza diagnóstico microscópico enmascarado.
4. En caso que no hubiera concordancia en el diagnóstico, se realizará lectura por una tercera persona (encargado del laboratorio revisor) y enviarlo al laboratorio supervisado.
5. Se debe elaborar un informe con los resultados del control de calidad semanal y anual incluyendo la evaluación de la calidad técnica de la preparación.

A continuación se describe cada una de estas evaluaciones.

Evaluación de la calidad técnica de la preparación de muestras. Los resultados de la calidad técnica de las láminas para cada laboratorio o unidad de diagnóstico se tabulan para estimar los siguientes valores: porcentaje de error en 1) identificación, 2) tamaño, 3) ubicación, 4) grosor, 5) deshemoglobinización, 6) tonalidad, 7) precipitado, 8) factibilidad de lectura de la lámina. En la parte A del cuadro se evalúa la calidad de

la preparación de la muestra que es responsabilidad del personal de las unidades de diagnóstico, Puestos de Notificación Voluntaria y personal institucional; en la parte B se evalúa la coloración realizada por el personal de las unidades de diagnóstico. A continuación se presenta un ejemplo de un microscopista que envió 210 láminas.

Resultados	A. Toma de muestras				B. Coloración de muestras			
	Identificación	Tamaño	Ubicación	Grosor	Deshemo- Globinización	Tonalidad	Precipitado	Láminas que se pueden diagnosticar
Acep- table	200	180	205	190	150	145	170	195
No acep- table	10	30	5	20	60	65	65	15
Total	210	210	210	210	210	210	210	210

Indicadores y definiciones:

% error identificación: número de láminas con identificación no aceptable / total de láminas por cien = $(10 / 210) \times 100 = 5\%$

Aceptable: se debe leer la clave del lugar donde se tomó la muestra y el número correlativo de la misma.

No aceptable: identificación no legible o incompleta.

% error tamaño: número de láminas con muestra de tamaño no aceptable / total de láminas por cien (100) = $(30 / 210) \times 100 = 14\%$

Aceptable: gota gruesa con tamaño mínimo de 1.3 x 0.8 cm y máximo de 1.7 x 1.2 cm; extendido fino con tamaño mínimo de 1.8 x 2.2 cm y máximo de 2.2 x 2.7 cm.

No aceptable: gota gruesa y extendido fino con tamaño fuera de los rangos descritos.

% error ubicación: número de láminas con muestra con ubicación no aceptable / total de láminas por cien (100) = $(5 / 210) \times 100 = 2\%$

Aceptable: gota gruesa ubicada a 1.5 cm del borde y 1.0 cm del extendido de identificación o extendido fino.

No aceptable: gota gruesa ubicada por fuera de la ubicación especificada.

% error grosor: número de láminas con muestra de grosor no aceptable / total de láminas por cien (100) = $(20 / 210) \times 100 = 10\%$

Aceptable: 10 a 20 leucocitos por campo microscópico.

No aceptable: menos de 10 o más de 20 leucocitos por campo microscópico.



% error en deshemoglobinización: número de laminas con muestra con deshemoglobinización no aceptable / total de láminas por cien (100) = (60 / 210) x 100= 28%

Aceptable: el fondo de la gota gruesa se observa con restos de eritrocitos que no interfieren en la lectura.

No aceptable: los restos de eritrocitos son abundantes e intensos, así como presencia de eritrocitos completos.

% error en la tonalidad: número de láminas con muestras con tonalidad no aceptable / total de láminas por cien (100) = (65 / 210) x 100= 31%

Aceptable: la cromatina de los parásitos *Plasmodium* se colorea de rojo y el citoplasma de azul. El fondo de la muestra se debe de observar transparente.

No aceptable: el fondo y los leucocitos demuestran una tonalidad hacia lo rojo (ácido) o hacia lo azul (básico), interfiriendo con la coloración de los componentes del parásito.

% de muestras con precipitado: número de muestras con precipitado / total de láminas por cien (100) = (40 / 210) x 100= 19%

Aceptable: no se observa precipitado (resto de colorante de Giemsa) en la muestra.

No aceptable: presencia de precipitado en la muestra. Indica la falta de filtrado del reactivo de Giemsa antes de colorear la gota gruesa.

% de láminas que se no se pueden diagnosticar : número de muestras que no se pueden diagnosticar / total de láminas (100) = (15 / 195) x (100)= 7.6 %

Aceptable: toda muestra coloreada que se puede observar sin dificultad mas de 100 campos microscópicos.

No aceptable: muestras en las cuales que debido a la cantidad de sangre, la coloración, etc, no se puede realizar el diagnóstico respectivo.

Evaluación técnica o concordancia del diagnóstico microscópico.

La concordancia se estima preparando cuadros 2 x 2 para cada persona responsable del diagnóstico microscópico (Microbiólogo, Microscopista, Técnico de Laboratorio). Se estiman los siguientes valores: porcentaje de falsos positivos (% FP), porcentaje de falsos negativos (% FN), valor predictivo positivo (VPP), y valor predictivo negativo (VPN). A continuación se presenta un ejemplo de un microscopista que envió 210 láminas (110 láminas positivas y 100 láminas negativas).

		Estándar de oro (Revisor)	
		+	-
Láminas (Microscopista)	+	100(a)	10(b)
	-	30(c)	70(d)

% FP: $b / (a + b) \times 100 = 9\%$

% FN: $c / (c + d) \times 100 = 30\%$

VPP: $a / (a + b) \times 100 = 91\%$

VPN: $d / (c + d) \times 100 = 70\%$

(a) Verdadero positivo; (b) Falso positivo;

(c) Falso negativo; (d) Verdadero negativo

Para interpretar los resultados, se debe tomar en cuenta que las láminas revisadas no representan la

población de todas las láminas sino solamente 100% de láminas positivas y 10% de láminas negativas. Por lo tanto, el VPP y VPN tendrán sentido solamente para los datos verdaderos del personal que realiza el diagnóstico. La verdadera sensibilidad y especificidad son determinadas solo si la proporción de láminas positivas a negativas representa la población de todas las láminas.

6.3 Evaluación externa del desempeño

Esta evaluación se realiza en todos los niveles de la red de laboratorios con una frecuencia mínima de una vez por año. El Laboratorio Nacional tiene la responsabilidad de preparar paneles de láminas de calidad óptima y resultados conocidos para evaluar la capacidad diagnóstica de las unidades departamentales y locales, y asistir en la diferenciación de las causas de error en el diagnóstico microscópico (toma de muestra, coloración, microscopio, personal). El Laboratorio Nacional será objeto a su vez de un control de calidad externo realizado por un laboratorio internacional reconocido para tal fin.

6.3.1 Preparación y envío de los paneles de láminas

Los paneles de láminas se preparan y envían bajo los siguientes lineamientos:

1. Se incluirán láminas con preparaciones de gota gruesa y extendido fino.
2. El número de láminas por panel no deberá ser menor de veinte. Deben elaborarse grupos de paneles uniformes entre sí respecto a las características de las láminas (especie, parasitemia), de forma que la evaluación sea comparable cuando se usen paneles del mismo tipo para evaluar distintos laboratorios.
3. Las láminas deben incluir especies presentes en la región y diagnósticos diferenciales, infecciones mixtas, diferentes densidades parasitarias y muestras negativas.
4. Cada panel enviado llevará un formato donde responderá una serie de preguntas que corresponden a la evaluación del panel.
5. El envío de los paneles cumplirá con las normas de bioseguridad.
6. El laboratorio receptor debe responder en un plazo no mayor de 30 días a partir de la fecha de haber recibido el panel.

6.3.2 Revisión de informe del panel de láminas

Los resultados de la observación microscópica del panel de láminas para cada unidad de diagnóstico se tabulan para estimar los siguientes valores: porcentaje de error en la identificación de: 1) la presencia o no de infección por *Plasmodium* spp., 2) la especie, 3) los estadios y 4) la parasitemia. A continuación se presenta un ejemplo de una unidad de diagnóstico que fue evaluada con un panel de 20 láminas (14 láminas positivas y 6 láminas negativas).

Resultado	Presencia o ausencia de infección por <i>Plasmodium spp.</i>	Láminas positivas		
		Especie	Estadios	Parasitemia
Correcto	20	10	12	11
Incorrecto	0	4	2	3
Total	20	14	14	14

Indicadores

% error presencia de infección: número de respuestas incorrectas / total de láminas por cien (100) = $(0 / 20) \times 100 = 0\%$

% error identificación de especie: número de respuestas incorrectas / total de láminas positivas por cien (100) = $(4 / 14) \times 100 = 28\%$

% error identificación de estadio: número de respuestas incorrectas / total de láminas positivas por cien (100) = $(2 / 14) \times 100 = 14\%$

% error estimación de parasitemia: número de respuestas incorrectas / total de láminas positivas por cien (100) = $(3 / 14) \times 100 = 21\%$

6.4 Análisis de resultados del control de calidad y medidas correctivas

El análisis tomará en cuenta los resultados de la revisión de las láminas diagnosticadas, la evaluación externa del desempeño e información sobre la situación global de los laboratorios obtenida a través de la supervisión directa. El Laboratorio Nacional de Malaria administrará una base de datos para cada unidad de diagnóstico para automatizar el manejo de la información y deberá elaborar informes periódicos con los resultados de la evaluación individual y global así como las recomendaciones.

La concordancia cualitativa (positividad, identificación de especie, estadios) es más importante que la concordancia cuantitativa (parasitemia). La diferenciación de especie es muy importante porque significa diferentes actividades de seguimiento.

