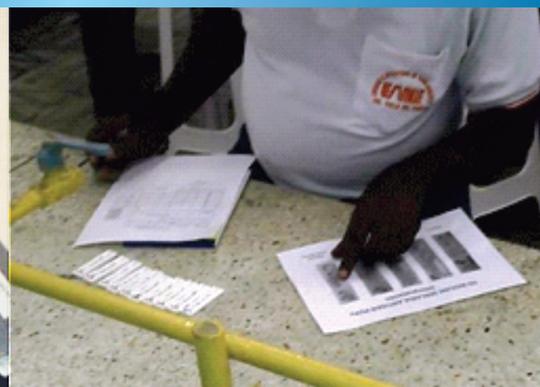


Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento



Apoyado por:



Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y Tratamiento

ISBN: 978-958-13-0175-1

Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento.

Instituto Nacional de Salud

Ministerio de Salud y Protección Social

Impresión: Milenio Editores

Bogotá D.C., 2015

Se autoriza la reproducción total o parcial de este documento siempre y cuando se conserve intacto su contenido y se de crédito a sus autores como al Instituto Nacional de Salud y al Ministerio de Salud y Protección Social.

Primera Edición 2500 ejemplares

Febrero de 2015

Contenido

AGRADECIMIENTOS	4
ABREVIACIONES O GLOSARIO	5
INTRODUCCIÓN	6
1. PUESTO DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE MALARIA	7
2. DIAGNÓSTICO DE LA MALARIA	9
2.1 Criterios clínicos de la malaria	9
2.1.2 Criterios clínicos de malaria no complicada	9
2.1.3 Criterios clínicos de malaria complicada	10
2.2 Criterios epidemiológicos	11
2.3 Criterios por el laboratorio	12
2.3.1 Indicaciones para realizar la toma de muestra para el diagnóstico de malaria	12
2.3.2 Diagnóstico microscópico	12
2.3.3 Diagnóstico de malaria utilizando pruebas rápidas	25
3. SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DEL DIAGNÓSTICO DE MALARIA	31
3.1 Marco legal	31
3.2 Definición	31
3.3 Actividades del ACDM	31
3.3.1 Entrenamiento	31
3.3.2 Evaluación del Desempeño	32
3.3.2.1 <i>Evaluación Externa Indirecta del Desempeño</i>	32
3.3.2.2 <i>Programa de Evaluación Externa del Desempeño</i>	33
3.3.2.3 <i>Evaluación del Desempeño mediante paneles de láminas</i>	34
3.3.3 Supervisión	35
3.3.4 Asistencia Técnica.....	35
3.3.5 Referencia	35
3.3.6 Control de calidad interno.....	35
3.3.7 Seguimiento de las actividades del ACDM.....	36
ANEXOS	37

Lista de Figuras

- Figura 1. Síntomas de la malaria no complicada.
- Figura 2. Estadios asexuados y sexuados en sangre periférica de *Plasmodium spp.*
- Figura 3. Indicaciones para elaborar la gota gruesa
- Figura 4. Elaboración de extendido de sangre periférica
- Figura 5. Gota gruesa coloreada con Romanowsky modificado. Se señala un grupo de plaquetas..
- Figura 6. Indicación para la revisión de una gota gruesa
- Figura 7. Estructura parasitaria
- Figura 8. Multiparasitismo en *P. falciparum*
- Figura 9. Identificación de las granulaciones de Shüffner para *P. vivax* en un extendido (izquierda) y en una gota gruesa (derecha).
- Figura 10. Indicación para realizar el recuento en el campo microscópico.
- Figura 11. Diseño general de una PDR para la detección de antígenos de *Plasmodium*.
- Figura 12. Diferentes presentaciones de las PDR.
- Figura 13. Interpretación de una PDR de acuerdo con el diseño de la figura 11
- Figura 14. Algoritmo de atención del paciente con malaria mediante PDR

Lista de tablas

- Tabla 1. Resumen de signos y síntomas de paciente con malaria complicada.
- Tabla 2. Parámetros de coloración en la observación microscópica de la gota gruesa.
- Tabla 3. Principales errores en la coloración de la gota gruesa
- Tabla 4. Características del citoplasma de las especies parasitarias.
- Tabla 5. Resumen de antígenos blanco de las PDR.
- Tabla 6. Ventajas y desventajas de las PDR
- Tabla 7. Niveles y requisitos para los Microscopistas Sénior
- Tabla 8. Requisitos para los Microscopistas Junior.

Lista de Anexos

- Anexo 1. Principios básicos de bioseguridad
- Anexo 2. Formulación de las soluciones que componen la coloración de Romanowsky modificado
- Anexo 3. Coloración de Walker
- Anexo 4. Cuidados del microscopio
- Anexo 5. Células sanguíneas
- Anexo 6. Morfología de *P. falciparum* en sangre periférica
- Anexo 7. Morfología de *P. vivax* en sangre periférica
- Anexo 8. Morfología de *P. malariae* en sangre periférica
- Anexo 9. Morfología de *P. ovale* en sangre periférica
- Anexo 10. Posibles artefactos en el examen microscópico de malaria
- Anexo 11. Recuento en extendido de sangre periférica
- Anexo 12. Registro de control de temperatura y humedad para el lugar de almacenamiento
- Anexo 13. Esquema de tratamiento malaria no complicada
- Anexo 14. Formato de la Evaluación Externa Indirecta del Desempeño
- Anexo 15. Formato de respuesta de la Evaluación Externa Directa el Desempeño
- Anexo 16. Ficha de supervisión de rutina a puestos de microscopía
- Anexo 17. Instructivo de la ficha de supervisión y lista de chequeo puestos de microscopía
- Anexo 18. Ficha de supervisión puestos de diagnóstico y tratamiento con PDR
- Anexo 19. Instructivo de la ficha de supervisión y lista de chequeo para la dotación mínima de un puesto de diagnóstico de malaria por Pruebas de Diagnóstico Rápido- PDR
- Anexo 20. Informe de exámenes por puesto de diagnóstico e instructivo

Agradecimientos

El Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento es producto de la colaboración entre el Fondo Financiero de Proyectos de Desarrollo-FONADE, Instituto Nacional de Salud, Fundación Universidad de Antioquia, Secretaría de Salud del Amazonas, y Secretaría Seccional de Salud y protección Social de Antioquia.

Se agradece a las siguientes personas quienes colaboraron con sus aportes, se incluyen en orden alfabético por institución:

Fondo Financiero de Proyectos de Desarrollo:

Alejandro Echavarría. Consultor Sistema Gestión de la Calidad del Diagnóstico de Malaria, departamento de Antioquia.

Fe del Carmen Nagles. Consultora Sistema de Gestión de la Calidad, departamento de Chocó.

Ginna Esmeralda Hernández-Neuta. Consultora de Monitoreo y Evaluación

Nohora Marcela Mendoza Lozano. Consultora Sistema de Gestión de la Calidad, Instituto Nacional de Salud.

Fundación Universidad de Antioquia:

Ligia del Pilar Pérez. Coordinadora Proyecto Malaria Colombia, departamento de Córdoba.

Instituto Nacional de Salud:

Liliana Jazmín Cortés. Laboratorio de Parasitología. Dirección en Investigación en Salud Pública.

Lynda Patricia Prieto Navarrera. Subdirectora gestión de Calidad de los Laboratorios de Salud Pública. Dirección de Redes de Salud Pública

Nohora Elizabeth González Beltrán. Referente Malaria. Laboratorio de Parasitología. Dirección de Redes de Salud Pública.

Secretaría de Salud del Amazonas:

Melissa Ríos Montenegro. Referente Programa Malaria. Laboratorio Departamental de Salud del Amazonas.

Secretaría Seccional de Salud y protección Social de Antioquia:

Carlos López Henao. Auxiliar Administrativo en Salud. Laboratorio Departamental de Salud Pública de Antioquia.

Jhojan Lujan. Referente Programa Malaria. Laboratorio Departamental de Salud Pública de Antioquia.

Luz Elena Castrillón Upegui. Profesional Universitario Laboratorio Departamental de Salud Pública de Antioquia.

Fotografías de la portada:

Proyecto Malaria Octava Ronda Fondo Mundial

Abreviaciones

ACDM:	Aseguramiento de la Calidad del Diagnóstico de Malaria
CQ:	Cloroquina
EEID:	Evaluación Externa Indirecta del Desempeño.
INS:	Instituto Nacional de Salud.
LAMP:	Amplificación isotérmica de Ácido Desoxirribonucleico- ADN mediada por bucles.
m.s.n.m:	Metros Sobre el Nivel del Mar
NCL:	Normas de Competencia Laboral.
PD:	Puesto de diagnóstico
PDR:	Prueba de Diagnóstico Rápido.
PEED:	Programa de Evaluación Externa Directa
PQ:	Primaquina
PR:	Personal Responsable
SENA:	Servicio Nacional de Aprendizaje.
SIVIGILA:	Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública.

Introducción

El presente manual es una herramienta que suministra los conocimientos básicos que se deben tener presente para realizar el diagnóstico de malaria de manera estandarizada , con dispensación adecuada y oportuna del tratamiento en los puestos de diagnóstico de malaria que atienden pacientes con malaria no complicada en el nivel municipal del país.

La confirmación parasitaria de los casos de malaria es un lineamiento que se debe cumplir con rigurosidad debido a que permite medicar adecuadamente a los pacientes, brindando información para realizar acciones de vigilancia y control de la enfermedad.

El manual tiene como objetivo ser un texto de consulta, el cual expone de manera concreta y sencilla los aspectos necesarios para realizar un diagnóstico de malaria de buena calidad y suministro de tratamiento en los puestos de malaria para tales fines en el nivel municipal. Los contenidos pretenden mejorar la calidad del diagnóstico parasitario bien sea realizado por microscopía o mediante pruebas de diagnóstico rápido –PDR, y en general busca fortalecer la atención al paciente con malaria no complicada. Adicionalmente, expone las actividades del Sistema de Gestión de la Calidad del Diagnóstico que se deben aplicar en el nivel municipal.

Los usuarios de este manual son:

- Microscopistas encargados del diagnóstico y tratamiento de malaria.
- Personal responsable de realizar diagnóstico de malaria mediante PDR, entre los que se pueden incluir auxiliares de enfermería, agentes de salud pública, líderes comunitarios capacitados.
- Bacteriólogos encargados de realizar el diagnóstico de malaria en Hospitales, Clínicas o Puestos de Salud.
- Docentes de instituciones formadoras de profesionales, técnicos, tecnólogos o auxiliares en el área de salud.

1

PUESTO DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE MALARIA

La transmisión de malaria en Colombia se da generalmente en zona rural y por debajo de los 1.800 m.s.n.m., sin embargo la cobertura de la red de atención por parte del sistema de salud en estas zonas es muy débil o inexistente. Por lo anterior, las entidades territoriales cuentan con puestos de diagnóstico para atender los casos de malaria no complicada. Las principales actividades que se realizan en estos puestos para la atención de la malaria son: diagnóstico, tratamiento y notificación.

El personal que atiende estos puestos de diagnóstico y tratamiento de malaria generalmente es personal no profesional de la salud, al cual le han delegado estas actividades en las áreas rurales de los municipios endémicos para esta enfermedad. Este personal debe ser capacitado y fortalecido periódicamente para garantizar la buena aplicación de sus conocimientos.

La malaria es una enfermedad ocasionada por un parásito del género *Plasmodium* el cual es transmitido por la hembra del mosquito *Anopheles* que a su vez ha sido infectada al alimentarse con sangre de un paciente con gametocitos. La sintomatología de la malaria no complicada se presenta en el numeral 2.1.2.

Existen cinco especies que ocasionan la enfermedad *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi*. Las tres primeras especies ocasionan malaria en Colombia, sobre *P. ovale* se considera que no hay transmisión en el país y sobre *P. knowlesi* se ha reportado transmisión en el continente asiático.

Además de la transmisión por el vector, el *Plasmodium* también se puede transmitir mediante transfusiones sanguíneas, contaminación accidental con elementos cortopunzantes con sangre infectada o por vía congénita.

Para profundizar en las actividades de diagnóstico y esquemas de tratamiento es necesario consultar el capítulo número 2 de este manual y para las actividades del Aseguramiento de la Calidad del Diagnóstico-ACD el capítulo número 3. Por otra parte, la notificación de los casos de malaria no complicada, es la tercera actividad que se desarrolla en estos puestos y debe realizarse de forma adecuada por lo que el personal debe ser entrenado en este tema. A continuación se presentan algunas definiciones de interés para este fin que han sido tomadas del protocolo para vigilancia en salud pública para la malaria:

- 1. Caso confirmado por laboratorio:** paciente con episodio febril ($>37,5^{\circ}$ C) actual o reciente (hasta 2 semanas previas) y procedente de área endémica de malaria en los últimos 15 días, cuya enfermedad se confirme por la identificación de especies de *Plasmodium* mediante examen parasitológico.
- 2. Caso recrudesciente:** paciente con diagnóstico confirmado de malaria que haya recibido tratamiento y regrese con síntomas y presencia de formas asexuadas en gota gruesa en los 30 días siguientes a la fecha en que inició el tratamiento.
- 3. Caso nuevo:** paciente con diagnóstico confirmado de malaria que no tenga antecedentes de haber presentado un episodio malárico en los 30 días anteriores a la fecha de su diagnóstico actual (1).

Se tiene otra definición de interés que es la recaída y hace referencia a que un paciente se presente nuevamente con síntomas de malaria y parásitos en circulación ocasionado por los hipnozoitos (forma hepáticas latentes) por lo que solamente se presenta en malaria por *P. vivax* y *P. ovale*. Generalmente, se presenta después de 30 días de haber tenido el anterior episodio y haber sido tratado. En zona endémica con transmisión de estas especies es difícil diferenciar entre una recaída y una reinfección. La reinfección es la presentación de un nuevo caso de malaria debido a la picadura de un vector infectado.

Todos los casos de malaria no complicada se reportan mediante la ficha de notificación nacional de datos básicos para malaria la cual se actualiza anualmente o cuando exista la necesidad. La ficha de notificación se encuentra en la página web del Instituto Nacional de Salud- INS, utilizando la siguiente ruta: Líneas de acción, Vigilancia y análisis del riesgo en salud pública, Sistema Nacional de Vigilancia Siviigila, documentación, fichas de notificación y malaria. El vínculo actual es: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/siviigila/Fichas%20de%20Notificacin%20SIVIGILA/MALARIA.pdf>

Todos los puestos de diagnóstico y tratamiento de malaria deben contar con la ficha de notificación para recolectar la información de interés en la vigilancia epidemiológica del evento. De manera que es necesario registrar las variables que solicita la ficha de todos los pacientes que acuden para el diagnóstico de esta enfermedad. Cuando el puesto no cuente con la ficha de notificación puede ingresar a la página del INS y proceder a imprimirla para realizar esta actividad de obligatorio cumplimiento. No se debe olvidar que la información del paciente es confidencial.

La frecuencia de notificación de los casos confirmados es semanal de conformidad con la estructura y contenidos mínimos establecidos en el subsistema de información para la vigilancia de los eventos de interés en salud pública en la Ficha de notificación nacional datos básicos para malaria.

2.

DIAGNÓSTICO DE LA MALARIA

El diagnóstico de la malaria no complicada es de especial importancia para evitar los casos de malaria complicada, por lo tanto se debe dar de forma oportuna y adecuada. El diagnóstico de la malaria se realiza teniendo presente tres tipos de criterios, los cuales siempre se deben analizar en asociación:

- Clínicos
- Epidemiológicos
- Laboratorio

2.1 Criterios clínicos de la malaria

El personal encargado del diagnóstico en los puestos de microscopía tiene la responsabilidad de evaluar los criterios clínicos de cada uno de los pacientes. Este aspecto se realiza mediante indagación. Dichos criterios se deben tener presentes ya que en asociación con los criterios epidemiológicos y por el laboratorio conforman un caso de malaria. A continuación se presentarán los criterios de malaria no complicada y complicada.

En los lugares en donde existe atención médica como en los Hospitales o Puestos de Salud es responsabilidad de estos profesionales hacer la evaluación clínica del paciente.