Se establecen los siguientes estándares de comparación para aceptación de error en el diagnóstico microscópico:

Estándar de la calidad técnica de las muestras

% error identificación de la muestra: $\leq 5\%$

% error tamaño de la muestra: $\leq 5\%$

% error ubicación de la muestra:	$\leq 5\%$
% error grosor de la muestra:	$\leq 5\%$
% error deshemoglobinización de la muestra:	$\leq 5\%$
% error tonalidad de la coloración:	$\leq 5\%$
% de muestras con precipitado:	$\leq 5\%$
% de muestras que no se pueden diagnosticar	$\leq 5\%$

Estándares de concordancia del diagnóstico

% FP:	$< 1\%$
% FN:	$\leq 5\%$
VPP:	$> 99\%$
VPN:	$\geq 95\%$

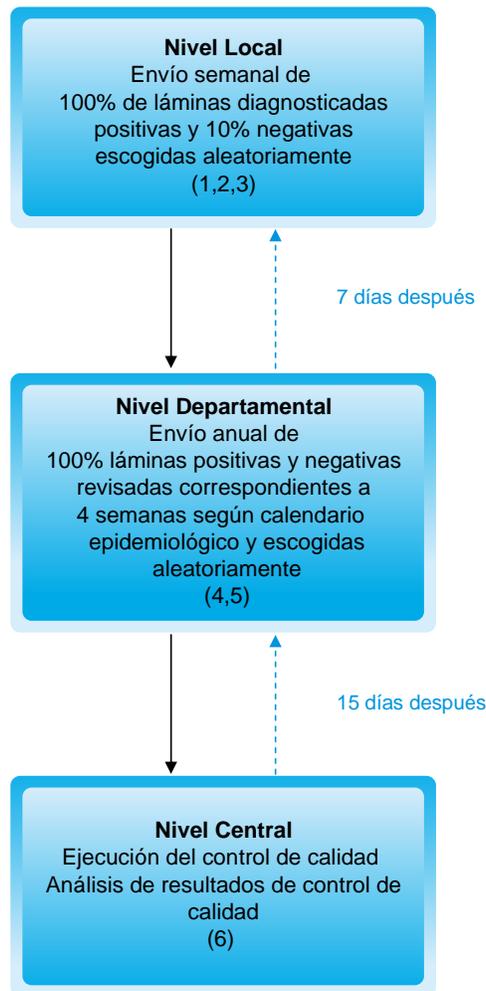
Estándar de concordancia para la evaluación externa del desempeño

% error presencia de infección:	$< 5\%$
% error identificación de especie:	$< 1\%$
% error identificación de estadio:	$< 1\%$
% error estimación de parasitemia:	$< 10\%$

Siempre se debe considerar el valor de los resultados falsos positivos y falsos negativos desde el punto de vista tanto del paciente, como del Programa Nacional de Prevención y Control. En la actualidad, la mayoría de los pacientes diagnosticados por la red de Col-Vol reciben tratamiento basado en diagnóstico clínico. En esta situación, el valor de las muestras (preciso o no preciso) es escaso para los pacientes. Sin embargo, para el Programa y el Laboratorio Nacional de Malaria la lectura precisa de las láminas es una herramienta epidemiológica útil para monitorear la transmisión de los parásitos y modificar las estrategias de lucha contra la malaria.

Al final de todo este proceso del análisis del control de calidad se deben de realizar medidas correctivas diseñadas a través de un plan de intervención que tomará en cuenta la gravedad del problema y la repetición de los errores. Se establecerá un tiempo para que los criterios sean alcanzados por el personal de las unidades de diagnóstico estableciendo incrementos anuales. El plan comprende entre otros, supervisión estricta, readiestramiento y cambio de insumos y equipo.

Figura No. 12. Flujograma de Control de Calidad de las muestras diagnosticadas



Responsable:

- (1) Microscopista
- (2) Técnico de Laboratorio
- (3) Microbiólogo
- (4) Microbiólogo Departamental
- (5) Microscopista Revisor
- (6) Microbiólogo y Microscopista Revisor Nivel Central

CAPITULO 7

Lineamientos para diagnóstico rápido y tratamiento oportuno de la malaria

El diagnóstico rápido y preciso permite administrar un tratamiento oportuno y adecuado que resulta en un control rápido y efectivo, lo cual conduce a su vez a una reducción en la transmisión. Como resultado de un diagnóstico rápido y reducción de la transmisión a través de intervenciones oportunas, se puede alcanzar una mejor detección y control de brotes. Adicionalmente, el contar con un diagnóstico rápido y preciso permitirá que las drogas antimaláricas no sean entregadas a los pacientes hasta la confirmación por laboratorio. Esto restringirá el uso de antimaláricos, reduciendo el costo por drogas y minimizando el riesgo de desarrollar malaria resistente.

Para realizar las actividades que permitan alcanzar un diagnóstico rápido y preciso, se debe tomar en cuenta que existen factores que favorecen el tratamiento antes del diagnóstico y otros que favorecen el diagnóstico antes del tratamiento (ver Figura No. 13). La situación ideal es proveer un diagnóstico antes del tratamiento para que el tratamiento sea oportuno y adecuado. Sin embargo, esto no siempre es posible. Se debe evaluar la situación de cada comunidad y que estrategia se debe implementar para dirigirse hacia el diagnóstico antes del tratamiento. Cuando la transmisión ha disminuido y el diagnóstico ha sido mejorado, la tendencia debe ser de izquierda a derecha. Sin embargo, si ocurrieran eventos no esperados (por ejemplo, introducción de malaria falciparum, desastres naturales), la estrategia puede volver a moverse de derecha a izquierda.

Figura No. 13. Factores que influyen en la oportunidad del tratamiento.

TRATAMIENTO ANTES DEL DIAGNOSTICO	DIAGNOSTICO ANTES DEL TRATAMIENTO
	
<p>Diagnóstico retardado (> 1 semana)</p> <p>Alto Índice de Láminas Positivas (ILP)</p> <p>Baja probabilidad de resistencia</p> <p>Muchos casos de <i>P. falciparum</i></p> <p>Drogas seguras, baratas, efectivas</p>	<p>Diagnóstico rápido (3-5 días)</p> <p>Bajo ILP (muchos casos de fiebre no debido a malaria)</p> <p>Alta probabilidad de resistencia</p> <p>Pocos casos de <i>P. falciparum</i></p> <p>Drogas caras y tóxicas</p>

Para la ejecución de un diagnóstico rápido y tratamiento oportuno de la malaria se deben ejecutar una serie de tareas de tres actividades fundamentales: 1) Capacitación, 2) Supervisión y 3) Participación comunitaria. A continuación se describen las tareas principales en cada actividad.



7.1 Capacitación de la Red Departamental de Microscopistas y Técnicos de Laboratorio que ejecutan el diagnóstico de la malaria

1. Utilizar el Manual de Procedimientos Operativos Estándar (POE) para el Diagnóstico Microscópico de la Malaria para capacitar a la Red de Microscopistas y Técnicos de Laboratorio Clínico en la preparación de muestras, identificación, coloración, almacenamiento de las láminas, sistema de información y control de calidad.
2. Utilizar el Manual POE para capacitar en diagnóstico microscópico de malaria y supervisión de la Red de Microscopistas y Técnicos de Laboratorio Clínico.
3. Utilizar el Manual POE para capacitar a la Red de Microscopistas y Técnicos de Laboratorio Clínico en el mantenimiento preventivo de los microscopios.
4. El responsable de estas tareas es el personal de las Unidades de Diagnóstico Departamentales y el Laboratorio Nacional.

7.2 Supervisión de la Red de Unidades de Diagnóstico y control de calidad

1. Supervisar cada trimestre a todas las Unidades de Diagnóstico Departamentales, de acuerdo a los lineamientos de supervisión descritos en el Manual POE, incluyendo la actualización de la base de datos de la Red de Laboratorios. El responsable de esta tarea es el personal del Laboratorio Nacional.
2. Supervisar cada trimestre a todas las Unidades de Diagnóstico Locales, de acuerdo a los lineamientos de supervisión descritos en el Manual POE, incluyendo la presentación de un informe al Laboratorio Nacional. El responsable de esta tarea es el personal de las Unidades de Diagnóstico Departamentales.
3. El personal de las Unidades de Diagnóstico Departamentales es responsable de ejecutar control de calidad enmascarado semanal del 100% de las muestras positivas y 10% de las muestras negativas diagnosticadas por la red de Unidades de Diagnóstico Locales. Debe enviar al Laboratorio Nacional el 100% de las muestras revisadas de cada Unidad de Diagnóstico local correspondientes a un período de cuatro semanas y de acuerdo a una programación nacional establecida.
4. El personal del Laboratorio Nacional debe realizar al menos una vez al año el control de calidad mediante el diagnóstico de un panel de láminas a todas las unidades de diagnóstico.
5. Realizar las acciones necesarias (readiestramiento, supervisión estricta, cambio de microscopio, etc.) de acuerdo a los resultados de la supervisión trimestral y del control de calidad fundamentado en los criterios establecidos de aceptación de error. Los responsables de esta tarea es el personal de las Unidades de Diagnóstico Departamentales y el Laboratorio Nacional.

7.3 Participación comunitaria

1. El personal de las unidades de diagnóstico que tomen muestras a pacientes, deben utilizar el sistema de identificación de láminas para distinguir láminas iniciales de aquellas de seguimiento (pag. 40).
2. Los Col-Vol y los TSA de cada comunidad deben coordinar la entrega de muestras a las unidades de diagnóstico y retorno de los resultados utilizando un sistema rotatorio cada tres o cuatro días, dependiendo del número de Col-Vol. La coordinación puede ser entre ellos mismos y los Maestros, Guardianes de Salud, motoristas de empresas de transporte, etc. El responsable de esta tarea es el TSA. El Col-Vol debe realizar diagnóstico clínico de malaria, administrar tratamiento con cloroquina y primaquina por tres días, tomar una muestra de sangre de buena calidad, y transportar la muestra a la unidad de diagnóstico más cercana, en coordinación con el TSA y los líderes comunitarios.
3. El personal de las unidades de diagnóstico locales deben colorear las láminas, realizar diagnóstico microscópico de buena calidad, registrar la información, y retornar los resultados al Puesto de Notificación Voluntaria. Se debe utilizar un sistema de enmascaramiento en el cual los resultados del diagnóstico microscópico no se escriben en las láminas sino solamente en el Formulario ML-1. Estas actividades deben realizarse en coordinación con el TSA y la comunidad.
4. El TSA en coordinación con el Col-Vol, debe notificar a los líderes comunitarios y a los Auxiliares de Campo, en las localidades que cuentan con este recurso, sobre los casos nuevos de malaria para que se ejecuten actividades de promoción de la salud y control vectorial.
5. El Col-Vol, acompañado por el TSA cuando sea posible, debe realizar visita domiciliar y notificar los resultados del diagnóstico microscópico a los pacientes positivos. En la visita domiciliar, el Col-Vol debe supervisar y promover la adherencia al tratamiento, y completar tratamiento a 14 días en los casos de malaria vivax. Además debe solicitarles a los pacientes que se presenten al Puesto de Notificación Voluntaria en cualquier momento que presenten de nuevo síntomas, especialmente fiebre, dentro de los primeros 28 días a partir del inicio del tratamiento. Además, debe citar al paciente para tomarle muestra de seguimiento el día 28, con o sin síntomas.
6. El Col-Vol en coordinación con el TSA, ASA, los líderes comunitarios, deben rastrear los contactos de los casos positivos entre convivientes y vecinos durante la primera visita de seguimiento. Durante el rastreo se debe preguntar por síntomas, especialmente fiebre (o historia de fiebre en los 28 días pasados), tratar a los casos febriles como casos nuevos, tomar muestra y administrar tratamiento por cinco días.

CAPITULO 8

Limpieza y almacenamiento de las láminas portaobjetos

Las láminas portaobjetos son suministradas en cajas de 50 o 72 unidades. Aunque en la caja se describan como "lavadas" o "pre-limpiadas", las láminas deben ser lavadas adecuadamente, secadas y envueltas. No es posible hacer gotas gruesas o extendidos finos de buena calidad sobre láminas sucias. Las muestras que se preparan sobre láminas sucias o grasosas, se desprenderán fácilmente durante la coloración. Por lo tanto, no se deben utilizar láminas que tengan una sombra iridiscente o que aparecen opacas, que no estén limpias o que estén viejas, con rayones en su superficie o bordes astillados. Para limpiar las láminas portaobjetos se necesita: 1) un recipiente grande de material plástico, 2) gasa, 3) detergente de buena calidad en polvo o líquido, 4) dos a cuatro retazos de tela de algodón seca, limpia y que no forme pelusa, y 5) agua limpia.

Láminas nuevas. Todas las láminas nuevas deben lavarse con detergente y agua limpia. Después de ser puestas en remojo por un período de 30-60 minutos, las láminas deben ser lavadas bajo agua corriente o en varios cambios de agua limpia. Cada lámina debe ser secada y pulida individualmente con un retazo de tela seca, limpia y que no forme pelusa. Las láminas limpias solamente deben manejarse tocándolas de los bordes para evitar que se deposite sucio o grasa en su superficie.

Láminas usadas. Para lavarlas se deben sumergir por uno o dos días en agua con detergente. Cuando sea posible se debe utilizar agua caliente. Después deben limpiarse uno por uno con la gasa. Se deben remover todos los restos de muestra, colorante y aceite de inmersión. No se deben dejar las láminas en detergente por más del tiempo indicado. Si el agua se evapora, el detergente se deposita en la superficie de las láminas y es casi imposible removerlo. Después de limpiadas, las láminas deben colocarse en una solución nueva de agua y detergente y después de una hora ser lavadas bajo agua corriente o varios cambios de agua limpia. Cada lámina debe ser secada y pulida individualmente como descrito arriba. Las láminas que se clasifiquen inapropiadas (rayadas, opacas, bordes astillados), deben descartarse.

Almacenamiento de las láminas.

Para almacenar correctamente las láminas se necesita:

1. Hojas de papel limpio y delgados de aproximadamente 11 x 15 cm
2. Cajas de papel limpio y delgado de láminas vacías
3. Bandas elásticas o cinta adhesiva

Las láminas limpias deben empacarse en paquetes de 10 láminas envueltas en papel. Cada paquete puede asegurarse con bandas elásticas o cinta adhesiva. Los paquetes pueden colocarse en las cajas de láminas para ser enviados al campo. Las láminas deben almacenarse en lugares secos. Si se almacenan en lugares calientes y húmedos, las láminas se pegaran entre ellas después de unas semanas y solo será posible separarlas si se lavan nuevamente y son secadas. No deben secarse al fogón

CAPITULO 9

El microscopio

9.1 Partes de un microscopio

El microscopio es un instrumento esencial para el diagnóstico de la malaria. Es un instrumento de precisión y requiere mantenimiento adecuado para prevenir daños en sus diferentes sistemas y para evitar el crecimiento de hongos que pueden dañar sus lentes.

El microscopio está formado por componentes que pertenecen a cuatro diferentes sistemas:

- 1) Sistema de soporte (pie, brazo, portaobjetivo giratorio, platina mecánica)
- 2) Sistema de magnificación (objetivo, ocular)
- 3) Sistema de iluminación (condensador con diafragma, fuente de luz, filtros)
- 4) Sistema de ajuste (tornillo macrométrico, tornillo micrométrico, tornillos de ajuste del condensador)

Las partes de un microscopio compuesto se ilustran en la Figura No. 14.

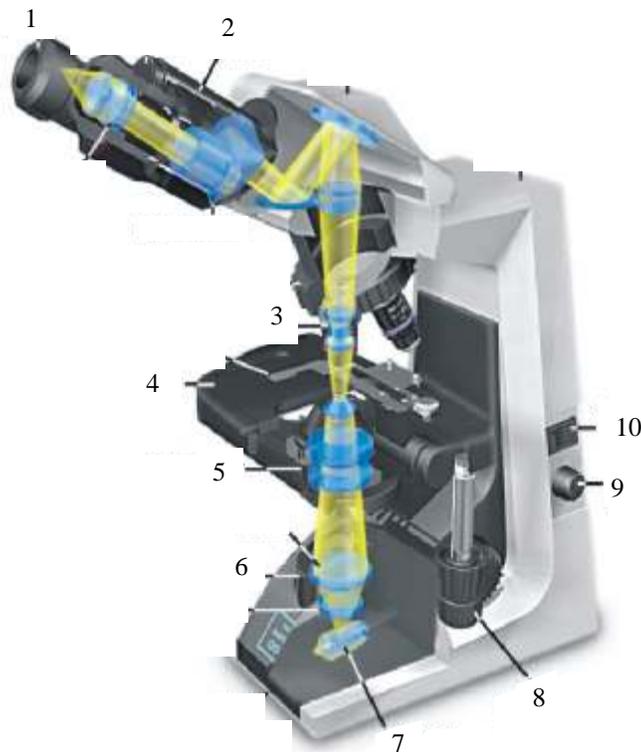


Figura No. 14. El microscopio óptico compuesto y sus partes: ocular (1), tubo principal (2), objetivo (3), platina (4), condensador (5), diafragma de campo (6), lámpara (7), mecanismos de movimiento coordinados x-y (8), regulador de la intensidad de la luz (9), interruptor de encendido (10). Los tornillos macrométrico y micrométrico no se observan en esta figura.

9.2 Uso del microscopio

Es importante aprender como se usa apropiadamente el microscopio, comprender sus limitaciones y conocer las medidas que se deben tomar para mantenerlo en buenas condiciones. Se necesita conocer el nombre de las partes del microscopio para poder seguir instrucciones durante las capacitaciones y visitas de supervisión, así como para describir aquellas partes que necesitan revisión o reemplazo.

Una combinación de lentes consistentes en un ocular 10X y un objetivo 100X, para un aumento total de 1000 veces, es la norma a la que se ajustan los microscopios compuestos clásicos. Todos los microscopios tienen incorporada una combinación de condensador y diafragma con los que se logra la intensidad luminosa óptima. Para una buena microscopía es necesario contar con una iluminación regulable. Cuando se enciende el microscopio se hace subir al máximo el condensador y se regula el diafragma en dos tercios de su apertura máxima. Luego se quita un ocular y se mira por el tubo. De ser necesario se alinea el condensador para que la luz brillante llegue al centro del condensador. Se vuelve a poner el ocular en su sitio. Se aleja el objetivo de la platina. Se aplica una gota de aceite de inmersión en el extremo de la gota gruesa y se coloca la lámina portaobjetos en la platina. Con el tornillo macrométrico se hace descender el objetivo hasta que toque el aceite. La muestra está lista entonces para ser examinada. Accionando el tornillo micrométrico se enfoca el campo y se regula la luz para tener una intensidad adecuada. Se seguirá el mismo procedimiento para observar el extendido fino. Al final de cada sesión se debe limpiar adecuadamente el objetivo de inmersión.

9.2.1 Enfoque interpupilar

El espacio entre los ojos es variable para cada persona. Por lo tanto, es necesario ajustar los oculares a la correspondiente distancia interpupilar para observar, con ambos ojos y a través de ambos oculares, un solo campo microscópico. Instrucciones: encienda el microscopio a una intensidad de iluminación confortable. Observe a través de ambos oculares. Observará un campo luminoso con el ojo izquierdo y otro con el ojo derecho. Para lograr la distancia interpupilar correcta, continúe observando el campo a través de un ocular mientras acerca o separa los oculares, ya sea utilizando la rosca entre ambos o tomando los oculares con ambas manos y presionando para juntarlos o separarlos. Cuando la imagen del ojo izquierdo y la imagen del ojo derecho se juntan en una sola imagen y se observa un solo campo luminoso con ambos ojos, se ha encontrado la distancia interpupilar correcta.