2.1.2 Criterios clínicos de malaria no complicada:

El ataque agudo de la malaria tiene manifestaciones clínicas que se conocen como la triada clásica que consiste en escalofrío, fiebre y sudoración. Los picos febriles pueden variar dependiendo de la especie parasitaria infectante. Para *P. vivax* y *P. falciparum* usualmente el pico febril se presenta cada tres días, por lo que la infección se denomina malaria terciaria benigna en el caso de *P. vivax* que generalmente no presenta complicaciones en el paciente y malaria terciaria maligna para la infección por *P. falciparum* que puede llegar a tener un cuadro clínico con complicaciones. En el caso de *P. malariae* la infección se denomina cuartana benigna por que los picos febriles ocurre cada cuatro días.

La malaria no complicada puede estar acompañada de otros síntomas como dolor de cabeza, dolor muscular, dolor en las articulaciones, malestar general, debilidad, fatiga (cansancio extremo), náusea y diarrea.

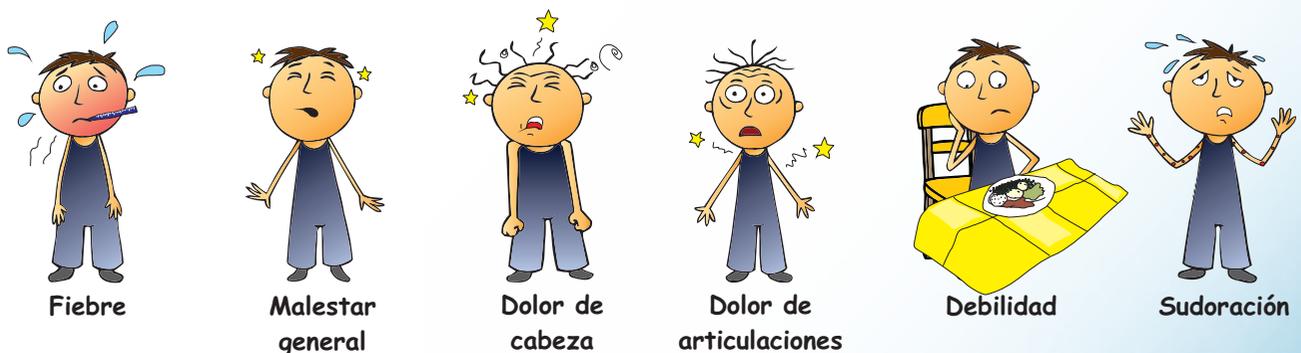


Figura 1. Síntomas de la malaria no complicada: paciente con fiebre, escalofrío, sudoración, dolor de cabeza, dolor muscular, dolor articulaciones, náuseas

Los pacientes con signos y síntomas de peligro de tener malaria complicada deben ser remitidos a una institución de salud que cuente con atención médica (Hospital o Clínica). Por lo tanto, es necesario conocer los signos y síntomas de peligro:

Signo: es la manifestación clínica que es medida.

Síntoma: es la manifestación clínica que relata el paciente y que no es cuantificada o no es medida.

Se presenta un ejemplo para ilustrar esta idea: Si el paciente relata que ha tenido fiebre es un síntoma, pero si se le toma la temperatura al paciente con un termómetro y se evidencia una temperatura $> 37.5^{\circ}\text{C}$ es un signo.

2.1.3 Criterios clínicos de malaria complicada

Tipo signos o síntomas	Manifestación
Neurológicos	Incapacidad para ponerse de pie, sentarse, caminar, beber o lactar. Confusión mental Letargia: sueño profundo (se despierta habla pero olvida lo hablado) Inconsciencia Irritable (Agresivo)
Pulmonar	Signos de dificultad respiratoria: Alteración del patrón respiratorio (Aleteo nasal, retracciones subcostales, alargamiento de la excursión respiratoria, tos). Taquipnea: frecuencia respiratoria elevada para la edad: >60 respiraciones/minuto en neonatos >50 respiraciones/minuto en niños de 11 meses >40 respiraciones/minuto en niños de 4 años. >24 respiraciones/minuto en mayores de 5 años y adultos.
Variaciones extremas en la temperatura corporal	Hiperpirexia: fiebre muy alta. Temperatura axilar $\geq 39,5^{\circ}\text{C}$, temperatura rectal $\geq 40,5^{\circ}\text{C}$ Hipotermia: Temperatura corporal muy baja. Temperatura axilar $\leq 35,5^{\circ}\text{C}$, temperatura rectal $\leq 36,5^{\circ}\text{C}$
Trastornos gastrointestinales	Vómito a repetición 5 o más episodios en las últimas 24 horas. Diarrea a repetición 5 o más episodios en las últimas 24 horas.
Deshidratación grave	Ojos hundidos Llora sin lágrimas Pérdida de turgencia de piel (signo de pliegue abdominal positivo: más de 2 segundos) Alteración en la eliminación urinaria (eliminación escasa de orina o ausencia total de orina: oliguria o anuria) Orina muy oscura Llenado capilar lento: Llenado capilar en lecho ungueal: 3 o más segundos

Tipo signos o síntomas	Manifestación
Signos en piel y mucosas	<p>Sangrado espontáneo Sangrado espontáneo en mucosas (boca, encías, nariz), tracto digestivo (vómito con sangre) o piel (puntos rojos –petequias- o moretones –equimosis-).</p> <p>Palidez intensa Palidez intensa o definitiva en palmas, conjuntivas o lecho ungueal.</p>
Signos renales	<p>Orina Oscura: Orina roja, café o negra</p>
Signos hepáticos	<p>Orina Oscura: Orina roja, café o negra.</p> <p>Ictericia: Color amarillo en escleras (ojos), mucosas, piel.</p>
Signos parasitológicos	<p>Hiperparasitemia: ≥50.000 formas asexuales/μl. de <i>P. falciparum</i> o en malaria mixta con <i>P. vivax</i>.</p> <p>Esquizontemia: Presencia de uno o más esquizontes de <i>P. falciparum</i> en la gota gruesa.</p> <p>Pigmento malárico: Visualización de pigmento malárico en neutrófilos y monocitos de sangre periférica.</p>
Signos en gestantes (texto informativo para los microscopistas)	<p>Sangrado vaginal</p> <p>Dolor abdominal o pélvico:</p> <p>Dolor súbito intenso, continuo o calambres</p> <p>El feto no se mueve</p> <p>Signos de toxemia o preclampsia: cefalea grave, hinchazón en ojos, cara, manos o pies, visión borrosa, visión de luces intermitentes, dolor torácico derecho o en el dorso superior, presión arterial por encima de 140/90 y niveles altos de proteína en la orina.</p> <p>Signos de parto prematuro: Contracciones dolorosas o indoloras (a menos de 15 minutos de diferencia) Presión pélvica baja Dolor sordo en espalda Pérdida de fluido vaginal dos semanas o más antes de la fecha del parto o aumento o cambio de color del flujo vaginal Cólicos abdominales que pueden aparecer y desaparecer (2)</p>

>: mayor, ≥: mayor o igual.

Tabla 1. Resumen de signos y síntomas de paciente con malaria complicada.

2.2 Criterios epidemiológicos:

Los siguientes son los criterios epidemiológicos a tener en cuenta:

- Antecedentes de exposición, en los últimos 15 días, en áreas con transmisión activa de la enfermedad (ocupación, turismo, desplazamientos, entre otros).
- Nexo epidemiológico (tiempo y lugar) con personas que hayan sufrido malaria.
- Antecedentes de hospitalización y transfusión sanguínea.
- Antecedentes de medicación antimalárica en las últimas cuatro semanas.

2.3 Criterios por el laboratorio:

A todo paciente que se le sospeche malaria se debe realizar el diagnóstico parasitario bien sea mediante el hallazgo del parásito a través de la microscopía o mediante la detección de los antígenos del parásito a través de la prueba rápida.

Es posible realizar el diagnóstico por laboratorio a través de diferentes métodos tales como: el uso de la microscopía, uso de pruebas rápidas y diagnóstico molecular que incluye la reacción en cadena de la polimerasa y amplificación isotérmica de Ácido Desoxirribonucleico- ADN mediada por bucles (LAMP). En Colombia la prueba de referencia para el diagnóstico rutinario de la malaria sigue siendo la gota gruesa.

En esta guía se tratan solamente los métodos de diagnóstico microscópicos (gota gruesa y extendido) y las pruebas de diagnóstico rápido. Para estos dos métodos se han de tener en cuenta las normas de bioseguridad expuestas en el anexo 1.

La gota gruesa es el examen de elección para confirmar o descartar la malaria, debido a que es una muestra concentrada y deshemoglobinizada que permite revisar mayor cantidad de sangre en una pequeña área con muestra, lo que la hace más sensible que el extendido. Pueden existir casos en los cuales el paciente tenga una baja parasitemia y cuente con una gota gruesa positiva y un extendido negativo. El extendido es utilizado principalmente para aclarar dudas de especie o realizar recuentos cuando se presentan altas parasitemias.

2.3.1 Indicaciones para realizar la toma de muestra para el diagnóstico de malaria:

- A todo paciente febril sospechoso de tener malaria, por demanda de atención, búsqueda activa procedente de zona endémica para malaria o que haya recibido recientemente una transfusión sanguínea.
- A todo paciente con sintomatología y con antecedente de pinchazos con jeringa o material contaminado con sangre parasitada.
- A todo paciente remitido para confirmación diagnóstica.
- En zona endémica a toda mujer embarazada con control prenatal trimestralmente, a todo menor de 5 años con enfermedad diarreica aguda, infección respiratoria aguda o anemia grave y a todo recién nacido de madre con malaria.
- A todo paciente con posible recaída o recrudescencia.
- Se realiza examen de gota gruesa a todo paciente con fuerte evidencia epidemiológica de padecer malaria y con gota gruesa negativa inicial o en los pacientes que se han automedicado antes del diagnóstico.
- En zona endémica, a todo donante de sangre.
- En pacientes hospitalizados con malaria complicada se debe monitorear a diario la parasitemia hasta la desaparición de las formas asexuadas (1, 2, 3, 4,).

2.3.2 Diagnóstico microscópico:

Se trata de observar a través del microscopio las formas parasitarias con las características propias de cada especie. Los estadios parasitarios que se pueden observar son los asexuados (trofozoitos y esquizontes) y los sexuados (gametocitos). Ver figura 2.

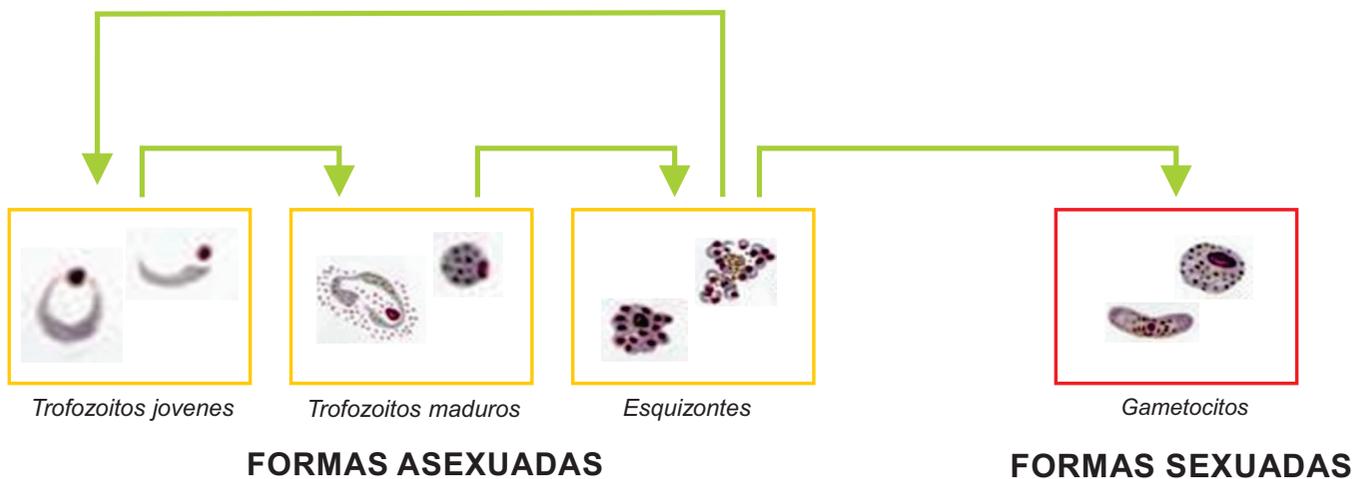


Figura 2. Estadios asexuados y sexuados en sangre periférica de *Plasmodium spp.*

En el diagnóstico microscópico es posible observar las características morfológicas de cada especie y realizar el recuento parasitario. Sin embargo, solamente en el extendido es posible evaluar las características del glóbulo rojo o célula huésped.

2.3.2.1 Toma de muestra y elaboración de muestras

Gota Gruesa:

Procedimiento para la toma de muestra y elaboración de la gota gruesa:

- Antes de proceder a la toma de muestra es necesario alistar la papelería o registros que se lleven en el sitio de atención como pueden ser: registro diario y ficha de notificación, según sea el caso.
- En un sitio limpio, ordenado, un mesón totalmente horizontal y con elementos de bioseguridad haga la toma de muestra.
- En el lugar de toma de muestra se debe contar con láminas portaobjetos nuevas, limpias, esmeriladas y con banda mate, lápiz o marcador de punta fina para marcar la lámina, lancetas estériles, algodón, alcohol, guantes, guardián para desechar material cortopunzante y caneca con bolsa roja. Si las láminas nuevas no las adquirió desengrasadas, puede alistarlas poniéndolas sueltas sumergidas en alcohol antiséptico al 70% por 24 horas, después de lo cual se saca una a una y se secan con un trapo tipo pañal el cual no suelta hilaza. Luego las arregla envueltas en papel craft por paquetes de 10 láminas. Los paquetes a su vez los puede guardar en una caja que tenga bolsas de silica gel. Identifique los paquetes como laminas nuevas desengrasadas.
- Identifique las láminas.
- La toma de muestra idealmente debe hacerse por punción capilar debido que así se obtienen las mejores preparaciones, sin embargo también es posible hacer el montaje de las muestras con sangre tomada a partir de punción venosa utilizando anticoagulante.
- Las posibles zonas para la punción capilar son: el dedo índice o medio de la mano no dominante, en el grueso artejo, o en el lóbulo de la oreja.
- Se desinfecta la zona de punción con alcohol antiséptico.

Procedimiento para la toma de muestra y elaboración de la gota gruesa:

- La punción se hace de manera firme y segura.
- Se hace presión y se limpia la primera gota de sangre. Se empieza a trabajar a partir de la segunda gota de sangre presionando hasta obtener una gota grande y globosa. Se coloca la lámina por encima de la gota de sangre evitando tocar la incisión hecha con la lanceta.
- Es importante poder elaborar dos láminas por paciente siguiendo el esquema que se muestra en la figura 3 (4).
- Ayudado con otra lámina portaobjeto se extiende de manera adecuada la muestra de sangre logrando un área aproximada de 1 cm x 1 cm o de 1 cm x 1,5 cm. Ver figura 3. La muestra debe quedar homogénea (para lo cual siempre se recomienda hacer movimientos de vaivén). Se reconoce que la concentración de la muestra es adecuada porque al extender la sangre debe ser suficiente para cubrir el área, es decir, no debe ser tan escasa que quedan zonas sin sangre o por el contrario con exceso de muestra de tal forma que después de homogeneizar sigue existiendo movimiento de la sangre.
- Una vez elaboradas las gotas gruesas se dejan secar a temperatura ambiente por 20 minutos, en un mesón horizontal y ordenado. Se debe proteger de los insectos cuando sea necesario.
- Con las muestras elaboradas a partir de sangre anticoagulada es necesario tener un especial cuidado en el secado, debido a que tienden a irse o lavarse durante el procedimiento de coloración. Por lo tanto, se recomienda que después de secar la muestra a temperatura ambiente, la lámina sea sometida a calor suave (37 °C) por un tiempo de 1 minuto y posteriormente dejarla enfriar muy bien para posteriormente proceder a colorearla. No exceder el tiempo que se somete la muestra a calor debido a que la sangre se fija a la lámina y posteriormente no es posible deshemoglobinizar la gota gruesa (4).
- Para finalizar la toma de muestra del paciente se limpia con algodón embebido en alcohol en el sitio de punción para finalmente colocar una torunda de algodón seca en esta zona. Pídale al paciente que sostenga el algodón en esta posición haciendo ligera presión.
- Para evitar la contaminación cruzada entre muestras de pacientes, se recomienda limpiar con alcohol las láminas que se utilizaron para extender las gotas gruesas y el extendido entre un paciente y otro. Es importante dejar secar el alcohol.