9.2.2 Enfoque ocular

Es necesario ajustar los oculares a cada ojo para poder observar una imagen nítida. Instrucciones: enfoque la muestra con el micrométrico lo más claro posible, observando con ambos ojos. Coloque una tarjeta enfrente del ojo izquierdo y enfoque nuevamente lo más claro posible, haciendo girar suavemente la rosca macrométrica o micrométrica. Cuando se logra esto, coloque la tarjeta cubriendo el ojo derecho. Ya no toque el macrométrico ni el micrométrico. Para enfocar la imagen, gire la rosca del ocular izquierdo hasta que observe nítidamente el objeto enfocado. Ahora los oculares ya están ajustados a cada ojo, asegurando así una observación clara evitando esfuerzo innecesario y cansancio.

9.2.3. Iluminación

La mejor iluminación ofrece el mejor contraste. Instrucciones: encienda el microscopio y abra a su máxima apertura el diafragma de campo y el diafragma del condensador. Ajuste la luz a una intensidad confortable y enfoque la muestra. Observando por los oculares, disminuya la apertura del diafragma de campo hasta una

pequeña luz. Si esta luz no está centrada en el campo microscópico, quiere decir que el condensador no está centrado. Utilizando ambos tornillos del condensador, gírelos despacio y alternativamente hasta colocar la luz en el centro del campo. A continuación, abra despacio el diafragma de campo hasta que la luz apenas desaparezca del campo visual. Ahora se debe ajustar el diafragma del condensador. Para ello, retire con cuidado el ocular izquierdo, vea a través del orificio y observe la imagen que se forma al cerrar despacio el diafragma del condensador. Debe obtener una imagen clara y con buen contraste, y la luz debe estar centrada en el campo microscópico. Coloque el ocular izquierdo en su lugar. Ya puede trabajar con el microscopio alineado y debidamente iluminado.

9.2.4. Estimación de tamaño

El tamaño es una característica importante en la identificación de los parásitos y su diferenciación con artefactos. Para un trabajo exacto se debe utilizar un micrómetro calibrado. En su ausencia, se pueden utilizar otros criterios como la comparación con estructuras de medidas conocidas. Los glóbulos rojos humanos miden aproximadamente 7.5 μ m de diámetro. También se puede conocer la medida del puntero que poseen algunos oculares. A medida que se trabaja, se debe desarrollar un sentido de tamaño.

Calibración del ocular micrométrico

El uso de un ocular calibrado permite medir exactamente las estructuras en las muestras. Los oculares micrométricos son discos de vidrio sobre los cuales se ha rayado una escala dividida en unidades, generalmente de 50 a 100 divisiones. Estas divisiones tendrán medidas diferentes dependiendo de los objetivos utilizados por lo que es necesario calcular los valores de las divisiones con cada objetivo. Esto se logra traslapando la escala del ocular a la escala grabada en un portaobjetos, la cual si está grabada con una escala de medidas conocidas, en divisiones de 0.1 y 0.01 mm. Una vez que los objetivos han sido calibrados, ni el ocular con el disco micrométrico ni los objetivos pueden ser reemplazados. Si es necesario reemplazarlos, se debe calibrar de nuevo.

Procedimiento:

- Desatornille la lente por arriba o por abajo del ocular, dependiendo de su manufactura, y coloque el disco micrometrado. Reponga la lente e inserte el ocular en su lugar. Debe usar papel lente para limpiar el disco y las lentes del ocular.
- Inicie la calibración con el objetivo de menor aumento y continúe con los demás. Coloque el portaobjetos calibrado sobre la platina del microscopio y enfoque la escala.
- Enfoque el micrométrico para ver claramente las líneas grabadas y que pueda distinguir las divisiones de 0.1 y 0.01 mm.
- La línea del cero del ocular micrometrado debe coincidir con el cero del portaobjetos milimetrado (ver Figura No. 15).
- Cuando estas dos líneas están traslapadas, sin mover la platina mire hacia la derecha de los ceros y determine cuando puede ver de nuevo líneas traslapadas. Procure encontrarlas lo más alejado posible hacia la derecha. Esta distancia variará de acuerdo al objetivo utilizado. A una mayor magnificación, el grosor de las líneas grabadas va a resultar tan grande que cuando traslape las líneas podrá hacerlo ya sea hacia la izquierda o hacia la derecha de las líneas individuales.

- Cuente el número de divisiones en el ocular que existen entre el cero y las nuevas líneas traslapadas. Entonces en el portaobjetos grabado cuente el número de divisiones de 0.1 mm que hay entre el cero y las nuevas líneas traslapadas a la derecha.
- Calcule la porción de un milímetro que se mide con una unidad ocular, según lo ilustrado en el siguiente ejemplo: $33 \text{ unidades del ocular} = 0.22 \text{ mm}$, $1 \text{ unidad del ocular} = 0.22 \text{ mm}/33 = 0.0066 \text{ mm} = 0.0066 \text{ mm} \times 1 \text{ um}/1000 \text{ mm} = 6.6 \text{ um}$, $1 \text{ unidad del ocular} = 6.6 \text{ um}$ (para este objetivo calibrado).
- Cuando la calibración ha sido completada con todos los objetivos, prepare un cuadro sencillo que muestre los valores para cada uno de los objetivos, por ejemplo:

Medición (unidades)	Objetivos		
	10X	40X	100X
1	6,6	2,4	1
2	13,2	4,8	2
3	19,8	7,2	3
4	26,4	9,6	4

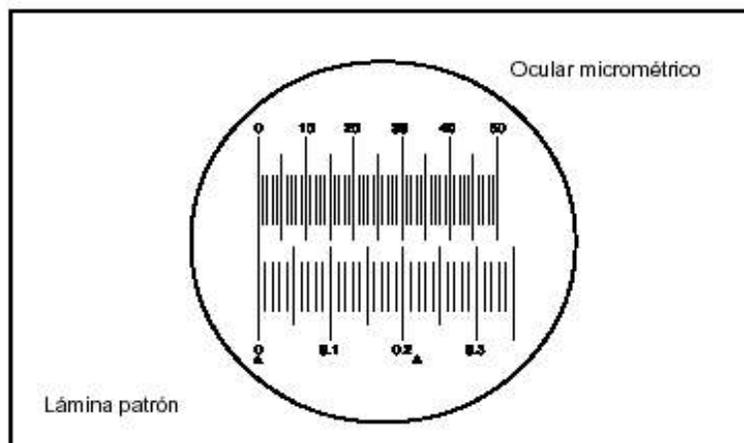


Figura No. 15. Calibración del micrómetro ocular. Fuente: Kaminsky RG. Manual de Parasitología. Métodos para laboratorios de atención primaria de salud. 2da Edición, 2000.

9.3 Cuidado del microscopio

Se deben cumplir las siguientes recomendaciones para un cuidado óptimo del microscopio:

- Se debe dejar el microscopio en un mismo lugar evitando su transporte constante o frecuente de un sitio a otro.
- Mientras no se utiliza, el microscopio se debe mantener cubierto con una funda de plástico o de tela para protegerlo del polvo, especialmente en zonas de clima cálido seco.



- Para proteger el microscopio de la proliferación de hongos especialmente en zonas de clima cálido húmedo, se debe guardar en un cuarto con aire acondicionado o con deshumidificación permanente colocando en la caja del microscopio una bombilla de 15w que quede constantemente encendida, o conectando varias bombillas de 15 o 25w que queden constantemente encendidas en un armario cuyas puertas cierren bien.
- Límpiase el aceite del objetivo de inmersión todos los días.
- Indíquese el número de modelo y de ser posible el número de instrumento y de pieza cuando se pidan piezas de repuesto.
- No se debe desmontar el microscopio para limpiar partes de difícil acceso.
- No se debe utilizar alcohol para limpiar el microscopio.
- No se deben limpiar los oculares con otra cosa que no sea papel seco especial para lentes.
- No se deben dejar abiertos los portalentes. Si es necesario retirar los objetivos, se debe utilizar la tapa provista o una cinta selladora para cerrar la abertura.
- No se deben intercambiar las lentes ni las piezas del microscopio.
- No se deben guardar los distintos oculares y objetivos sin antes haber colocado cada uno en un saco plástico herméticamente cerrado con una bolsita de gel de sílice autoindicador. Este gel es azul cuando está activo y cambia al rosado cuando ha absorbido toda el agua posible. El gel puede reactivarse por calentamiento y volverá a tomar el color azul.
- No se debe guardar el microscopio en su caja durante largos periodos ni transportarlo sin ajustar el tornillo que lo sujeta.

CAPITULO 10

Referencias

1. Aguilar CJ, E Bu Figueroa y J Alger. Malaria: Infección subclínica entre escolares en la comunidad de Palacios, La Mosquitia. *Revista Médica Hondureña* 2002; 70: 111-115.
2. Alger J. Pruebas de Diagnóstico Rápido: principio y utilización en la vigilancia de *Plasmodium falciparum* en Honduras. Memoria XI Semana Científica, XI Jornada de las Ciencias Biológicas y de la Salud, II Congreso Nacional de Parasitología, II Jornada Científica de Microbiología. Tegucigalpa, 6-10 de septiembre 2004, pag. 121.
3. Alger J. Densidad parasitaria en malaria: Métodos de determinación y su interpretación. *Revista Médica Hondureña* 2001; 69: 118-120.
4. Alger J, H Andrade, L Pang, y DJ Krogstad: Dinámica de baja transmisión de *Plasmodium falciparum*. Resúmenes V Congreso Centroamericano de Parasitología y Medicina Tropical, VII Curso Internacional de la Sociedad Hondureña de Enfermedades Infecciosas y I Congreso Nacional de Parasitología 2001, Tegucigalpa, Honduras, pág. 78.
5. Alger J. Nuevas perspectivas en el diagnóstico de la malaria: pruebas rápidas a base de cintas reactivas (dipsticks). *Revista Médica Hondureña* 2000; 68: 72-73.
6. Alger J. Diagnóstico microscópico de la malaria: gota gruesa y extendido fino. *Revista Médica Hondureña* 1999; 67: 216-218.
7. Alger J, MC Acosta, NG Saravia and DJ Krogstad. PCR-based markers for genetic variability and for evaluation of recurrent infection in *Plasmodium vivax* endemic areas [Abstract]. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1995; 53 (Suppl): 212.
8. Alvarado M, J Alger, LJ Salgado, MM Lobo, D Cury. Situación epidemiológica de la malaria en Honduras y las iniciativas de control. Resúmenes XLVII Congreso Médico Nacional, *Revista Médica Hondureña* 2004; 72 (Suplemento No. 1): s66-s67.
9. Alvarado M, J Alger, LJ Salgado, MM Lobo, D Cury, M Sierra, H Cosenza. Caracterización ecosistémica de la malaria en Honduras. Resúmenes XLVII Congreso Médico Nacional, *Revista Médica Hondureña* 2004; 72 (Suplemento No. 1): s67-s68.
10. Alves FP, Durlacher RR, Menezes MJ, Krieger H, Pereira da Silva LH, and Camargo EP. High Prevalence of Asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian Populations. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2002; 66(6): 641-648.
11. Ash L and TC Orihel. Atlas of Human Parasitology. 4th Edition, American Society of Clinical Pathologists, United States of America, 1997.
12. Ash L and TC Orihel. Parasites: A guide to laboratory procedures and identification. American Society of Clinical Pathologists, United States of America, 1991.



13. AVSC International (EngenderHealth). Descontaminación y preparación de soluciones de cloro. Prevención de infecciones. Módulo 8, Curso de capacitación para proveedores de salud y otro personal de hospitales y clínicas. Manual del participante. New York, USA, 1999, pp.8.1-8.9.
14. Djimde A, Doumbo OK, Cortese JF, Kayentao K, Doumbo S, Diourte Y, Dicko A, Su XZ, Nomura T, Fidock DA, Wellems TE, Plowe CV, Coulibaly D. A molecular marker for chloroquine-resistant falciparum malaria. N Engl J Med. 2001 Jan 25;344(4):257-63.
15. Fernández RD, Y García, J Alger. Malaria y embarazo: Observaciones clínico-epidemiológicas en dos zonas geográficas de Honduras. Revista Médica Hondureña 2001;69:8-18.
16. Guardiola D. Evaluación del Programa de Malaria en el Municipio de Jutiapa, Atlántida, año 2005. Tesis de Maestría en Epidemiología, Facultad de Ciencias Médicas, UNAH, 2006.
17. Guardiola D, J Alger, M Alvarado, Laura Salgado, H Cosenza. Utilización de Pruebas de Diagnóstico Rápido en la investigación de un brote de paludismo por *P.falciparum* en el Municipio de Balfate, Departamento de Colon. Memoria XI Semana Científica, XI Jornada de las Ciencias Biológicas y de la Salud, II Congreso Nacional de Parasitología, II Jornada Científica de Microbiología. Tegucigalpa, 6-10 de septiembre 2004, pag. 123.
18. Haddad D, G Snounou, D Mattel, IG Enamorado, J Figueroa, S Stahl and K Berzins. Limited genetic diversity of *Plasmodium falciparum* in field isolates from Honduras. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1999;60:30-34.
19. Honduras. Secretaría de Salud. Departamento de Estadística. Información estadística de atención ambulatoria en salud, año 2003. Tegucigalpa, Secretaría de Salud de Honduras, 2004.
20. Instituto de Enfermedades Infecciosas y Parasitología Antonio Vidal. Manual de Manejo de Enfermedades Parasitarias Prioritarias en Honduras. Instituto de Enfermedades Infecciosas y Parasitología Antonio Vidal / Organización Panamericana de la Salud, Tegucigalpa, 2005.
21. Kaminsky RG. Manual de Parasitología. Métodos para laboratorios de atención primaria de salud. 2da Edición, 2003.
22. Kaminsky RG. El parasitismo en Honduras. Serie de Diagnóstico No. 14. Organización Panamericana de la Salud, 1996.
23. López Antuñano FJ y G Schmunis, Eds. Diagnóstico de Malaria. Organización Panamericana de la Salud 1988. Publicación Científica No. 512.
24. Mejía-Díaz JR, J Alger, R Valenzuela-Castillo, RJ Soto. Evaluación clínica y parasitológica de la eficacia de la cloroquina en el tratamiento de la malaria en niños. Hospital Escuela 1998-2000, Tegucigalpa, Honduras. Postgrado 2000;5:97-104.
25. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. Informe de la Situación de los Programas de Malaria en Las Américas. Informes CD44/INF/3 2003; CSP26/INF/3 2002.



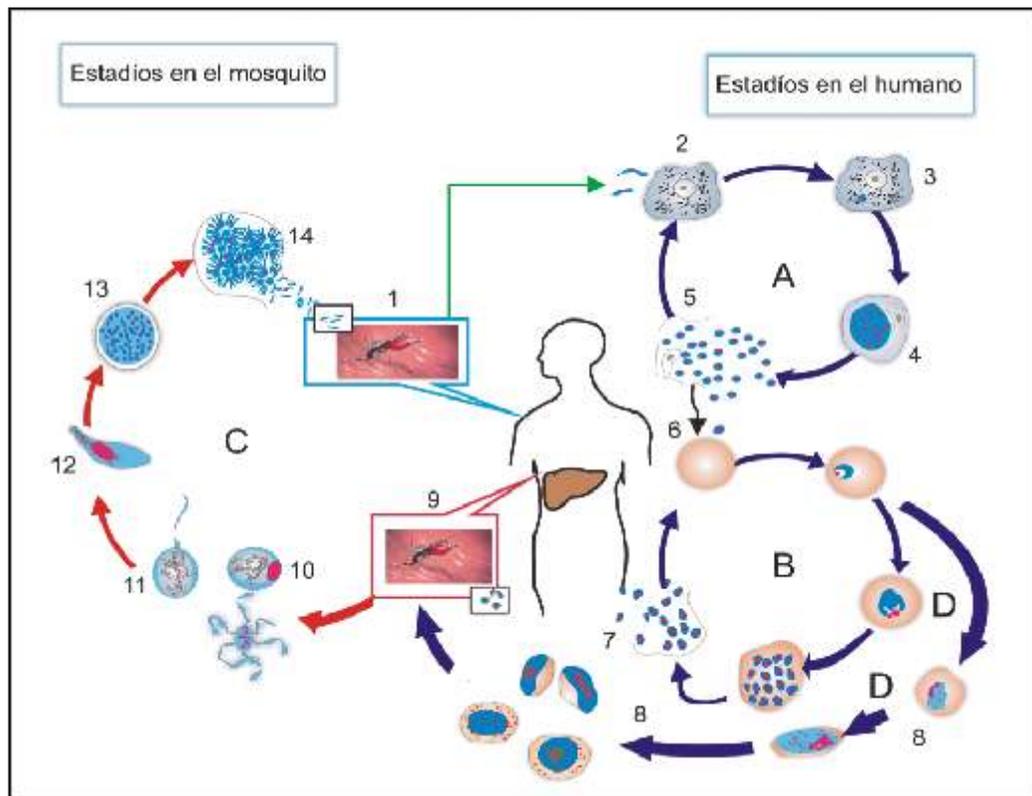
26. Organización Mundial de la Salud. Comité de Expertos de la OMS en Paludismo. OMS, Serie de Informes Técnicos No.892, Ginebra 2000.
27. Organización Mundial de la Salud. Medios Auxiliares para el diagnóstico de las infecciones palúdicas. Segunda Edición, Ginebra, 2000.
28. Palmer CJ, JF Lindo, WI Klaskala, JA Quesada, R Kaminsky, MK Baum and AL Ager. Evaluation of the OptiMal test for rapid diagnosis of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria. Journal of Clinical Microbiology 1998;36:203-206.
29. Pang L y F Alves. Informe de la consultoría sobre Evaluación del sistema de laboratorios de malaria y sistema de información. Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria, Secretaría de Salud, y Proyecto Fondo Global Honduras. Diciembre 2004.
30. Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria. Diagnóstico Situacional del Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria de Honduras. Proyecto Fortalecimiento de la Respuesta Nacional para la Protección y Promoción de la Salud en Malaria, Tuberculosis y SIDA, Secretaría de Salud, Honduras, 2004.
31. Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria. Plan Estratégico Nacional de Malaria 2004-2008. Secretaría de Salud, Honduras, 2004.
32. Roll Back Malaria/World Health Organization/UNICEF. World Malaria Report 2005. WHO/HTM/MAL 2005.1102.
33. Seed CR, Kitchen A, Davis TM. The current status and potential role of laboratory testing to prevent transfusion-transmitted malaria. Transfus Med Rev 2005;19(3):229-40.
34. World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria. World Health Organization, Geneva, WHO/HTM/MAL/2006.1108, 2006.
35. World Health Organization. Malaria rapid diagnosis. Making it work. Meeting report. January 20-23, RS/2003/GE/05 (PHL), 2003.
36. World Health Organization. Manual of Basic Techniques for Health Laboratory. 2nd Edition, Geneva 2003.
37. World Health Organization. Rolling back malaria. The World Health Report 1999, Making a difference. 2000 pp.49-63.
38. World Health Organization. Malaria diagnosis: New perspectives. Report of a join WHO/USAID Informal Consultation, October 25-27, Geneva, 1999.
39. World Health Organization. Basic Malaria Microscopy. Part I. Learner's Guide. Geneva 1991.
40. World Health Organization. Basic Malaria Microscopy. Part II. Tutor's Guide. Geneva 1991.

ANEXOS

CAPITULO 11 ANEXOS

11.1 Ciclo de vida de *Plasmodium* spp.

(Fuente: División de Enfermedades Parasitarias, CDC, Atlanta, GA, Estados Unidos de América. Sitio web: <http://www.cdc.gov>).