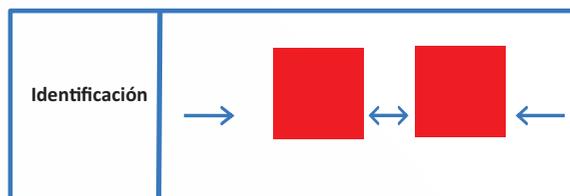


Figura 3. Indicaciones para elaborar la gota gruesa

Extendido:**Procedimiento para la toma de muestra y elaboración del extendido:**

- A partir de la punción capilar como se indicó para la gota gruesa o a partir de sangre anticoagulada se toma una gota pequeña para elaborar el extendido.
- El extendido idealmente se realiza en una lámina portaobjetos diferente a la de la gota gruesa, esto se debe a que en el caso específico de Colombia es adecuado contar con dos gotas gruesas en una misma lámina para dar mayor probabilidad de detectar las bajas parasitemias. Por otra parte, el extendido difiere en el proceso de coloración al requerir metanol para su fijación y no es indicado que el alcohol toque la gota gruesa.
- La gota de sangre que se utiliza para realizar el extendido es mucho más pequeña que la utilizada para la gota gruesa (1 μ L aproximadamente) y se coloca hacia un lado de la lámina y con la ayuda de otro portaobjeto de borde biselado se procede a extender la muestra.
- La lámina en la que coloca la gota de sangre debe ser tomada de los extremos evitando colocar los dedos en los bordes que dan el largo de la lámina para que la lámina extensora tenga un libre deslizamiento.
- Se debe considerar que la gota de sangre tiene una parte anterior y otra posterior con respecto a la posición de la identificación de la lámina, entonces se coloca la lámina extensora en la parte anterior de la gota con una inclinación aproximada de 45° y por capilaridad se deja extender la gota de sangre en el borde de la lámina extensora y antes de que la sangre llegue a los bordes de la lámina se desliza la extensora hacia adelante, ver la figura 4.
- Para finalizar la toma de muestra del paciente se limpia con algodón embebido en alcohol en el sitio de punción para finalmente colocar una torunda de algodón seca en esta zona. Pídale al paciente que sostenga el algodón en esta posición haciendo ligera presión.

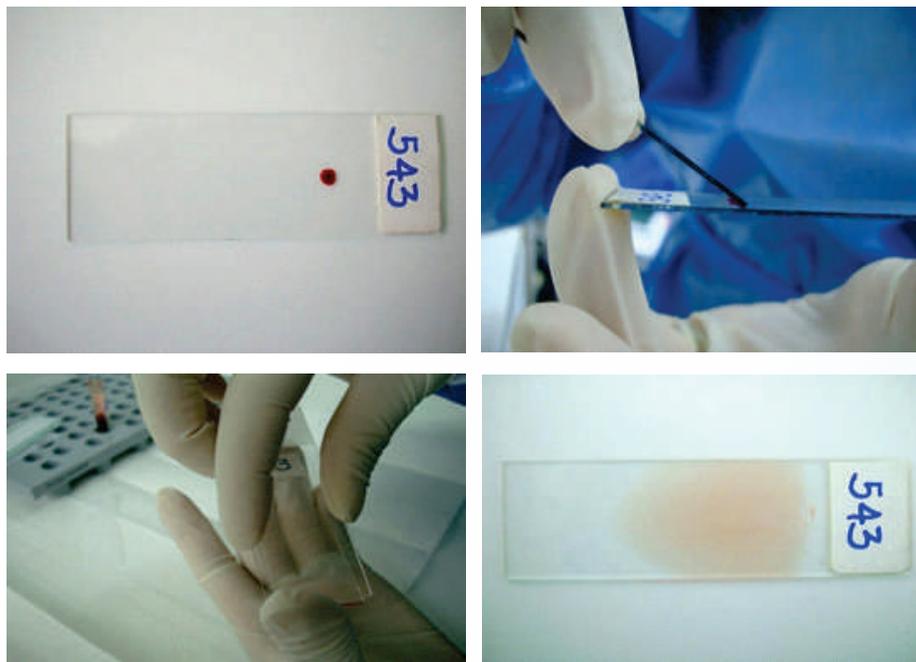


Figura 4. Elaboración de extendido de sangre periférica. Fuente Grupo de Parasitología del INS.

2.3.2.2 Coloración

El propósito de la coloración es permitir la identificación de las estructuras parasitarias (núcleo, citoplasma y pigmento malárico). Las coloraciones derivadas de Romanowsky son las utilizadas para visualizar este tipo de estructuras, entre las que se incluyen la coloración de Field, Giemsa, Wright y Romanowsky modificado. Esta última se utiliza en Colombia en los puestos de microscopía debido a que es una coloración estable y no absorbe la humedad del ambiente, por ser una solución acuosa, lo que la hace adecuada para los climas tropicales cálidos y húmedos.

Coloración de Romanowsky modificada

Esta coloración se aplica a la gota gruesa. La coloración de Romanowsky modificada está compuesta por cuatro soluciones:

1. Azul de metileno fosfatado: utilizado para la precoloración
2. Solución A de Romanowsky modificado: tiñe el citoplasma de azul.
3. Solución B de Romanowsky modificado: tiñe el núcleo de rojo.
4. Solución fosfatada o buffer: es el diluyente de la solución de coloración y consiste en una solución fosfatada de pH: 7,2 la cual permite observar las estructuras celulares y los tonos de la coloración apropiadamente.

El Romanowsky modificado al igual que el Giemsa o Wright es posible encontrarlos preparados comercialmente, sin embargo se expone la formulación de la soluciones de Romanowsky modificado en el anexo 2. (4)

Procedimiento de la coloración Romanowsky modificada

- Para este procedimiento aliste: Lámina cóncava, papel absorbente, soporte para coloración, tubo graduado o jeringa que mida 3 mL o la cantidad requerida de buffer según necesidad, solución A y solución B, buffer, azul de metileno fosfatado, timer, gradilla para colocar los tubos medidores.
- *Precoloración:* el azul de metileno se sirve en un frasco de boca ancha con tapa para reducir la contaminación del medio ambiente. Las láminas se introducen por un tiempo no mayor a tres segundos para permitir la deshemoglobi-nización de los glóbulos rojos y mejorar los resultados de los contrastes en la coloración de las muestras. Retire el exceso de azul de metileno escurriendo en un papel absorbente.
- *Enjuague:* se realiza un enjuague por inmersión en buffer fosfato (un segundo). Escurra en un papel absorbente y coloque la lámina en la lámina cóncava nuevamente con la muestra hacia la concavidad mientras prepara la solución de coloración.
- *Coloración:* la coloración permite obtener los contrastes y tonos de color esperados para la identificación parasitaria. La solución de trabajo se debe preparar inmediatamente antes de colorear la gota gruesa. Para cada lámina que se requiere colorear, se miden 3 mL de solución fosfatada a la cual se adiciona una gota de solución A y una de solución B (en su orden). Se sirve en un tubo con tapa rosca y se mezcla por inversión suavemente. El tiempo de coloración es aproximadamente de 10 minutos, pero este se determina en el proceso de estandarización debido a que el mismo puede variar de acuerdo con el cambio de lotes de los componentes de la coloración.
- *Enjuague:* Este enjuague es opcional, si nota que la lámina está libre de excesos de coloración omita este paso y deje escurrir directamente en el soporte o en posición inclinada. Realice un enjuague por inmersión en buffer fosfato (un segundo) y deje escurrir en un soporte para tal fin.

Cuidados en la coloración:

- Cuando note que el azul de metileno tiene contaminación, fíltrelo. Lo anterior es válido cuando el volumen de trabajo es bajo, pero cuando el volumen de trabajo es alto y se observa contaminación es mejor cambiar el azul de metileno fosfatado utilizando para su uso un frasco limpio.
- El azul de metileno fosfatado debe estar almacenado en un recipiente protegido de la luz.
- Se deben utilizar goteros que dispensen gotas del mismo tamaño y que además impidan el paso de la luz para evitar que los colorantes pierdan potencia.
- Ante la presencia de precipitado se debe filtrar la solución afectada.
- Rotule todos los envases de los componentes de la coloración.
- Siempre lave la lámina cóncava después de su uso. Al final del día límpiela con un algodón o gaza impregnada de alcohol y enjuague con agua de chorro. Deje secar.

Cuando existe la necesidad de colorear una gota gruesa en un laboratorio clínico y no se dispone de la coloración de Romanowsky modificada, se procede a utilizar el método de Walker que consiste en el uso del Giemsa como colorante o en su defecto la gota gruesa también puede ser coloreada con colorante de Wright en la misma proporción que se indica con el Giemsa. Ver anexo 3.

Estandarización de la coloración

La estandarización de la coloración es parte del control de calidad interno que se debe realizar para garantizar coloraciones óptimas y se realiza cuando se cambia de lote en uno de los componentes de la coloración. El proceso se puede hacer con sangre negativa debido a que el tiempo indicado lo dan las plaquetas. Por lo tanto, se procede a realizar 3 o 4 gotas gruesas negativas, las cuales se secan y se colorean. Por ejemplo, si el tiempo con el que se estaba trabajando era de 10 minutos, se puede aplicar la siguiente serie de tiempos para las cuatro gotas gruesas elaboradas: 8, 10, 12 y 14 minutos. La coloración será aquella en la cual las plaquetas se observen bien teñidas, pero que se observen “coposas o esponjosas”, es decir, con un fino punteado y en ocasiones se pueden observar sus prolongaciones. Ver figura 5. La coloración que aún no tiene el tiempo indicado se evidencia con la presencia de plaquetas teñidas pero con aspecto liso. Se ha de tener precaución con la presencia de precipitado el cual es un factor indeseable.

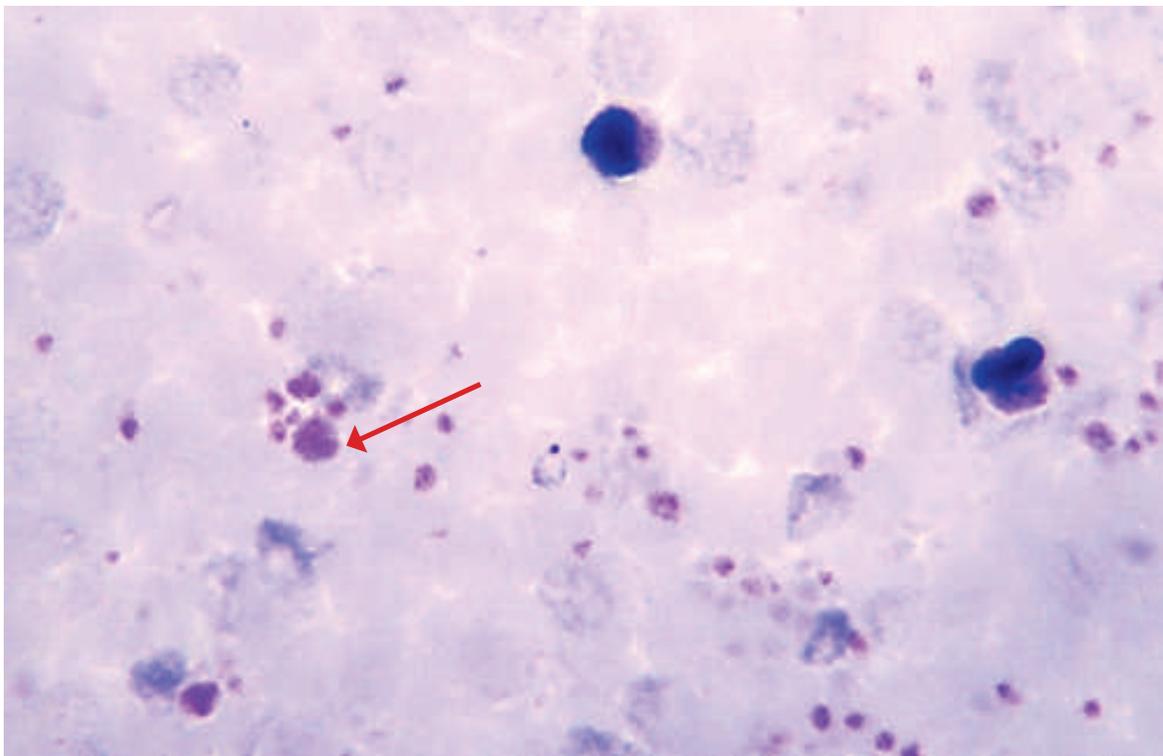


Figura 5. Gota gruesa coloreada con Romanowsky modificado. Se señala un grupo de plaquetas. Fuente Grupo de Parasitología del INS.

La siguiente tabla es una guía de los colores que se visualizan en una gota gruesa cuando la muestra ha sido teñida de manera adecuada con los colorantes derivados de Romanowsky:

Elemento o aspecto teñido	Color esperado
Fondo de la muestra. Efecto de la deshemoglobinización de los glóbulos rojos	Azul pálido.
Reticulocitos	Mallas azules.
Plaquetas	Rosado fuerte a violeta con ligero punteado.
Neutrófilo	Citoplasma rosado con finas granulaciones rosadas o azules a violeta. Núcleo azul o violeta lobulado.
Linfocitos	Citoplasma azul pálido. Núcleo azul o violeta no segmentado.
Monocito	Citoplasma azul ceniza. Núcleo azul ceniza no segmentado, arriñonado.
Eosinófilo	Está cubierto por granulaciones gruesas color naranja cobrizo. Núcleo azul o violeta lobulado.
Basófilo	Cubierto por granulaciones gruesas de color azul oscuro. Núcleo azul violeta lobulado.
Núcleo o cromatina de los parásitos	Roja o violeta
Citoplasma parasitario	Azul
Pigmento malárico	Ubicado en el citoplasma del parásito, presenta color amarillo pálido a café oscuro

Tabla 2. Parámetros de color esperados en la observación microscópica de la gota gruesa

- Se enjuaga con agua destilada o solución tamponada.
- Se deja secar a temperatura ambiente en un soporte para este fin.

Problema / Causa	Tiempo utilizado	Grosor de la muestra	Buffer	Otro
Coloración básica (azul)	Prolongado	Gruesa	Buffer alcalino o falta de buffer	-
Coloración ácida (rosada)	Insuficiente	Escasa. Muestra delgada.	Buffer ácido o falta de buffer	-
Precipitado	Prolongado con consecuente secado del colorante en la muestra	-	-	Portaobjeto o lámina cóncava sucia
Contaminación	-	-	Uso de agua corriente o depositada en reemplazo del buffer.	No tapar envases de los colorantes y solución fosfatada inmediatamente después de su uso. No contar con recipientes limpios para hacer la dilución de la solución colorante.

Tabla 3. Principales errores en la coloración de la gota gruesa (4).

Problemas más frecuentes de la coloración

Los siguientes son los problemas más frecuentes de la coloración y sus causas:

Coloración para extendidos de sangre periférica:

Cuando se requiere colorear un extendido de sangre periférica y solamente se cuenta con Romanowsky modificado, el extendido se debe fijar con metanol (no debe precolorear) y con la misma solución de trabajo utilizada para colorear la gota gruesa se procede a colorear el extendido, solamente se debe tener presente que al igual que en la gota gruesa el tiempo se debe estandarizar y generalmente es muy superior al de la gota gruesa. Sin embargo, los laboratorios clínicos generalmente utilizan la coloración de Wright o Giemsa. A continuación se explica brevemente el procedimiento de la coloración de Wright:

- Se cubre el extendido con solución de Wright
- Se deja actuar por el tiempo estandarizado que generalmente es de 3 minutos.
- Posteriormente, se adicionan unas gotas de agua destilada o solución tamponada con cuidado sobre el colorante.
- Con una pipeta se procede a soplar hasta que se genera un brillo metálico verdoso en la superficie del colorante.
- Se deja actuar la coloración por 7 minutos.