A. Fase hepática o pre-eritrocítica

B. Fase sanguínea o eritrocítica

C. Fase esporogónica

D. Estadios diagnósticos

1. Mosquito alimentándose e inoculando esporozoitos

2. Célula hepática o hepatocito

3. Hepatocito infectado*

4. Esquizonte tisular

5. Ruptura del esquizonte e invasión de la sangre

6. Invasión de los glóbulos rojos

7. Ruptura de esquizonte maduro

8. Gametocitos inmaduros y maduros

9. Mosquito alimentándose e ingiriendo gametocitos

10. Formación de gametos

11. Gameto masculino fertilizando gameto femenino

12. Oocineto

13. Ooquiste

14. Ruptura del ooquiste y liberación de esporozoitos

* En el caso de *P. vivax* y *P. ovale*, algunos de estos estadios no comienzan a dividirse sino que permanecen latentes en el hígado (hipnozoitos).

11.2. Información Estadística.

Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria, Secretaría de Salud.

Casos sospechosos, casos confirmados e Incidencia Parasitaria Anual de malaria, 2001-2005.
Fuente: Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria.

AÑO	POBLACION	CASOS SOSPECHOSOS	CASOS CONFIRMADOS	INFECCIONES POR <i>P. falciparum</i>	INCIDENCIA PARASITARIA ANUAL (IPA) X 1000 HAB	IPA <i>P. falciparum</i> x 1000 HAB
2001	5,301,034	174,430	24,149	938	4.56	0.18
2002	5,359,481	178,616	17,223	606	3.21	0.11
2003	6,286,786	136,939	14,123	540	2.25	0.09
2004	7,028,389	144,945	17,293	868	2.46	0.12
2005	7,195,300	153,140	16,007	999	2.22	0.14

Departamentos con mayor riesgo de transmisión de la malaria, 2005.
Fuente: Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria.

DEPARTAMENTO	POBLACION	CASOS SOSPECHOSOS	CASOS CONFIRMADOS	% del total de	ILP	IPA X 1000 HAB.	CASOS <i>P. falciparum</i>	% del total de casos <i>P. falciparum</i>
Gracias a Dios	76,277	16,059	2,163	17.6	13.5	28.36	378	38.3
Islas de la Bahía	43,019	3,917	1,058	8.6	27.0	24.59	34	3.4
Colón	266,776	34,801	3,808	31.0	10.9	14.27	111	11.2
Olancho	458,366	34,151	3,408	27.8	10.0	7.44	445	45.1
Atlántida	372,531	11,032	1,844	15.0	16.7	4.95	19	1.9
TOTAL	1,216,969	99,960	12,281	100%	12.3	10.09	987	100%

ILP (Indice de Láminas Positivas) = No. láminas positivas / total muestras examinadas x 100
IPA (Incidencia Parasitaria Anual) = No. casos / población total x 1000 habitantes

Distribución de casos de malaria por Departamento e Indices Malarionométricos, 2004 - 2005.
Fuente: Programa Nacional de Prevención y Control de la Malaria
(Datos incompletos para el año 2005).

Departamento	Año	Habitantes	Muestras Examinadas	Casos		Total	ILP (%)	IPA (%)	IAES (%)
				P.v.	P.f. y mix				
ATLANTIDA	2004	365,375	9,582	2,158	19	2,177	22.72	5.96	2.62
	2005	372,531	10,736	1769	19	1,788	16.65	4.80	2.88
CHOLUTECA	2004	412,796	5,889	64	1	65	110	0.16	1.43
	2005	420,349	5,644	68	0	68	1.20	0.16	1.34
COLON	2004	261,605	25,991	4,199	203	4,402	16.94	16.83	9.94
	2005	266,776	34,311	3,636	105	3,741	10.90	14.02	12.86
COMAYAGUA	2004	380,850	6,845	1,111	1	1,112	16.25	2.92	1.80
	2005	390,642	8615	1279	0	1279	14.85	3.27	2.21
COPAN	2004	311,667	4761	22	0	22	0.46	0.07	1.53
	2005	320,564	3,033	21	0	21	0.69	0.07	0.95
CORTES	2004	1,328,593	4,059	230	0	230	5.67	0.17	0.31
	2005	1,363,493	3,019	95	2	97	3.21	0.07	0.22
EL PARAISO	2004	375,015	8,869	491	0	491	5.54	1.31	2.36
	2005	383,565	5942	460	0	460	7.74	1.20	1.55
TEGUCIGALPA	2004	979,457	261	18	0	18	6.90	0.02	0.03
	2005	1,004,548	201	30	0	30	14.93	0.03	0.02
FRANCISCO MORAZAN	2004	1,266,231	4936	104	3	107	2.17	0.08	0.39
	2005	1,294,850	1,398	25	0	25	1.79	0.02	0.11
GRACIAS A DIOS	2004	73,992	16,222	1996	116	2112	13.02	28.54	21.92
	2005	76,277	16059	1,785	378	2163	13.47	28.36	21.05
INTIBUCA	2004	196,383	666	8	0	8	1.20	0.04	0.34
	2005	202,136	780	0	0	0	0.00	0.00	0.39
ISLAS DE LA BAHIA	2004	41,779	2253	551	33	584	25.92	13.98	5.39
	2005	43019	3335	896	33	929	27.86	21.60	7.65
LA PAZ	2004	169,341	955	101	0	101	10.58	0.60	0.56
	2005	173,729	560	65	0	65	11.61	0.37	0.32
LEMPIRA	2004	270,748	290	0	0	0	0.00	0.00	0.11
	2005	277,911	86	0	0	0	0.00	0.00	0.03
OCOTEPEQUE	2004	115,860	170	3	0	3	1.76	0.03	0.15
	2005	118,561	92	0	0	0	0.00	0.00	0.08
OLANCHO	2004	448,414	31,147	2,905	369	3,274	10.51	7.30	6.95
	2005	458,366	34,151	2,963	445	3408	9.98	7.44	7.45
SANTA BARBARA	2004	361,631	1,732	60	21	81	4.68	0.22	0.48
	2005	368,297	1,272	31	1	32	2.52	0.09	0.35
VALLE	2004	158,177	1610	100	0	100	6.21	0.63	1.02
	2005	160,347	3,215	96	0	96	2.99	0.60	2.01
YORO	2004	494,276	10,662	825	0	827	7.76	1.67	2.16
	2005	503,887	10,117	790	6	796	7.87	1.58	2.08
TOTAL DEL PAIS	2004	7,032,743	136,639	14,928	768	15,696	11.49	2.23	1.94
	2005	7,195,300	142,365	13,979	989	14,968	10.51	2.08	1.98

ILP (Indice de Láminas Positivas) = No. Láminas positivas / No. Muestras examinadas x 100; IPA (Incidencia Parasitaria Anual) = No. casos / población total x 1000 habitantes; IAES (Indice Anual de Exámenes de Sangre) = No. total de muestras / población total x 100; P.v. = casos por *Plasmodium vivax*; P.f. y mix= casos por *P. falciparum* e infecciones mixtas.

11.3 Formularios para el registro de la información.

11.3.1 Formulario M-1

**Secretaria de Salud
Dirección General de Salud
Programa Nacional de Prevención y control de la Malaria
Notificación de sospechosos para Diagnostico de Malaria**

Datos Generales			Numero Muestra:	Fecha Toma de Muestra:
Reg. Departamental			Día ___ Mes ___ Año ___	
Localidad:			Municipio:	
Sub-Localidad:			Nombre Notificador:	
Clave Notificador:			Nombre US:	
Tipo Notificador: COLVOL <input type="checkbox"/> PERS. ENFERM. <input type="checkbox"/> PERS. LABORART. <input type="checkbox"/> OTRO <input type="checkbox"/>			Nivel de Atención: CESAR <input type="checkbox"/> HOSPITAL <input type="checkbox"/> LABORATORIO <input type="checkbox"/> PRIVADO <input type="checkbox"/>	
Clave US:			CESAMO <input type="checkbox"/> CMI <input type="checkbox"/> IHSS <input type="checkbox"/>	
Datos del Paciente				
Identidad Paciente:		Edad		Sexo
Nombre Paciente:		Años _____		Hombre <input type="checkbox"/>
		Meses _____		Mujer <input type="checkbox"/>
Educación: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>		Primaria Completa <input type="checkbox"/> Primaria Incompleta <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/>		Ocupación u Oficio
¿Sabe Leer y Escribir? <input type="checkbox"/>				
Departamento (Residencia Actual)		Municipio (Residencia Actual)		Localidad (Residencia Actual)
Ubicación		Barrio/Colonia/Caserio		Dirección Exacta
No. de Manzana: _____				
No. de Casa: _____				
Lugare que visitó en los últimos 15 días:				
Nombre Jefe de Familia:				
Síntomas:		Fecha Inicio Primer Síntoma:		Tipo de Diagnóstico:
Escalofríos <input type="checkbox"/> Sudoración <input type="checkbox"/>		Día ___ Mes ___ Año ___		Clínico <input type="checkbox"/>
Fiebre <input type="checkbox"/> Dolor de Cabeza <input type="checkbox"/>				5 días <input type="checkbox"/>
Estado Febril:		Medicamentos:		Laboratorial <input type="checkbox"/>
Actual (0-5 días) <input type="checkbox"/>		Cloroquina <input type="checkbox"/>		14 Días <input type="checkbox"/>
Reciente (6-30 días) <input type="checkbox"/>		Primaquina Adulto <input type="checkbox"/>		Caso Especial: <input type="checkbox"/>
NO Febril (> 30 días) <input type="checkbox"/>		Primaquina Infantil <input type="checkbox"/>		Especifique:
Datos del Laboratorio				
Nombre del Laboratorio		Nivel Laboratorio		
Ubicación Laboratorio				
Resultado Examen		Fecha Recepción de Muestra:		Fecha Examen de Muestra:
Positivo:		Día ___ Mes ___ Año ___		Día ___ Mes ___ Año ___
P. Vivas <input type="checkbox"/>		Densidad		Calidad Muestra: Buena <input type="checkbox"/> Mala <input type="checkbox"/>
Infección Mixta <input type="checkbox"/>		Parasitaria		Condición Lámina Buena <input type="checkbox"/> Rota <input type="checkbox"/>
P. Malarie <input type="checkbox"/>		Nombre		Días entre toma y Diagnostico
P. Ovale <input type="checkbox"/>		Firma		< 1 <input type="checkbox"/> + 7 <input type="checkbox"/>
Negativos <input type="checkbox"/>				1 - 3 <input type="checkbox"/> 8 ≥ <input type="checkbox"/>

Original: Estadísticas Regional

Copia 1: TBA (para actualización de archivo del puesto de notificación y ENTREGA de resultado al paciente)

Copia 2: Notificador



INSTRUCTIVO DE LLENADO DE FORMULARIO M-1

Nombre del Formato: Notificación de sospechosos para diagnósticos de Malaria (M-1)

Propósito: Que el personal de la Secretaría de Salud, colaboradores voluntarios de Malaria y personal de instituciones privadas dedicadas a la vigilancia y prevención de la Malaria cuenten con un formato para el registro de los datos generales del paciente, medicamento utilizado en el tratamiento, servicio que da la prestación y resultado de laboratorio.