2.3.2.3 Examen microscópico de la muestra

Cuando no se tiene la suficiente experiencia para enfocar en objetivo de 100 x, es adecuado que el microscopista empiece a enfocar la muestra desde los objetivos de menor aumento los cuales no requieren aceite de inmersión para observar la imagen. Por lo tanto, se enfoca en objetivo de 10 x y se utiliza el botón macrométrico hasta encontrar la imagen, posteriormente se ajusta el foco con el botón micrométrico. La luz se debe ajustar teniendo el diafragma del condensador un poco abierto (debe tener poca luz cuando use objetivo de 10x). Posteriormente, se enfoca con el objetivo de 40x, en donde solo debería utilizar el botón micrométrico para darle enfoque a la imagen y debe abrir un poco el diafragma para permitir mayor paso de la luz. Se procede a adicionar una gota de aceite de inmersión y se pasa al objetivo de 100x, en donde solamente se ajusta la imagen utilizando el botón del micrométrico y se abre totalmente el diafragma del condensador.

Es importante tener presente los cuidados básicos del microscopio que se encuentran en el anexo 4.

La lectura de la muestra se empieza a realizar en donde se observe un número adecuado de células sanguíneas, teóricamente se deben observar entre 10 a 20 leucocitos, sin embargo algunos pacientes con bajo recuento de leucocitos pudiendo tener menos glóbulos blanco por campo.

Para iniciar la búsqueda de formas parasitarias, se mueve el carro del microscopio buscando los campos adyacentes hasta llegar al extremo de la muestra, en donde se mueve el carro de manera lateral para devolverse por una línea paralela a la ya observada. Es semejante a un movimiento de zigzag. Ver la figura 6(4):

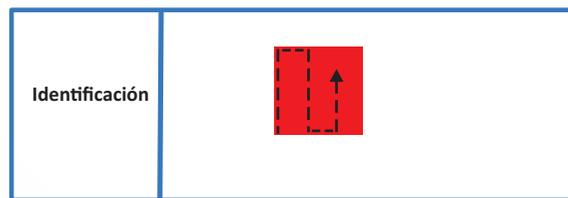


Figura 6. Indicación para la revisión de una gota gruesa.

Idealmente, el lector debe procurar leer las dos gotas de la lámina para aumentar la posibilidad de encontrar parásitos en los casos de bajas parasitemias. Sin embargo, si al observar un mínimo de 200 campos microscópicos en objetivo de 100 x y no encontrar formas parasitarias se considera que la muestra es negativa.

2.3.2.3 Identificación parasitaria

Los siguientes son los requisitos técnicos para lograr una adecuada visualización del parásito:

- Capacitación del microscopista.
- Disponer de un microscopio binocular con objetivo de inmersión, plano acromático y con filtro de luz azul, el cual cuente con mantenimiento preventivo y correctivo.
- Control de calidad interno: tiempos de coloración, registro de cambios de componentes de la coloración (colorantes y buffer).

Para realizar una adecuada identificación parasitaria, se deben conocer las células sanguíneas, ver anexo 5, como también reconocer las estructuras del parásito. El parásito que ocasiona la malaria tiene: núcleo, citoplasma y según sea el estadio puede o no tener pigmento malárico y vacuola, ver figura 7.

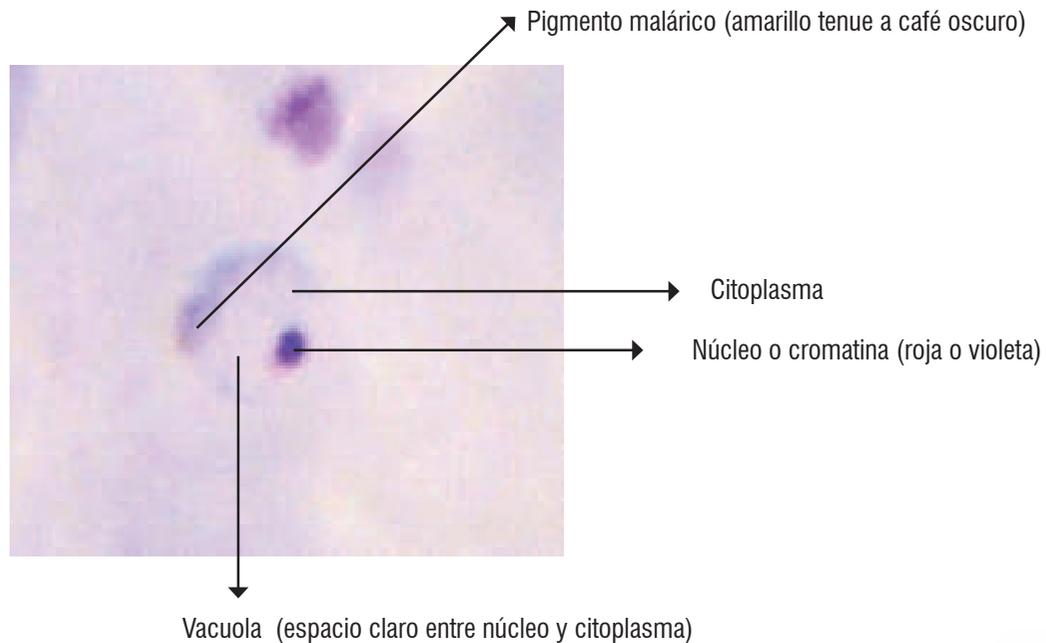


Figura 7. Estructuras parasitarias. Fuente Grupo de Parasitología del INS.

En cuanto a la morfología parasitaria es posible establecer generalidades así:

- El parásito más pequeño y de aspecto regular es el *P. falciparum*
- El multiparasitismo (la presencia de más de un parásito en un glóbulo rojo) es más frecuente en *P. falciparum*, ver figura 8.

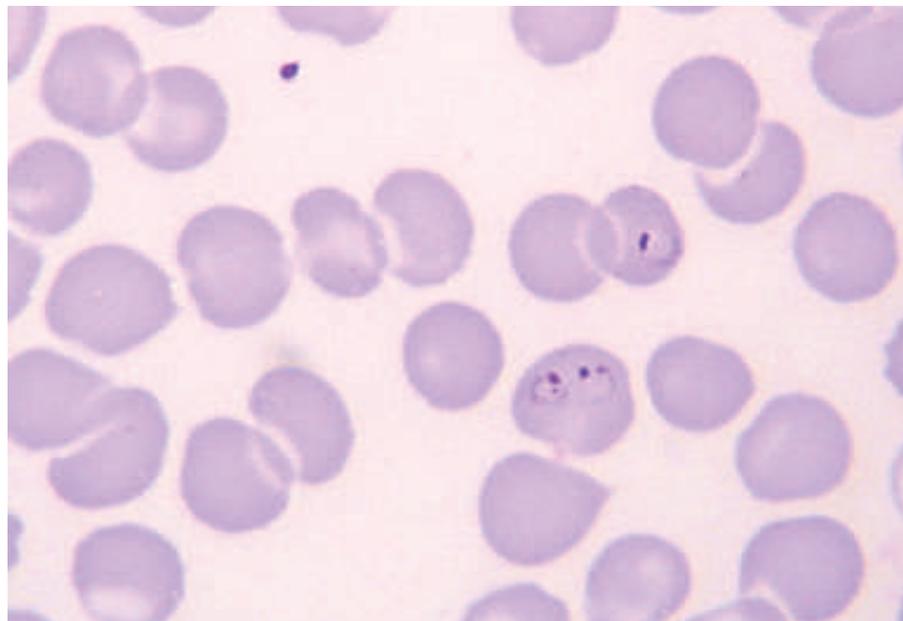


Figura 8. Multiparasitismo en *P. falciparum*. Fuente Grupo de Parasitología del INS.

- El doble punto de cromatina es más frecuente en *P. falciparum*.
- En todas las especies es posible ver concomitantemente tanto formas asexuadas como sexuadas, sin embargo en *P. falciparum* existe un tiempo de 1 a 3 semanas en el que se puede evidenciar solo formas asexuadas (trofozoitos) en circulación sin presencia de gametocitos y posteriormente se genera la formación de gametocitos.
- La única especie con gametocitos crecientes o a manera de luna, banana o salchicha es el *P. falciparum*.
- La única especie que tiene el pigmento malárico de los gametocitos a manera de barras es *P. falciparum*, de tal manera que cuando se redondean por algún factor es posible tener un criterio de diferenciación frente a los gametocitos de las otras especies.
- Las parasitemias más altas son alcanzadas por *P. falciparum* debido a que parasita todo tipo de glóbulos rojos, mientras que *P. malariae* y *P. ovale* usualmente presentan las parasitemias más bajas de las cuatro especies parasitarias.
- De las tres especies circulantes en Colombia, es a *P. vivax* al que se le evidencia con mayor facilidad las granulaciones o puntos de contacto del parásito con el glóbulo rojo. En *P. vivax* se denominan granulaciones de Shüffner, en *P. falciparum* granulaciones de Maurer y en *P. malariae* granulaciones de Ziemann, ver figura 9.

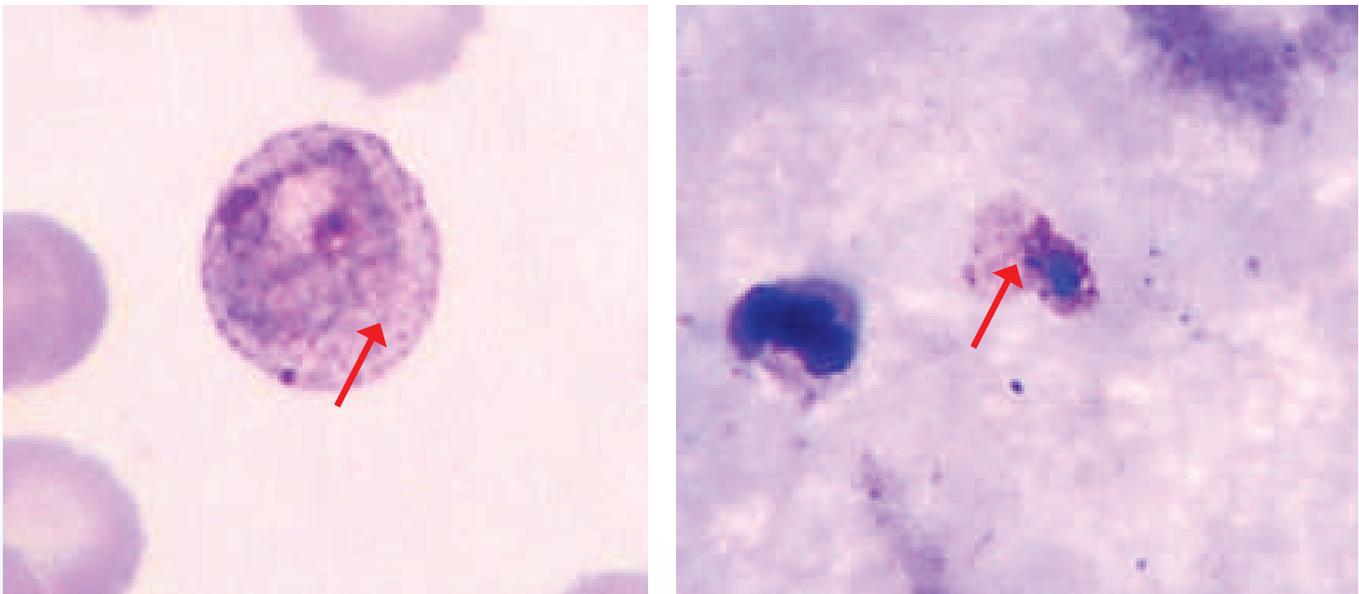


Figura 9. Granulaciones de Shüffner en *P. vivax* en un extendido (izquierda) y en una gota gruesa (derecha). Fuente Grupo de Parasitología del INS.

- Las dos especies que agrandan y distorsionan el glóbulo rojo son *P. vivax* y *P. ovale*. Sin embargo, *P. ovale* tiende a ovalarlo. Estas dos especies parasitan los glóbulos rojos jóvenes.
- El parásito al que se le evidencia mayor cantidad de pigmento malárico y en tonos más oscuros es al *P. malariae*.
- En las infecciones por *P. malariae* se puede observar el glóbulo rojo de tamaño normal o disminuirlo hasta en un 25%.

- Las formas en banda son más frecuentes en *P. malariae*.
- Las características del citoplasma de los trofozoitos en las cuatro especie parasitarias, se pueden resumir en la tabla 4 (5):

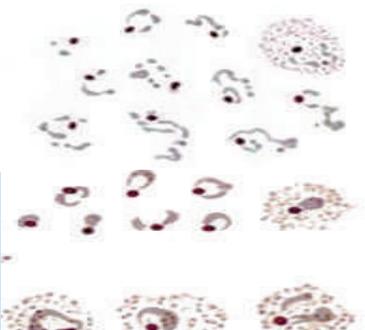
Característica del citoplasma de los trofozoitos		Estadios asociados	Especie
	Citoplasma regular	Uniforme	Gametocitos en forma creciente y ocasionalmente esquizontes en altas parasitemias <i>P. falciparum</i>
		Compacto	Esquizontes y gametocitos redondeados <i>P. malariae</i>
	Citoplasma irregular	Muy fragmentado	Esquizontes y gametocitos redondeados. Frecuentemente granulaciones de Shüffner (finas y abundantes) <i>P. vivax</i>
		Poco fragmentado	Esquizontes y gametocitos redondeados. Frecuentemente granulaciones de James (prominentes) <i>P. ovale</i>

Tabla 4. Características del citoplasma de las especies parasitarias (5).

Las características morfológicas de las cuatro especies parasitarias tanto en extendido de sangre periférica (parte derecha) como en la gota gruesa (parte izquierda), se encuentran en los anexos 6, 7, 8 y 9. (5).

Cuando se evidencia que el paciente solamente tiene en circulación una sola especie del parásito se le denomina mono-infección, pero cuando el paciente tiene más de una especie se denomina infección mixta. En Colombia la infección mixta más frecuente esta dada por *P. falciparum* y *P. vivax*. En este contexto, la infección mixta se puede establecer cuando se evidencian formas parasitarias de *P. vivax* y concomitantemente gametocitos de *P. falciparum*. Adicionalmente, se establece infección mixta cuando ante la ausencia de gametocitos de *P. falciparum*, se evidencia circulación de *P. vivax* y se observan formas asexuadas regulares compatibles con *P. falciparum* en una proporción $\geq 40\%$ en 100 formas parasitarias observadas.

Durante la observación morfológica es importante que el microscopista tenga presente que existen artefactos que pueden confundir el diagnóstico de malaria, los cuales se encuentran en el anexo 10 (5).

2.3.2.4 Recuento parasitario

Un diagnóstico adecuado para malaria realizado mediante microscopía incluye reportar tanto la(s) especie(s) parasitaria(s) como el recuento. El recuento tiene importancia porque ayuda a definir la conducta y el tratamiento que se le debe suministrar al paciente, de igual forma tiene gran utilidad para hacer el seguimiento a la respuesta terapéutica.

Observación del campo microscópico

El recuento en la gota gruesa se debe realizar frente a los leucocitos (glóbulos blancos). Se realiza de manera ordenada para lograr contar todos los leucocitos y todos los parásitos presentes en el campo. Por lo tanto, se recomienda seguir el sentido de las manecillas del reloj como indica la figura 10:

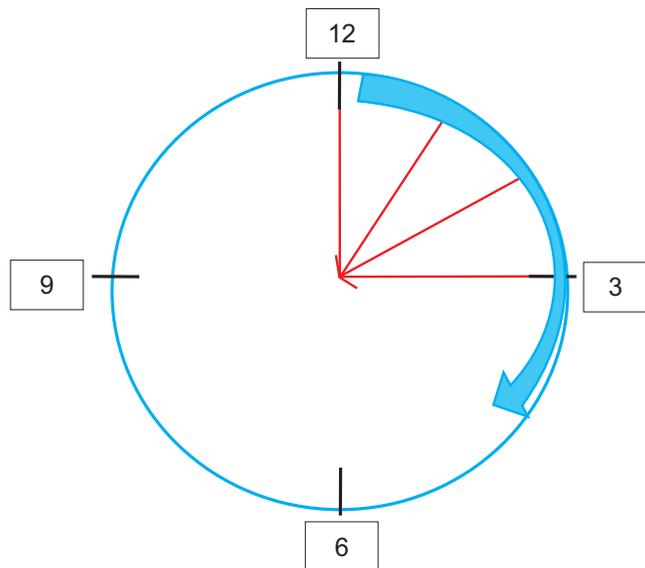


Figura 10. Indicación para realizar el recuento en el campo microscópico.

Fórmula del recuento parasitario en gota gruesa

El principio del recuento en términos generales establece una relación del número de parásitos presentes en 200 leucocitos y el número de leucocitos por mm^3 del paciente; cuando se usa este método, generalmente se asume que el recuento leucocitario promedio de los individuos es 8000 leucocitos/ μL , así:

$$\# \text{ de parásitos}/\mu\text{L de sangre} = \frac{\# \text{ de parásitos} \times 8000 \text{ leucocitos}/\mu\text{L de sangre}}{200 \text{ leucocitos}}$$

Cuando se tienen parasitemias muy altas en la gota gruesa y para posibilitar el recuento, se procede aplicar la siguiente fórmula:

$$\# \text{ de parásitos}/\mu\text{L de sangre} = \frac{500 \text{ parásitos contados} \times 8000 \text{ leucocitos}/\mu\text{L de sangre}}{\# \text{ de leucocitos contados}}$$

Nota: en el caso de *P. falciparum* no se requiere hacer recuento de los gametocitos por lo que el recuento debe ir en términos de # de formas asexuadas / μL de sangre o # de trofozoitos/ μL de sangre y reportar la presencia de gametocitos cuando están presentes. El término asexuados puede incluir tanto trofozoitos como esquizontes o solamente tofozoitos, pero siempre es necesario hacer la anotación del número de esquizontes presentes en la muestra. Por otra parte, para las otras especies parasitarias es necesario contar todas las formas parasitarias a la vez, de tal manera que el informe se registra en términos de # de parásitos/ μL de sangre.

Claves para mejorar la concordancia de los recuentos parasitarios

Cuando al observar la gota gruesa se encuentra:

- ≥ 100 parásitos en 200 leucocitos, se hace el cálculo de la parasitemia y el reporte del resultado con estos datos.
- < 100 parásitos después de contar 200 leucocitos, la cuantificación se lleva a 500 leucocitos. Se cuentan todos los parásitos y leucocitos en el campo final así estos últimos lleguen a dar una cifra superior a 500. Entonces se calcula la parasitemia con el total de parásitos observados, en el número total de leucocitos encontrados.

El recuento en extendido es menos utilizado en los puestos de diagnóstico, pero puede ser de utilidad en los laboratorios clínicos y se presenta en el Anexo 11.

Nota: todas las láminas positivas exceptuando las enviadas para la EEID deben ser almacenadas en el puesto de diagnóstico o laboratorio por un tiempo máximo de dos años con el fin de posibilitar la corroboración del diagnóstico en casos de mortalidad.

2.3.3 Diagnóstico de malaria utilizando pruebas rápidas

Dentro de la nueva iniciativa del Programa Mundial de Malaria de la Organización Mundial de la Salud, “Diagnosticar, Tratar y Vigilar”, que indica que a cada paciente que se le sospeche tener malaria debe ser diagnosticado con una prueba de laboratorio y de esta manera cuando se está frente a un caso confirmado debe ser tratado con medicamentos antimaláricos siguiendo los esquemas nacionales vigentes y garantizando la calidad de los medicamentos. Para cumplir con el procedimiento adecuado, el caso de malaria debe ser reportado al sistema de vigilancia, sistema que debe ser oportuno y preciso para permitir orientar políticas y decisiones operativas (6).

Dentro de este contexto, se han hecho grandes esfuerzos para mejorar la cobertura del diagnóstico de malaria motivo por el cual cada vez se utiliza mayor número de pruebas de diagnóstico rápido – PDR de manera complementaria frente al diagnóstico por gota gruesa.

En general, las PDR deben ser aplicadas en situaciones en donde el diagnóstico microscópico no es factible y para lograr notificación epidemiológica en estas áreas. Un escenario ideal del uso de las pruebas es en áreas rurales de población dispersa y de difícil acceso geográfico y que no cuente con diagnóstico por microscopía.

Sin embargo, las PDR se pueden aplicar mediante búsqueda activa y pasiva así:

Vigilancia activa:

- En atención a brotes o epidemias. Donde se recomienda utilizar la definición de caso probable para estas situaciones: « Persona con fiebre actual o reciente (72 horas) que proceda de área endémica en los últimos 15 días y que puede tener o no relación epidemiológica (nexo) con casos diagnosticados». Es posible ampliar esta definición a persona sintomática que proceda de zona endémica, debido a que la inmunidad desarrollada frente a previas infecciones puede hacer que el paciente presente una sintomatología leve y en algunas ocasiones esté afebril.
- Como estrategia para aumentar la cobertura del diagnóstico y consecuentemente lograr disminuir la transmisión de malaria en un lugar.

- Para programar las búsquedas activas se recurre a los casos índices que corresponden a los casos detectados mediante la búsqueda pasiva, entonces se programan vistas a las viviendas y barrios en búsqueda de los contactos de dichos pacientes en la siguiente semana de haber sido diagnosticado el caso índice. Esta búsqueda activa se denomina búsqueda activa reactiva.

Nota: en la búsqueda activa dirigida a comunidades o poblaciones de alto riesgo sin necesidad de existir caso índice, por lo general la toma de muestra se realiza a todas las personas lo cual permite detectar individuos con infección asintomática. Esta búsqueda se denomina búsqueda activa proactiva. (7)

Sin embargo, en este tipo de búsqueda es recomendable realizar el diagnóstico parasitario mediante la gota gruesa por tratarse de niveles de parásitos muy bajos. Actualmente hay métodos de amplificación de ADN parasitario que pueden complementar la gota gruesa para la detección de parasitemias que están por debajo de la sensibilidad de la gota gruesa.

Vigilancia pasiva

- Ubicación de un puesto de atención con posición estratégica, por ejemplo en población indígena, trabajadores de minería, entre otros.
- En hospitales ante la duda de infección mixta, si el diseño de la PDR lo permite.

2.3.3.1 Fundamento de la PDR:

La PDR es un dispositivo que cuenta con un papel de nitrocelulosa que tiene proteínas fijas en él (también llamadas anticuerpos) que se unen a los antígenos del parásito presentes en los glóbulos rojos de la muestra. Cuando se presenta la unión del antígeno y el anticuerpo específico se evidencia por una reacción de color violeta a expensas del conjugado (segundo anticuerpo marcado) que se encuentra en el lugar donde son liberados los antígenos uniéndose a ellos. Esta unión migra por la nitrocelulosa y es capturada por el anticuerpo monoclonal ubicado en la banda de reacción. Un ejemplo del diseño general de una PDR para la detección de antígenos se ilustra en la figura 11:

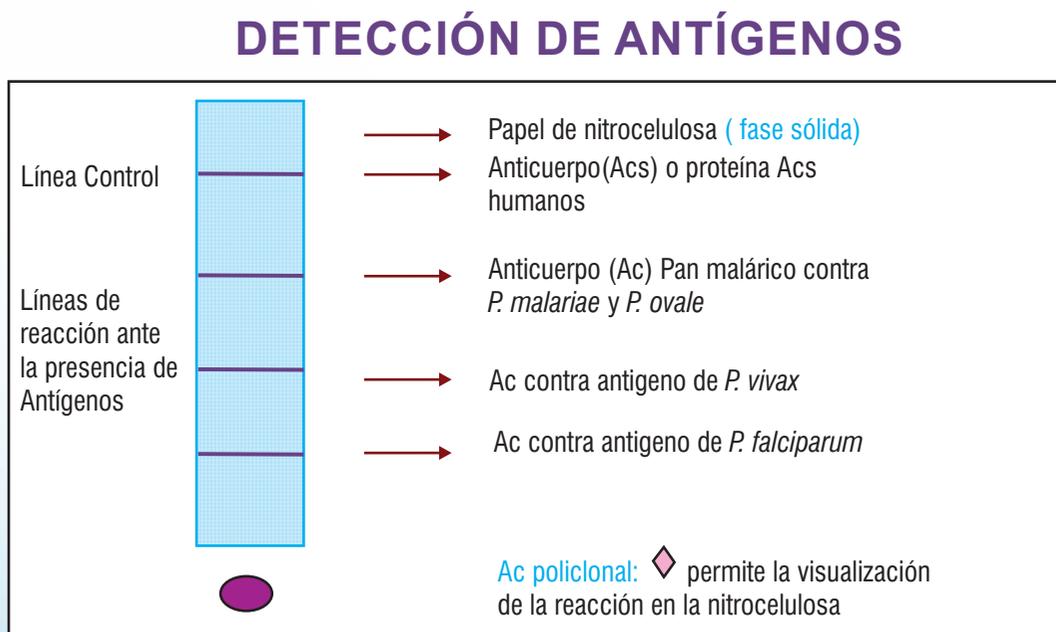


Figura. 11. Diseño general de una PDR para la detección de antígenos de *Plasmodium*.

En el desarrollo de las pruebas rápidas se han llevado al mercado diferentes presentaciones así:

- **Tirilla**



- **Tarjeta**



- **Cassette**



Figura 12. Diferentes presentaciones de las PDR.

Las pruebas tienen la capacidad de detectar diferentes antígenos parasitarios. A continuación se presentan los antígenos blanco más comunes:

Resumen de antígenos blanco

Antígeno	Especie/Estadio	Duración en la sangre	Uso y limitaciones
Proteína II Rica en Histidina (HRP II)	<i>P. falciparum</i> Producida por: Estadios asexuados Gametocitos inmaduros	Post-tratamiento hasta 15 días	Se utiliza para diagnóstico. Pueden existir cepas que no expresen esta proteína. Las PDR dan negativas cuando el parásito no expresa tanto la HRP II como la HRP III
Lactato Deshidrogenasa Parasitaria (pLDH)	Puede ser común para las especies de parásitos así: • Común para las 4 especies • Común <i>P. vivax</i> , <i>P. malariae</i> y <i>P. ovale</i>) o • Específica para <i>P. falciparum</i> • Específica para <i>P. vivax</i> . Producida por: Formas asexuadas y sexuadas	5 días	Se utiliza para diagnóstico y seguimiento.
Aldolasa	Común para las 4 especies	Semejante a LDH. Enzima metabólica (se expresa mientras el parásito esté vivo)	Diagnóstico general para malaria o detecta en general los Plasmodia. No es específica para especie.

Tabla 5. Resumen de antígenos blanco de las PDR (8,9).

A continuación se resumen las ventajas y desventajas de las PDR:

Ventajas	Desventajas
Resultado más rápido que microscopía	Resultado cualitativo
Fácil ejecución	No permite hacer seguimiento para evaluar eficacia terapéutica
Fácil interpretación	Regularmente da resultados negativos en parasitemias inferiores a 200 parásitos/ μ L
Fácil entrenamiento	
Utiliza menos muestra que la microscopía	

Tabla 6. Ventajas y desventajas de las PDR (9).

2.3.3.2 Recomendaciones para el uso de PDR en el laboratorio

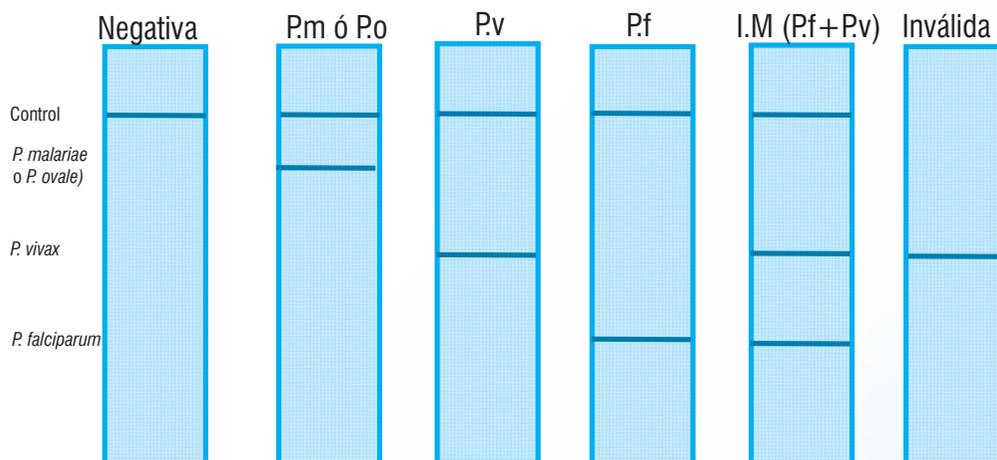
- Se debe contar con una capacitación previa antes de utilizar las PDR en la atención de pacientes. Las PDR difieren de una marca a otra en su diseño e interpretación.
- Es importante seguir las indicaciones del fabricante.
- Se debe tener especial cuidado con la temperatura y la humedad en el sitio de montaje, almacenamiento y transporte.
- El lugar de almacenamiento y procesamiento debe ser fresco.
- La temperatura y la humedad en el lugar de almacenamiento se miden usando un termohigrómetro. Por lo menos, se debe hacer una lectura diaria de estas variables, pero idealmente se hacen dos lecturas, una en las horas de la mañana y otra en las de la tarde. En el anexo 12 se presenta un registro modelo. Adicionalmente, los laboratorios clínicos deben registrar estos datos en una gráfica o carta de Levey-Jennings.
- Al transportar las muestras, no las exponga al sol.
- No se deben usar pruebas vencidas ni mezclar reactivos de diferentes lotes.
- Siempre se deben mantener las normas de bioseguridad (guantes, contenedores de bioseguridad, caneca con bolsa roja, bata, entre otros).
- Es importante respetar el tiempo que el fabricante indica para la lectura, no debe ser ni inferior (falsos negativos) ni mayor (falsos positivos).
- Cuando se identifica la PDR con el código o nombre del paciente, se debe evitar hacerlo sobre la marca de la prueba del fabricante, este aspecto tiene especial importancia cuando se utilizan dispositivos para la lectura de las PDR.

Procedimiento para el montaje de una PDR

- Aliste la ficha epidemiológica de datos básicas de malaria, estilógrafo, marcador de punta fina o lápiz, prueba rápida, buffer, lanceta, pañito para limpiar el sitio de punción, instrumento para tomar la gota de sangre, algodón, guardián para desechos cortopunzantes, caneca con bolsa roja y reloj o timer.
- Lo primero que se debe hacer es registrar los datos del paciente en la ficha de notificación y diligenciar el registro diario de pacientes.

- Identifique la prueba rápida evitando tocar la marca del fabricante. Asigne un código.
- Luego limpie la zona de punción capilar como se indicó para la gota gruesa, aunque también se puede realizar la prueba a partir de sangre anticoagulada.
- La primera gota de sangre de la punción capilar se limpia y se trabaja con la segunda gota.
- Siempre se debe respetar la cantidad de sangre utilizada en el método, ni menos volumen debido a que se disminuye la sensibilidad, ni mayor volumen ya que la PDR no se lava adecuadamente. Este aspecto es un error común en el montaje de la PDR, por lo que se debe utilizar de manera adecuada el instrumento dispuesto por el fabricante para este fin.
- Se deposita la sangre en la ventana que indica el fabricante para la muestra.
- Agregar el buffer en la cantidad que indica el inserto.
- Espere el tiempo que dice el fabricante. Generalmente se indica un tiempo máximo en el instructivo, éste debe respetarse y hacer la lectura.
- Para la interpretación siempre tenga a mano los esquemas de interpretación de la PDR que tenga en uso. No se confié de la memoria, este es un error muy común en el uso de PDR.
- Todas las pruebas rápidas utilizadas deben tener reacción en la línea de control. Si esta línea no da reacción de color se interpreta como una prueba inválida.
- Cuando se obtiene un resultado inválido o dudoso se debe repetir el diagnóstico con una nueva PDR. En ocasiones el exceso de sangre no permite ver las reacciones tenues encontrándose frente a una lectura dudosa, por lo que se recomienda ser muy cuidadosos en el momento del montaje de la prueba.
- En la figura 13 se hace una ilustración general de interpretación de las PDR, de acuerdo con el diseño que se dio como ejemplo en la figura 12.
- El resultado se registra en la ficha de notificación y se da el resultado por escrito al paciente.