Responsable de llenado: Colaboradores Voluntarios, Personal de Enfermería, Personal de Laboratorio y personal de instituciones privadas dedicadas a la asistencia en salud.

Flujo: Localidad, US, Laboratorio, Municipio y Departamento.

Periodicidad: Permanente

DESCRIPCIÓN Y LLENADO DE FORMATO

El formulario consta de tres secciones: 1) Datos generales, 2) Datos del paciente y 3) Datos del laboratorio. En las tres secciones debe llenarse completa y correcta la información que se solicita.

DATOS GENERALES

En esta sección se anotará el número que le corresponde a la muestra, de igual forma la fecha, mes y año de toma de la muestra. En la casilla que corresponde a Región Departamental, se anotara el número o código de la Región y el nombre de la ciudad sede.

Municipio, se anotara el nombre completo del Municipio de igual forma el nombre de la Localidad. En la casilla de Clave del Notificador, se anotara en números arábigos la clave o código del notificador, ejemplo 02, 04, 08, sucesivamente el nombre completo del notificador. Tipo de Notificador, se marcara en el cuadrado una X el nivel respectivo, Col.Vol. personal de enfermería, personal de laboratorio, otros. Clave de US, Se anotara la clave que le corresponda a la US, de igual forma el nombre de la US, que brindó el servicio.

Nivel de Atención, se marcara en el cuadrado una X el nivel donde labora la persona que presto el servicio, Cesar, Cesamo, Hospital, Laboratorio, MCI, IHSS, Privada, etc.

DATOS DEL PACIENTE

Se anotara el Número de la Identidad, o el número de la partida de nacimiento que le corresponda al paciente. Nombre del Paciente, se anotara el nombre completo del paciente. La Edad, se anotara en años y meses. Sexo, se anotara una X en el cuadrado que corresponda hombre o mujer. Nombre del jefe de Familia, se anotará el nombre completo del jefe(a) de familia. Educación del Paciente, se le preguntará al paciente si sabe leer y escribir y de acuerdo a la respuesta se anotara en el cuadrado, si sabe leer hay que definir si finalizo la educación primaria o si está incompleta, u otro nivel educativo en este ultimo caso debe anotarse el nombre de la profesión y se marcara con una X en el cuadrado que corresponda. Ocupación u Oficio, debe de anotarse el oficio o actividad que realiza diariamente el paciente. Departamento (Residencia Actual), debe de anotarse el nombre del Departamento donde vive actualmente el paciente. Municipio (Residencia Actual), debe de anotarse el nombre del Municipio donde vive el paciente. Localidad (Residencia Actual), debe de anotarse el nombre de la Localidad donde vive el paciente. Ubicación, se anotara el nombre del barrio, colonia o caserío, donde vive el paciente, sucesivamente se anotara el número de manzana y número de casa del paciente. Dirección Exacta, aquí se anotara la dirección que permita ubicar con precisión al paciente ejemplo: contigua a la iglesia católica o frente a la pulpería los dos hermanos etc. Lugares que visito el paciente en los últimos quince días, se le preguntará al paciente los lugares que allá visitado en el periodo antes indicado. Anotando las fechas y el



lugar visitado en forma retrospectiva. Signos y Síntomas, se marcará en el cuadrado una X de acuerdo a los signos y síntomas que el paciente exprese, cuando inició su padecimiento. Fecha de inicio primer síntoma, se anotará la fecha el mes y el año que el paciente exprese iniciaron los síntomas. Estado Febril, se marcará en el cuadrado una X de acuerdo al estado febril del paciente, Febril actual: persona que esta con fiebre en el momento o ha sufrido en los últimos cinco días. Febril reciente: persona que ha sufrido fiebre hace seis días y hasta treinta días. No febril: persona que no ha padecido fiebre en los últimos treinta días. Tratamiento Aplicado, se marcará con una X en el cuadrado el tipo de medicamento que se le dio de igual forma el número de pastillas que se le entrego. Tipo de Diagnóstico, marcar con una X en el cuadrado si el diagnóstico fue clínico o laboratorio, de igual forma los días de tratamiento aplicados. Casos Especiales, debe de marcarse con una X el cuadrado si es un caso especial y anotar porque es especial, ejemplo, niño menor de seis Meses, mujer embarazo, paciente hipertenso, paciente epiléptico etc.

DATOS DEL LABORATORIO

En la casilla Nombre del Laboratorio, se anotará el nombre del laboratorio donde se examino la muestra. Nivel del Laboratorio, se anotara el nivel de acuerdo a su ubicación, ejemplo: Departamental, Municipal. Ubicación del Laboratorio, Hospital, Cesamo, Cesar, Privado, etc. Resultado de Examen, en esta casilla debe de anotarse con una X en el cuadrado el tipo de plasmodium diagnosticado en la muestra. Densidad Parasitaria, se anotará la cantidad de parásitos encontrada en la muestra utilizando para ello las claves estandarizadas en las normas del laboratorio. Fecha de Recepción de la muestra, se anotará la fecha el mes y el año que fue ingresada la muestra al laboratorio. Fecha de Examen de muestra, de igual forma se anotará la fecha el mes y el año en que fue diagnosticada la muestra. Calidad de la Muestra, se marcara con una X en el cuadrado de buena si la muestra tiene la cantidad de sangre y la forma idónea para el examen laboratorio, si la muestra no llena las condiciones idóneas indicadas en las normas del programa se marcara en la casilla de mala. Condición de la Lamina, esto se refiere a, si la lámina porta objeto esta completa, recibe la calificación de buena, pero si esta rota recibe la calificación de mala. Días entre toma y Diagnóstico, de acuerdo a la fecha de diagnóstico se restaran los días de la fecha de toma y se sacará la cantidad de días que ha tardado el diagnóstico y se llenará en el cuadrado los días que les correspondan. Responsable del Diagnóstico, aquí se anotará el nombre completo y la firma de la persona que realizo el diagnóstico.



INSTRUCTIVOS DE LLENADO DEL FORMULARIO ML-1

Responsable del Llenado	Microbiólogo, Técnicos de Laboratorio y Microscopista
Formulario Semanal ML-1	
Región	Nombre o número correspondiente del departamento.
Área de Salud	Nombre o número correspondiente del municipio.
Laboratorio	Nombre del laboratorio o Unidad de Diagnóstico (U.D.)
Fecha	Día/Mes/Año de cuando se hace el llenado de este formato (Semanal)
Láminas	
Ingreso	Total de láminas ingresadas a la U.D. en la semana que se esta reportando.
Saldo	Muestras que quedaron pendientes a diagnosticar en la semana
Semana No.	Número de la semana epidemiológica que se esta reportando
Microscopista	Nombre del recurso responsable (Microbiologo, Técnico de Laboratorio y Microscopista).
No. Orden	Número ascendente empezando siempre del No.1 en adelante dependiendo de las láminas recibidas.
No. de Muestras	Número correlativo a los paciente atendidos por cada ColVol o U.D.
Clave P.C.V.	Clave de identificación del recurso que realizó la toma de muestras hemática.
Fecha de Toma	Fecha en la cual se realizó la toma muestra.
Paciente	
Nombre	Nombre completo del paciente.
Edad	Edad del paciente expresada en años o en meses si es menor de 1 año.
Localidad de residencia	Lugar de procedencia del paciente.
Diagnóstico	
Pv	Paciente con parásitos de <i>P. vivax</i>
Pf	Paciente con parásitos de <i>P. falciparum</i>
Mx	Paciente con presencia de una infección mixta
Neg	No se observó <i>Plasmodium spp.</i> en 100 campos
Revisión	Observación del Microscopista Revisor.