Posibles interpretaciones



P.m: *P. malariae*, P.o: *P. ovale*, P.v: *P. vivax*, P.f: *P. falciparum*, I.M: infección mixta

Figura 13. Interpretación de una PDR según el diseño de la figura 11.

2.3.3.3 Problemas más frecuentes en el uso de rutina de las PDR:

1. Aplicar a la PDR un volumen inadecuado de muestra, generalmente ocasionado por la dificultad en el manejo del colector de la muestra de sangre.
2. Mal uso de la solución buffer. Cuando se hace intercambio de la solución buffer entre lotes o productos, lo que puede generar falsos positivos o negativos. También, se considera un error aplicar diferente número de gotas de buffer al especificado en las indicaciones del fabricante.
3. Aplicación en el pozo errado la sangre o buffer, generando resultados negativos o inválidos.
4. Fallas en el tiempo de lectura. Es importante leer la prueba en el tiempo máximo de lectura estimado por el fabricante, debido a que las reacciones débiles suelen ser tardías, sin embargo se ha de tener precaución de no exceder dicho tiempo.
5. Utilizar luz inadecuada para la lectura de los resultados de las PDR. Las pruebas deben ser leídas con luz día o luz blanca brillante, evitando leerlas en la luz directa del sol o en luz tenue.
6. Fallas de interpretación en las líneas de reacción, ocasionado por no consultar la interpretación del fabricante o ayudas didácticas.

2.3.3.4 Algoritmo para la atención de pacientes utilizando PDR

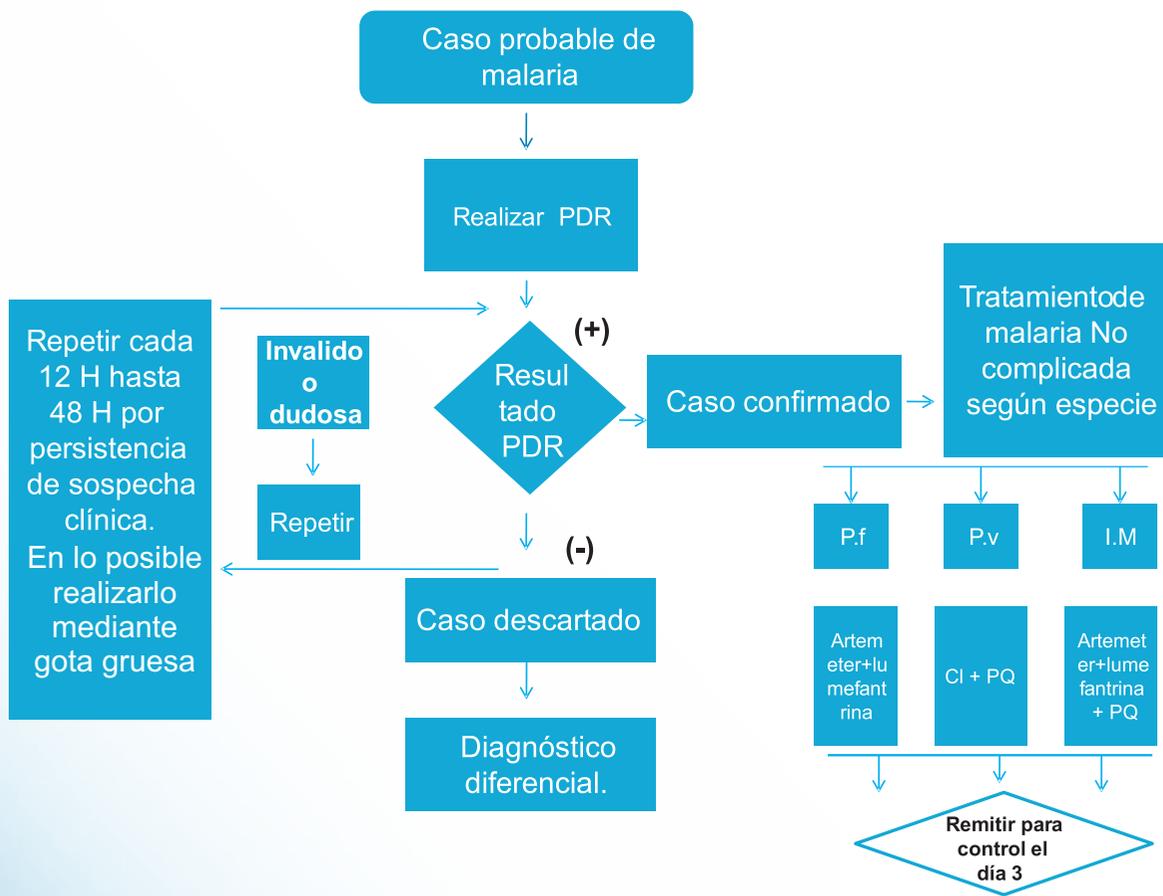


Figura 14. Algoritmo atención del paciente con malaria mediante PDR

Después de que un paciente es diagnosticado como positivo bien mediante gota gruesa o PDR es necesario administrarle el esquema de tratamiento.

3

ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL DIAGNÓSTICO DE MALARIA

3.1 Marco legal

Este sistema está en armonía con el Decreto 272 de 2004 y la Resolución 0136 de 23 de febrero de 2004, en donde “define las funciones del Instituto Nacional de Salud y la Red Nacional de Laboratorios” para coordinar los Programas de Evaluación Externa del Desempeño a los laboratorios que realicen exámenes de diagnóstico de enfermedades de interés en Salud Pública (Malaria). Por otra parte, el Decreto 2323 de julio 12 de 2006, “Obliga a los laboratorios a implementar un sistema de gestión de calidad, participar en los programas de Evaluación Externa del Desempeño, notificar obligatoriamente la información generada a través del sistema integral de información”-SIVIGILA. Finalmente, el Decreto 3039 del 10 agosto 2007, define que la vigilancia en Salud Pública, se enfoca en los eventos que significan riesgo, empleando la notificación obligatoria.

Es así que la red de laboratorios debe asegurar la calidad del diagnóstico para las enfermedades de interés en salud pública como lo es malaria y a su vez, dado que el producto de este sistema es garantizar resultados idóneos, éste dato tiene alto impacto en la vigilancia del evento.

3.2 Definición

Teniendo presente las definiciones de la norma internacional ISO 9000 del año 2005, se tiene que la gestión de la calidad corresponde a un conjunto de actividades coordinadas para dirigir y controlar una organización en lo relativo a la calidad, mientras que el Aseguramiento de la Calidad del Diagnóstico de Malaria-ACDM se puede definir como una parte de la gestión de la calidad orientada a proporcionar confianza en que se cumplirán los requisitos de la calidad de este diagnóstico.

3.3 Actividades del ACDM

Las actividades del ACDM son:

1. Entrenamiento
2. Evaluación del Desempeño
3. Supervisión
4. Asistencia técnica
5. Referencia
6. Control de calidad interno
7. Seguimiento de las actividades del ACDM (2,10)

3.3.1 Entrenamiento:

El entrenamiento en malaria incluye la capacitación, el reentrenamiento y las actualizaciones.

Estas actividades tienen como objetivo desarrollar y fortalecer las destrezas para diagnosticar la malaria en los entrenamientos que realiza el laboratorio de referencia al interior de su red de laboratorios. En el diagnóstico microscópico es de especial importancia la diferenciación de especies. Para lograr este propósito, en los conteni-

dos de las capacitaciones se deben incluir temas como toma de muestra, requerimientos de un buen portaobjeto, preparación de gota gruesa y extendido, almacenamiento y transporte de láminas, formulación de colorantes, estandarización de la coloración, uso del microscopio, limpieza básica del microscopio, uso del microscopio, reconocimiento de formas parasitarias y células sanguíneas, con especial énfasis en la diversidad morfológica que puede tener una misma especie, claves morfológicas, diagnóstico de infecciones mixtas y la detección de bajas parasitemias, lo cual implica poder contar en las capacitaciones con muestras de diferentes grados de complejidad. Adicionalmente, se debe incluir el recuento parasitario y reconocimiento de otros hemoparásitos.

Por otra parte, el entrenamiento del diagnóstico con PDR se hace especial énfasis en el montaje adecuado de la muestra (cantidad de muestra de sangre), ejercicios de interpretación y práctica en campo de búsqueda activa en donde se realice el engranaje completo del diagnóstico, tratamiento y notificación para hacer la retroalimentación de estos aspectos a los participantes.

Como temas comunes tanto en los puestos de microscopía como de PDR se debe capacitar en informe de los resultados, tratamiento de malaria no complicada, recopilación periódica de los datos de muestras de sangre, bioseguridad, manejo de kardex y actividades del ACDM.

Todo integrante de la red de diagnóstico de malaria debe ser capacitado una vez al año.

El reentrenamiento es una actividad de mejora que se debe realizar cuando la asistencia técnica no ha surgido efecto en cuanto a la mejora de los indicadores o cuando los indicadores del ACDM dan un resultado deficiente de manera consecutiva o en dos actividades diferentes.

Finalmente, las actualizaciones se deben programar cada vez que el programa tenga información nueva referente al diagnóstico, ACDM o temas relacionados con la misión del laboratorio en el área de malaria.

3.3.2 Evaluación del Desempeño

La evaluación del desempeño se fortalece mediante la Evaluación Externa Indirecta del desempeño- EEID, el Programa de Evaluación Externa del Desempeño-PEED y la Evaluación del Desempeño mediante paneles de láminas.

3.3. 2.1 Evaluación Externa Indirecta del Desempeño

Se trata de una revisión cruzada que realiza el laboratorio de referencia al diagnóstico rutinario de malaria.

En la EEID se solicitan láminas a los microscopistas para evaluar la concordancia del diagnóstico, concordancia en el recuento y establecer los errores técnicos. La cantidad de láminas solicitadas y las frecuencias para cada nivel son las siguientes:

Nivel departamental: 30 muestras (15 positivas y 15 negativas) una vez al año.

Nivel municipal: 10 muestras (5 positivas y 5 negativas) todos los periodos epidemiológicos.

Las láminas positivas deben ser de baja densidad parasitaria (200 parásitos/ μ L) o en su defecto las muestras con parasitemias más bajas que se hayan presentado en el periodo epidemiológico. De igual forma, es obligatorio dentro de esta actividad la remisión de las infecciones mixtas y las muestras positivas para *P. malariae* o *P. ovale*.

El participante debe enviar el número de láminas a su laboratorio de referencia con el formato de EEID diligenciado en el encabezado y los resultados del primer lector en la cara A. Ver anexo 14.

La cara 2 debe ser diligenciada por el laboratorio de referencia. Cada laboratorio puede adaptar el formato según sea el caso, conservando las variables e indicadores. Los indicadores siempre deben ser calculados y usados como insumo en el informe de retroalimentación al puesto o laboratorio participante.

Parámetros de referencia de los indicadores de la EEID:

Nombre del indicador	Adecuado
Índice Kappa	$\geq 0,8$
Concordancia de detección parasitaria (positividad/negatividad)	$\geq 95\%$
Concordancia del recuento parasitario	$\geq 75\%$

Mediante el índice kappa es posible determinar conductas para el fortalecimiento del diagnóstico:

IK= $\geq 0,8$, Bueno. Acción a seguir continuar con EEID.

IK= 0,79- 0,4, Moderado. Acción a seguir readiestramiento por asistencia técnica.

IK= $\leq 0,39$, Deficiente. Requiere readiestramiento.

3.3.2.2 Programa de Evaluación Externa del Desempeño-PEED.

En la PEED, el laboratorio de referencia remite a los participantes de su red de diagnóstico 5 muestras problema coloreadas y de buena calidad acompañadas con la historia clínica. El laboratorio participante debe enviar sus respuestas en el registro para tal fin, ver anexo 15.

Condiciones básicas del PEED:

- Se elabora series o juegos de láminas codificadas.
- Se envían 5 láminas problema entre positivas y negativas, cada una con su resumen de historia clínica.
- La respuesta por parte del participante no debe superar los 10 días hábiles una vez recibido el paquete y se indicará la fecha máxima de respuesta en cada envío.
- Se evalúa la concordancia del diagnóstico, concordancia del recuento parasitario y oportunidad de la respuesta del diagnóstico. La concordancia del diagnóstico tiene en cuenta la concordancia de la positividad y la negatividad que equivale al 33,3% de la evaluación, la especie parasitaria que equivale al 50% y estadios observados al 16,7% de la calificación final.
- La retroalimentación se hace en los siguientes 60 días calendario siguientes al cierre de resultados.
- Frecuencia: 2 veces/ año
- La respuesta consta de un informe de retroalimentación individual y general basado en los indicadores del PEED. Si se requiere hacer un apoyo técnico al participante acerca de las debilidades encontradas, se debe hacer de manera separada como una asistencia técnica, es decir, fuera del cuerpo del informe del PEED.

Parámetros de referencia de los indicadores del PEED para microscopía:

Nombre del indicador	Adecuado
Concordancia del diagnóstico	$\geq 95\%$
Concordancia del recuento parasitario	$\geq 75\%$

Nota: El PEED también es aplicable al diagnóstico mediante PDR en donde se evalúa al responsable del diagnóstico con un set de 10 PDR. Se evalúa la capacidad de interpretación de las pruebas y si es posible el montaje. Esta actividad se hace con un set de muestras debidamente montadas y que mantengan su lectura estable, en su defecto el PEED se puede realizar con fotografías de alta resolución de 10 pruebas, las cuales deben incluir los diferentes tipos de resultados que permita la PDR con la que se esté trabajando, esto debe incluir muestras inválidas, negativas y positivas con las diferentes opciones.

En el PEED que se realiza para las PDR, los indicadores obtenidos son el índice kappa general y de especie, en donde el índice kappa se considera adecuado con valores $\geq 0,8$. Adicionalmente se determinan los indicadores de concordancia de positividad, concordancia de negatividad y concordancia de muestras invalidas.

3.3.2.3 Evaluación del Desempeño mediante paneles de láminas

Esta evaluación del desempeño permite la clasificación de los microscopistas senior y junior, mediante sets de láminas con diferentes grados de exigencia.

Los microscopistas senior se encuentran en el nivel central y departamental, son los coordinadores de los programas de malaria en los laboratorios de referencia en el área de parasitología. La clasificación permite categorizarlos en 1, 2, 3 y 4 siendo 1 la mejor categoría. En la clasificación senior se evalúa la positividad y negatividad del diagnóstico con un set de 40 láminas (20 positivas y 20 negativas), mientras que las especies parasitarias con las 20 positivas y el recuento con 17 muestras con diferente grado de dificultad. Los requerimientos para cada nivel o grado en los microscopistas senior se muestran en la siguiente tabla:

Niveles	Detección de parásitos (positividad/negatividad) (set de 40 láminas)	Identificación de especie (set de 20 láminas)	Cuantificación de parasitemias (dentro del 25% del recuento real - Set de 17 láminas)
Nivel 1 (experto)	$\geq 90\%$ (>36 láminas)	$\geq 90\%$ (>18 láminas)	$\geq 50\%$ (9 láminas)
Nivel 2	$< 90\%$ - 80% (35-32 láminas)	$< 90\%$ 80% (17 - 16 láminas)	$< 50\%$ - 40% (8-7 láminas)
Nivel 3	$< 80\%$ - 70% (31-28 láminas)	$< 80\%$ 70% (15 - 14 láminas)	$< 40\%$ - 30% (6-5 láminas)
Nivel 4	$< 70\%$ (<28 láminas)	$< 70\%$ (<14 14 láminas)	$< 30\%$ (<5 láminas)

Tabla 7. Niveles y requisitos para los Microscopistas Senior

Por otra parte, la clasificación junior evalúa a los microscopistas municipales (profesionales y no profesionales) encargados del diagnóstico de malaria, con un set de 24 láminas, en donde 10 muestras son negativas y 14 positivas, estas últimas deben tener diferentes especies, infecciones mixtas y diferentes niveles de parasitemias ya que con las mismas muestras se evalúa el recuento parasitario. En la siguiente tabla se muestran los requerimientos para los microscopistas junior (10):

Competencia	Resultado
Sensibilidad en la detección de parásitos	90%
Exactitud en el diagnóstico de <i>P. falciparum</i> cuando está presente	95%
«Especificidad» en la identificación de las especies. Concordancia de especie.	80%
Cuantificación, distinción exacta del <i>P. falciparum</i> en densidades inferiores a 10 parásito por campo y superiores a 10 parásito por campo. Equivale a <8000 parásitos/ μL y >8000 parásitos/ μL	80%
Cuantificación de <i>P. vivax</i>	75%

Tabla 8. Requisitos para los Microscopistas Junior.