INSTRUCTIVO DE LLENADO INFORME DIARIO ML-2

Responsable del Llenado		Microbiólogo, Técnicos de Laboratorio y Microscopista
Formulario Diario ML-2		
Departamento		Nombre o número correspondiente del departamento.
Municipio		Nombre o número correspondiente del municipio.
Laboratorio		Nombre del laboratorio (Unidad de Diagnóstico).
Semana Epidemiológica		Número de la semana epidemiológica en que se realiza el Diagnóstico.
Fecha del día		Día/Mes/Año del día.
No. Orden		Orden correlativo de las muestras ingresadas por fecha del día.
Datos de la Muestra	Fecha de Toma	Día/Mes/Año en que se realizó la toma de muestras hemática.
	Fecha de Recibo	Día/Mes/Año en que se recibe las muestras en el laboratorio.
	No. De muestra	Número de muestras correlativo al número de pacientes atendidos en el puesto de notificación, laboratorio o por el personal institucional.
	Clave ColVol	Código de identificación de los puestos de notificación No. Departamento - No. Municipio - No. ColVol
Datos del Paciente	Nombre completo del paciente	Anotar el nombre completo del paciente.
	Edad	Anotar la edad del paciente en años o en meses si es menor de 12 meses.
	Sexo	Masculino o femenino.
	Municipio	Nombre del municipio de donde proviene el paciente
	Localidad	Nombre de la localidad de donde proviene el paciente
	Pv	Muestra diagnosticada con parásitos de <i>Plasmodium vivax</i>
Diagnostico	Pf	Muestra diagnosticada con parásitos de <i>Plasmodium falciparum</i>
	Pm	Muestra diagnosticada con parásitos de <i>Plasmodium malariae</i>
	Po	Muestra diagnosticada con parásitos de <i>Plasmodium ovale</i>
	Mx	Muestras diagnosticada con infección mixta
	Neg	No se observó <i>Plasmodium spp.</i> en 100 campos
Fecha de Dx (diagnóstico)		Día/Mes/Año del día que se realizó el diagnóstico de las muestras hemáticas
Días entre recibo y diagnóstico (Dx)		Días transcurridos entre el recibo y el diagnóstico de las muestras hemáticas Es necesario determinar en que periodo de tiempo están los días transcurridos: 1 a 2 días 3 a 7 días 8 y mas días
Calidad de la muestra		Calidad de las muestras diagnosticadas en el laboratorio Bueno ? Regular ? Malo
Entrega de Resultados	Fecha	Día/Mes/Año del día en que se entrega resultados
	Firma	Firma de la persona que recibe los resultados del laboratorio.



INSTRUCTIVO DE LLENADO INFORME SEMANAL DEL DIAGNOSTICO DE MALARIA ML-3

Responsable del Llenado	Microbiólogo, Técnico de Laboratorio y Microscopista	
Nivel encargo	Nivel Local y Nivel Departamental	
Formulario ML-3		
No. Región Departamental	Número correspondiente a la región departamental.	
Municipio	Número correspondiente del municipio.	
Unidad de Diagnóstico (U.D.)	Nombre del laboratorio (Unidad de Diagnostico).	
Clave	Código con el que se identifica el laboratorio.	
Semana Epidemiológica	Numero de la semana epidemiológica que se esta notificando	
Día/Mes /Año S. Epidemiológica	Anotar por Día y Mes desde donde inicia hasta donde termina la S. Epidemiológica que se esta notificando	
Nombre del Responsable	Nombre completo del recurso que realizó el diagnóstico y la notificación.	
Fecha	Día/Mes/Año de los días de la Semana Epidemiológica	
M.E.	Total de muestras examinadas por día	
Pv	Total de muestras positivas por <i>Plasmodium vivax</i> por día	
Pf	Total de muestra positivas por <i>P.falciparum</i> por día	
Mx	Total de muestras positivas que presentaron infecciones mixtas	
Neg	Total donde No se observó <i>Plasmodium spp.</i> por día	
Tiempo entre Toma y Diagnostico	< a 1 día	Total de muestras ingresadas y diagnosticadas en el mismo día
	1 a 3 días	Total de muestras ingresadas y diagnosticadas entre 1 a 3 días
	4 a 7 días	Total de muestras ingresadas y diagnosticas entre 4 a 7 días
	8 y mas días	Total de muestras ingresadas y diagnosticadas entre 8 y mas días

Código	Clave de notificación y número de muestras con que viene identificada cada muestras hemática
Resultado	Casilla para colocar el resultado obtenido en la revisión realizada por el microscopista departamental o central de las muestras hemáticas enviadas por el nivel local o departamental para su evaluación.
Total de muestras. enviadas CC	Total de muestras enviadas para el Control de Calidad
Total de Positivos	Total de muestras positivas enviadas en el C.C.
Pv	Total de muestras de <i>P. vivax</i>
Pf	Total de muestras de <i>P. falciparum</i>
Mx	Total de muestras con infecciones mixtas
Neg	Total de muestras en donde no se observó <i>Plasmodium spp.</i>



11.3.5 FORMULARIOS ML-4

Secretaria de Salud
Departamento de Laboratorio Nacional de Vigilancia / Laboratorio Nacional de Malaria
Control de Calidad- Indicadores de Calidad de Muestras Hemáticas

ML-4
May-06

R. Departamental:		S. Epidemiologica:												Microscopista revisor:																	
No.	Código Muestras	Muestra						Coloración						Diagnóstico		No.	Código Muestras	Muestra						Coloración						Diagnóstico	
		Ident	Tamaño	Ubicación	Grosor	Desh	Tonalidad	Precip	Ident	Tamaño	Ubicación	Grosor	Desh	Tonalidad	Precip			SPDx	NSPDx	Ident	Tamaño	Ubicación	Grosor	Desh	Tonalidad	Precip	SPDx	NSPDx			
		A	NA	A	NA	A	NA	A	NA	A	NA	A	NA	A	NA			A	NA	A	NA	A	NA	A	NA	A	NA	A	NA		

INSTRUCTIVO DE LLENADO FORMATO INDICADORES DE CALIDAD DE MUESTRAS HEMÁTICAS ML-4

Responsable del llenado		Microbiólogo, Técnico de Laboratorio y Microscopista
Nivel		Nivel Departamental y Nivel Central
Formulario ML-4		
Región Departamental		Nombre o número correspondiente del departamento.
Semana Epidemiológica		Número de la semana epidemiológica en que se realiza el llenado del formulario.
Microscopista Revisor		Nombre de la microscopista revisora
No.		Número correlativo de muestras enviadas al CC
Código Muestras		Clave de identificación de cada una de las muestras enviadas al CC
Muestra	Identificación (Ident)	Clave de identificación con todos sus datos No. Departamento - No. Municipio - No. ColVol - No. muestra
	Tamaño	La Gota Gruesa debe de medir aproximadamente 1Cm x 1.5Cm
	Ubicación	La Gota Gruesa debe de ubicarse a 1.5Cm del borde la lámina
	Grosor	Indicar mediante la presencia de leucocitos por campo microscópico el grosor de la muestra Se debe de observar 10 a 20 leucocitos /Campo microscópico
Coloración	Deshemoglobinización	El fondo del a muestras debe de estar libre y lo mas claro posible
	Tonalidad	Se deben de observar las colores de los elementos de la sangre lo que nos daría un indicio de la coloración de los parásitos: Citoplasma: azul Cromatina: roja Plaquetas: roza intenso al violeta Leucocitos: generalmente azul y los gránulos dependiendo del tipo: Neutrófilos: gránulos rosados Eosinófilos: rojo cobrizo oscuro Citoplasma de los linfocitos: azul
	Precipitado	Ausencia de restos de precipitados que podrían interferir en Diagnóstico de Malaria.
A	Aceptable	Termino utilizado para indicar que el indicador evaluado en las muestras de calidad cumple con las normas de muestras de calidad.
NA	No Aceptable	Termino utilizado para indicar que el indicador evaluado en las muestras de calidad no cumple con las normas de Muestras de calidad.
SPDx	Se puede diagnosticar	Muestras hemáticas en las que se pueden observar 100 campos microscópicos y se puede realizar su respectivo diagnóstico.
NSPDx	No se puede diagnosticar	Muestras hemáticas que por la concentración de sangre, coloración, etc no se puede diagnosticar.

INSTRUCTIVO DE LLENADO FORMATO EVALUACION DE CONTROL DE CALIDAD DE MUESTRAS HEMÁTICAS ML-5

Responsable del llenado		Microbiólogo
Nivel		Nivel Departamental y Nivel Central
Formulario Diario ML-5		
Región Departamental	Nombre o número correspondiente del departamento.	
Responsable	Nombre del encargado de realizar la evaluación del Control de Calidad.	
Laboratorio: Microscopista	Nombre del laboratorio y Microscopista que envía y se le evalúa el Control de Calidad.	
Semana Epidemiológica	Colocar la información del laboratorio en la semana epidemiológica que esta reportando.	
Mstr. Informadas	ME	Total de muestras examinadas por semana epidemiológica.
	Post	Total de casos positivos diagnosticados por semana epidemiológica.
	Pv	Total de casos de <i>P. vivax</i> por semana epidemiológica.
	Pf	Total de casos de <i>P. falciparum</i> por semana epidemiológica.
	Mx	Total de casos por infecciones mixtas por semana epidemiológica.
	Neg	Total de muestras en donde no se observó <i>Plasmodium spp.</i>
Muestras Recibidas	ME	Total de láminas enviadas por semana epidemiológica al CC (total de láminas positivas y negativas).
	Post	Total de láminas positivas (100%) enviadas para el CC por semana epidemiológica
	Pv	Total de láminas de <i>P. vivax</i> enviadas para el CC.
	Pf	Total de láminas de <i>P. falciparum</i> enviadas para el CC
	Mx	Total de láminas con infecciones mixtas por semana epidemiológica enviadas al CC
	Neg	Total de muestras en donde no se observó <i>Plasmodium spp.</i> enviadas para el CC por semana epidemiológica.
Muestras Enviadas para revisión del Control de Calidad		
Muestras Revisadas	ME	Total de muestras revisadas del C.C.
	Post	Total de muestras revisadas que salieron positivas del C.C.
	Pv	Total de muestras revisadas que salieron positivas por <i>P. vivax</i>
	Pf	Total de muestras revisadas que salieron positivas por <i>P. falciparum</i>
	Mx	Total de muestras revisadas que presentaron infecciones mixtas
	Neg	Total de muestras en donde no se observó <i>Plasmodium spp.</i>
Total de Positivos	Total de muestras diagnosticadas positivas en la revisión del CC	
Total de Negativos	Total de muestras diagnosticadas Negativas en la revisión del CC	
Datos obtenidos del diagnóstico realizado por la Microscopista revisora de las muestras enviadas al CC		
No. Errores	N x P	Total de muestras del CC que reportaron NSOP y son positivas
	P x N	Total de muestras del CC que reportaron positivas y son Negativas
	Especies	Total de muestras en donde existe error en la identificación del a especie
	Estadios	Total de muestras en donde existe error en la determinación de los Estadios presente
	Parasitemia	Error en la determinación del grado de parasitemia en las muestras revisadas