Nota: el Ministerio de Salud y de la Protección Social exige a los microscopistas no profesionales estar certificados en normas de competencia laboral-NCL, la cual es otorgada por el SENA. Sin embargo, los contenidos y evaluaciones que maneja el SENA son coordinados con expertos departamentales y nacionales entre los que se encuentran el Instituto Nacional de Salud y el Ministerio de Salud y de la Protección Social.

3.3.3 Supervisión

La supervisión es una actividad de acompañamiento que permite evaluar y verificar el cumplimiento de las condiciones mínimas del puesto de diagnóstico para la prestación del servicio; consiste en realizar visitas de rutina a los puestos de diagnóstico y tratamiento de malaria, las cuales están orientadas por un formato y un instructivo estandarizado que vigila que las actividades de diagnóstico, tratamiento y notificación de los casos de malaria se realicen de acuerdo a los lineamientos nacionales. Estas visitas se realizan como mínimo una vez al semestre a todas las instituciones y puestos que realizan el diagnóstico por microscopía y por PDR.

La Ficha de supervisión de los lugares que realizan el diagnóstico por microscopía se encuentra en el anexo 16.

En la visita es importante llevar el Instructivo para el diligenciamiento de la ficha de supervisión a puestos de microscopía y la lista de chequeo de la dotación mínima. Esta ficha también es aplicable a los laboratorios, clínicas y hospitales. Tanto el instructivo como la lista de chequeo se encuentran en el anexo 17.

Por otra parte, la ficha de supervisión de PDR se encuentra en el anexo 18. El Instructivo para el diligenciamiento de la ficha de supervisión de Puestos de PDR y la lista de chequeo de dotación mínima se encuentran en el anexo 19.

3.3.4 Asistencia técnica

Actividad que permite transmitir información y conocimiento, así como formar aptitudes y desarrollar habilidades técnicas relacionadas con el diagnóstico parasitario de malaria y su calidad.

La asistencia técnica puede realizarse de manera presencial o no presencial.

3.3.5 Referencia

Actividad mediante la cual los laboratorios públicos y privados u otras instituciones remiten muestras para la confirmación diagnóstica de malaria. Para tal efecto, se deben enviar las muestras con el resultado del laboratorio o puesto de diagnóstico remitente.

3.3.6 Control de calidad interno

Son todas las acciones realizadas al interior de los puestos de diagnóstico y laboratorios encaminadas a garantizar procedimientos estandarizados, procurando reproducibilidad, precisión y sensibilidad de los diagnósticos del laboratorio. El control de calidad interno es una actividad que se realiza de manera permanente.

Todo puesto de diagnóstico debe contar con una cadena de distribución eficaz para proveer todos los equipos e insumos que en ellos se requieran. Con el fin de realizar esta tarea oportunamente se requiere contar con la información actualizada de todos los puestos que conforman la red de diagnóstico, para lo cual es posible apoyarse en los datos que arroja la supervisión.

Sobre los equipos, si se trata de un puesto de microscopía se debe contar con un microscopio binocular de luz halógena, con óptica corregida al infinito, planoacromático, con tratamiento antihongos, filtro azul, con espejo adaptable de fábrica y cable encauchetado con polo a tierra. Adicionalmente, se debe contar con un contador de células mecánico de 5 teclas para posibilitar los recuentos en los casos de infección mixta.

Estos equipos deben contar con intervención metrológica que consiste en suministrar mantenimiento preventivo y correctivo. Adicionalmente, para el microscopio debe diligenciarse el registro de uso.

En cuanto a las láminas portaobjeto estas deben ser nuevas, desengrasadas y con esmeril. Sobre los reactivos se debe verificar que los compuestos de la coloración de Romanowsky modificado cumplan con la formulación ver anexo 2.

Otro aspecto importante en el control de calidad interno en los puestos o laboratorios que diagnostican malaria es la estandarización de la coloración, tema que se trató en el numeral 2.3.2.2 Coloración. Es importante contar con un registro actualizado del tiempo de la coloración.

Por otra parte, es necesario contar con el registro diario de temperatura y humedad de los puestos y laboratorios que realizan diagnóstico de malaria tanto por gota gruesa como por PDR, ya que se puede ver afectada la estabilidad y la vida útil de los reactivos por estas variables ambientales.

Parte fundamental del control de calidad interno consiste en contar con la papelería, protocolos, registros y formatos del programa como por ejemplo: el registro del informe de exámenes por puesto de diagnóstico que se encuentra en el anexo 20 y los registros para la respuesta de la EEID y PEED, que se encuentran en los anexos 14 y 15 respectivamente. Adicionalmente, es necesario contar con las fichas de notificación del SIVIGILA.

3.3.7 Seguimiento de las actividades del ACDM:

Para que a nivel central se conozca el estado de la red es fundamental que los laboratorios de referencia en el nivel departamental reporten en el primer trimestre del año las actividades relacionadas con el diagnóstico y el ACDM.

Por lo anterior y con el fin de ayudar a recolectar la información proveniente de los diagnósticos realizados tanto por búsqueda pasiva como por búsqueda activa utilizando el diagnóstico por gota gruesa o por PDR, se ha implementado un registro denominado “informe de muestras por puesto de diagnóstico de malaria”. Tanto el Registro como el instructivo se encuentran en el anexo 20.

Como un control para el registro de pacientes en los puestos de diagnóstico y tratamiento de malaria y con el fin de tener una ayuda para recolectar las variables del “informe de muestras por puesto de diagnóstico de malaria”, se ha propuesto como una ayuda un registro diario de pacientes el cual se encuentra en el siguiente link del INS: <http://www.ins.gov.co/temas-de-interes/Documentacion%20Malaria/Registro%20pacientes%20puestos%20de%20diagnostico%20y%20tratamiento%20MALA.pdf>

ANEXOS

Anexo 1 Principios básicos de bioseguridad

Los trabajadores de salud ubicados en puestos de diagnóstico y tratamiento para malaria, deben manipular la sangre y eliminar los residuos contaminados de manera segura y aplicando las normas de bioseguridad.

- Considerar cada muestra de sangre como potencialmente infecciosa.
- Se debe usar siempre guantes al manipular sangre.
- Nunca se reutilizan las lancetas.
- No se deben dejar las lancetas en lugares en donde acceden los niños.
- Las lancetas, micropipetas de vidrio para PDR y láminas se descartan en un guardián de bioseguridad para elementos cortopunzantes, respetando el límite máximo del mismo, que corresponde a las 3/4 partes del recipiente o 2 meses de uso. Es por esto, que el guardián debe estar etiquetado con la fecha de inicio de uso, responsable, área (para los hospitales y centros de salud) y material segregado.
- Los desechos contaminados con sangre como algodones, recolector de muestra de sangre de las pruebas rápidas o guantes deben descartarse en caneca con bolsa roja marcada como residuos peligrosos.
- Durante la jornada de trabajo es necesario utilizar una bata que proteja la ropa de diario.
- Utilizar zapato cerrado.
- El puesto de toma de muestra debe contar con una segunda caneca con una bolsa verde marcada como residuos no peligrosos para desechos no contaminados como bolsas de papel, empaques, barrido, toallas de manos, entre otros.

Principios para realizar una manipulación segura en la toma de muestra:

- Ubique todos los elementos de forma ordenada.
- Ubique la caneca con la bolsa roja y el guardián de bioseguridad en el lugar de la toma de muestra y cerca al paciente para garantizar la eliminación de los desechos de forma inmediata.
- Garantizar que los recipientes de desechos cortopunzantes y bolsas rojas sean llevados al hospital municipal para su adecuada eliminación.
- Siempre cuente con elementos de bioseguridad de reserva.

Nota: en caso de no contar con un guardián de bioseguridad para eliminar desechos cortopunzantes, éste puede ser reemplazado por un recipiente plástico de paredes duras, boca ancha y tapa rosca, debidamente rotulado.

Anexo 2

Formulación de las soluciones que componen la coloración de Romanowsky modificado

A continuación se exponen los componentes de las soluciones que componen la Coloración de Romanowsky modificado:

1. Azul de Metileno fosfatado:

Cloruro de azul de metileno para microscopía.....	1,0 g
Ortofosfato disódico anhidro (Na_2HPO_4).....	3,0 g
Ortofosfato monopotásico (KH_2PO_4).....	1,0 g

Se trituran muy bien las sales en un mortero seco hasta lograr una mezcla homogénea, de la cual se pesan 0,8 gr para disolver en 200 mL de agua destilada certificada. Se filtra y se puede dividir en alícuotas de 50 mL para el uso semanal (según demanda). La solución se guarda a 4°C, pero se debe dejar alcanzar la temperatura ambiente antes de colorear.

2. Solución A de Romanowsy modificado:

Cloruro de azul de metileno para microscopía.....	0,8 g
Azur I o Azur B para microscopía.....	0,5 g

Cuando no se cuenta con los anteriores reactivos, se puede reemplazar por 1,3 g de azul II.
Los colorantes se disuelven en 250 mL de agua amortiguada pH 7,2.

3. Solución B de Romanowsky modificado:

Eosina amarillenta hidrosoluble para microscopía.....	1,0 g
---	-------

La eosina amarillante se disuelve en 250 mL de agua amortiguada pH 7,2.

4. Buffer o solución amortiguadora:

Ortofosfato disódico anhidro (Na_2HPO_4).....	10,0 g
Ortofosfato monopotásico (KH_2PO_4).....	5,0 g

Las sales se mezclan bien en un mortero y se disuelve 1 g de la mezcla en un litro de agua destilada certificada. Las proporciones de sales sugeridas anteriormente proporcionan un pH de 7,2, el cual brinda buenos resultados tanto para la preservación celular como para obtener tonalidades ideales en la coloración.

Anexo 3

Coloración de Walker

Cuando no se cuenta con el colorante de Romanowsky modificado para la gota gruesa se puede emplear el método de Walker que usa el colorante de Giemsa:

Método de Walker

- **Precoloración:** se realiza igual como se indicó para Romanowsky modificado, es decir por inmersión en azul de metileno fosfatado por tres segundos.
- **Enjuague:** realice un enjuague por inmersión en buffer fosfato (un segundo).
- Coloración con Giemsa al 10%: se hace una dilución así:

A partir del colorante de Giemsa filtrado, se mide 1 mL de colorante y se diluye en 9 mL de solución buffer fosfatado pH: 7,2, para obtener la solución de trabajo. Se mezcla por inversión suavemente. No se debe olvidar estandarizar el tiempo de coloración.

La proporción también se logra midiendo 3 mL de buffer y adicionando 3 gotas de colorante de Giemsa previamente filtrado. Por cada lámina a colorear se preparan 3 mL de solución.

Siempre use la lámina cóncava para que el precipitado quede en la concavidad de la misma y no sobre la muestra (8). Coloque la lámina sobre la lámina cóncava con la muestra hacia la concavidad, adicione la solución de solución colorante diluida o solución de trabajo y deje actuar por el tiempo estandarizado que generalmente es de 10 minutos.

- **Enjuague:** es opcional. realice un enjuague por inmersión en buffer fosfato (un segundo). Deje secar en un soporte para este fin.

Nota: el colorante de Giemsa por ser una solución alcohólica, se debe proteger de elementos acuosos que haga que se precipite. La solución madre de Giemsa debe preservarse en un frasco que impida el paso de la luz y de tenga tapa de cierre hermético para impedir que la humedad ambiental lo afecte. Adicionalmente, la dilución de Giemsa en buffer que es utilizada como solución de trabajo se debe preparar inmediatamente antes de su uso (4).

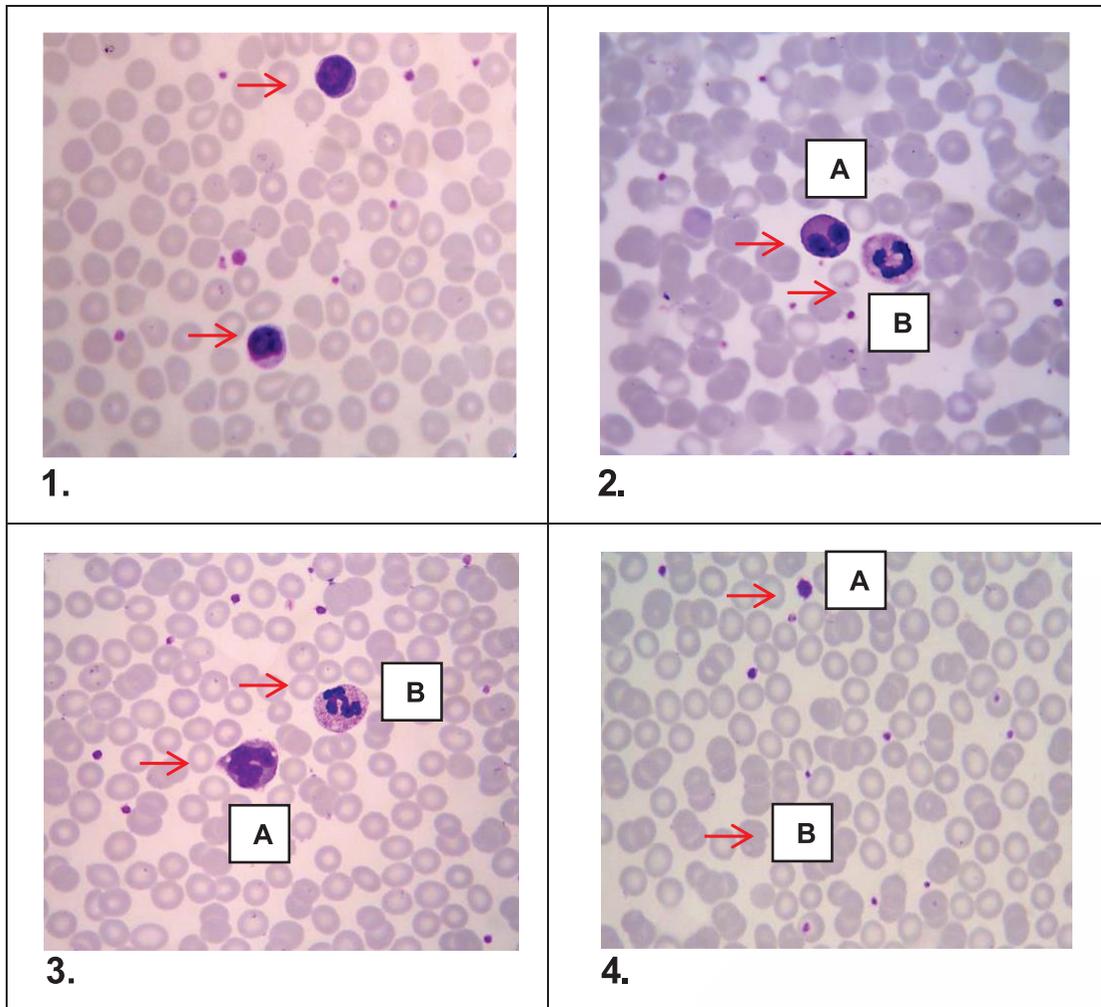
Anexo 4

Cuidados del microscopio

- Mientras no se utilice el microscopio debe permanecer cubierto con una funda de tela que permita que el equipo esté fresco pero que lo proteja del polvo.
- Si el equipo no va a ser utilizado por largo tiempo debe guardarse en su estuche el cual debe tener bolsitas de desecante (silica gel) para protegerlo de la humedad. Es mejor tener silica gel con indicador de humedad. Cuando la silica gel está activa es de color azul y cuando absorbe humedad se torna rosada, por lo que es necesario someterla a calor (horno o incubadora) hasta que nuevamente tenga color azul para volver a utilizarla.
- Existe otra recomendación, que es contar con un armario en el cual se tenga una bombilla que brinde calor suave de 25 vatios logrando una temperatura ambiente entre 30 a 35 °C y que esté libre de humedad, para guardar por largos periodo de tiempo los microscopios.
- Todos los días debe limpiar el microscopio, retirando el polvo y los restos de aceite con una tela tipo franela.
- Después de usar el microscopio, se debe dejar el carro portaobjetos en posición del objetivo de 10x.
- El aceite de inmersión del objetivo de 100x se debe limpiar inmediatamente después del uso con papel Japón para lentes de microscopio o un papel suave tipo pañuelos faciales.
- No use paños sucios para limpiar lentes o el espejo del microscopio ya que los puede contaminar. Los hongos deterioran de manera irreversibles los lentes.
- Siempre adquiera microscopios con enchufe que cuente con polo a tierra.
- Idealmente, utilice un regulador eléctrico cuando use el microscopio.
- No coloque el microscopio directamente en la luz solar ni cerca al vertedero.
- Si cuenta con un microscopio de luz desenchúfelo directamente de la toma, evite halar el cable.
- No desarme el microscopio. Se debe llamar a un técnico para que realice el mantenimiento del equipo.
- El microscopio se transporta por el estativo (brazo o cuerpo del equipo) y se sostiene con la otra mano de la base.
- El cuerpo del microscopio puede limpiarse con limpiador para computadores.

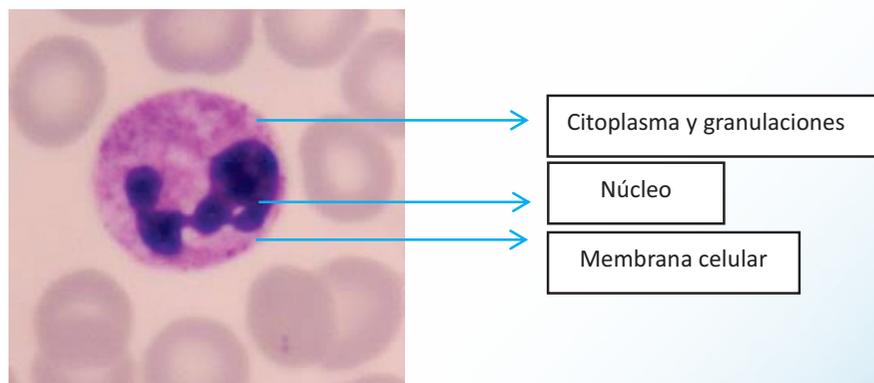
Anexo 5 Células sanguíneas

Apariencia de las células sanguíneas en extendido:

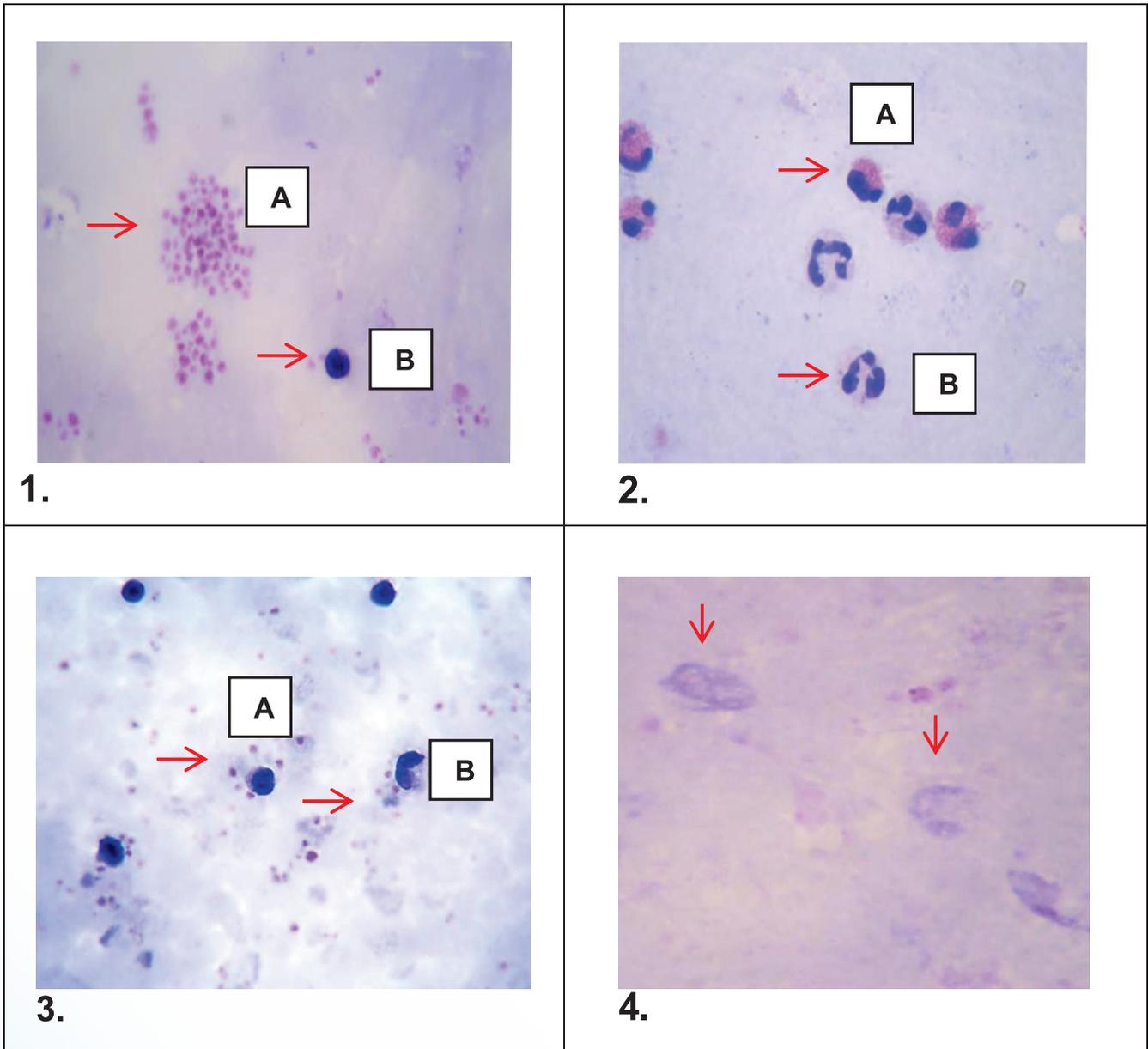


1. Linfocitos. 2. A. Eosinófilo y B: Neutrófilo 3. A. Monocito y B. Neutrófilo. 4. A. Plaqueta. B. Glóbulos rojos.

Morfología del glóbulo blanco



Apariencia de las células sanguíneas en gota gruesa:



1. A. Grupo de plaquetas. B. Linfocito. 2. A. Eosinófilo. B. Neutrófilo. 3. A. Linfocito. B. Neutrófilo. 4. Reticulocitos

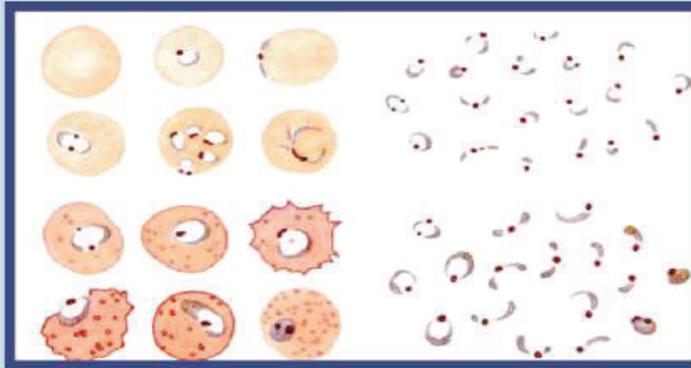
Anexo 6
Morfología de *P. falciparum* en sangre periférica

Plasmodium falciparum

Especie

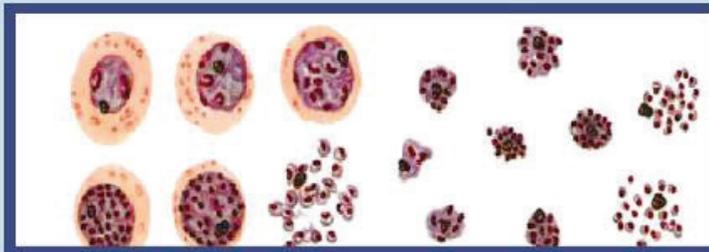
Trofozoíto

Se ven trofozoítos y/o Gametocitos. En infecciones severas, trofozoítos maduros y esquizontes. No agranda el tamaño del glóbulo rojo. En los Glóbulos rojos se pueden visualizar granulaciones de Maurer (gruesos y escasos)



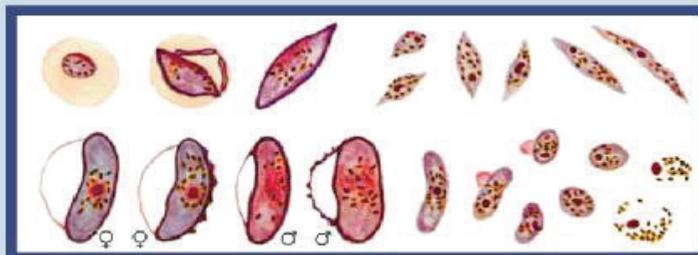
TAMAÑO: pequeño a mediano NÚMERO: a menudo numerosos
FORMA: anillo en forma de coma, candelabro. Los trofozoítos maduros pueden ser compactas.
CROMATINA: única a menudo dos puntos CITOPLASMA: Regular y fino a grueso FORMAS MADURAS: tienen pigmento malárico.

Esquizonte



Usualmente asociado con muchas formas jóvenes. TAMAÑO: pequeño y compacto; NÚMERO: usualmente pocos, son poco comunes, están en malarías severas. FORMAS MADURAS: 12-30 o más merozitos. PIGMENTO: como una masa oscura.

Gametocito



Los gametocitos inmaduros tienen los extremos aguzados, son poco frecuentes. FORMAS MADURAS: forma de banana ó redondeada. CROMATINA. única bien definida. PIGMENTO: disperso, grueso, como granos de arroz. Las formas erosionados poseen cromatina única y a menudo se puede ver el pigmento.

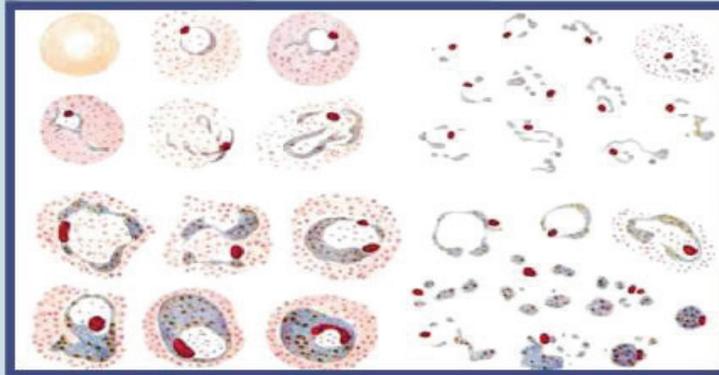
Anexo 7 Morfología de *P. vivax* en sangre periférica

Plasmodium vivax

Especie

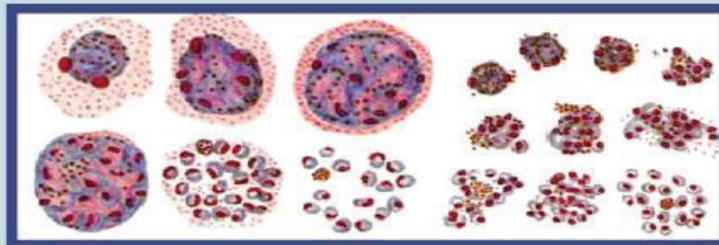
Trofozoíto

Se pueden ver todos los estadios. El Parásito aumentan el tamaño del glóbulo rojo. Graniulaciones de Schüffner (puntos finos, abundantes y de color rosado a rojo que aumentan en intensidad con la maduración del parasito) prominentes en los glóbulos rojos infectados.



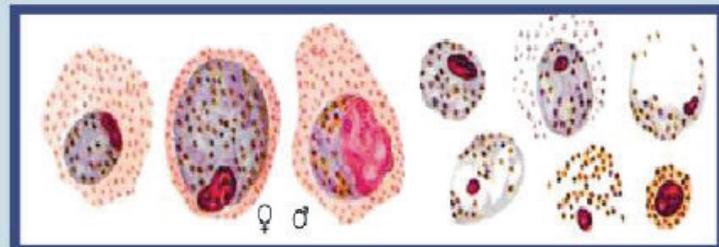
TAMAÑO: de pequeño a grande. NÚMERO: pocos a moderados; FORMA: anillo roto o formas irregulares. CROMATINA: única, ocasionalmente dos. CITOPLASMA: irregular o fragmentado. FORMAS MADURAS: compactas y densas; PIGMENTO: disperso, fino.

Esquizonte



TAMAÑO: alargado NÚMERO: pocos a moderados FORMAS MADURAS: 12-24 Merozoitos, usualmente 16 en grupos irregulares PIGMENTO: Masa suelta.

Gametocito



Las formas inmaduras son difíciles de distinguir con los trofozoitos maduros. FORMAS MADURAS: Redondas y grandes; CROMATINA: Única, bien definida; PIGMENTO: Disperso, fino. Las formas erosionadas tienen escaso citoplasma o ausente. CROMATINA: única.

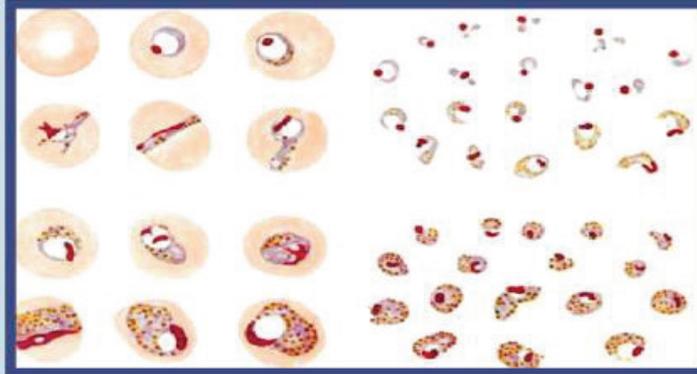
Anexo 8
Morfología de *P. malariae* en sangre periférica

Plasmodium malariae

Se pueden ver todos los estadios. tamaño del glóbulo normal o disminuido hasta en un 25%.

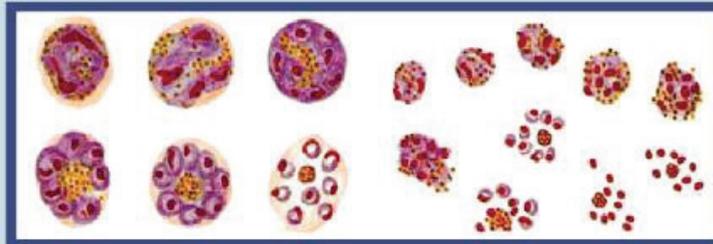
Especie

Trofozoíto



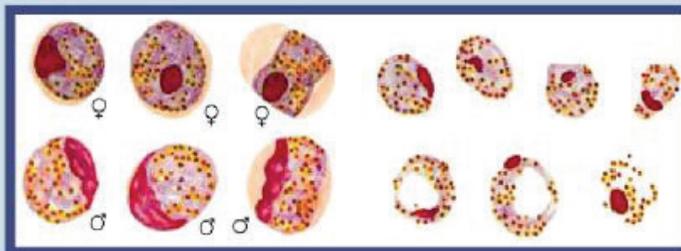
TAMAÑO: pequeño NÚMERO: por lo general pocos FORMA: anillo redondeado y formas compactas CROMATINA: única y grande CITOPLASMA: regular y denso PIGMENTO: disperso y abundante en formas maduras.

Esquizonte



TAMAÑO: pequeño y compacto; NÚMERO: usualmente pocos. FORMAS MADURAS: 6 -12 merozitos, usualmente 8 en conglomerado, pudiendo formas rosetas. PIGMENTO: concentrado.

Gametocito



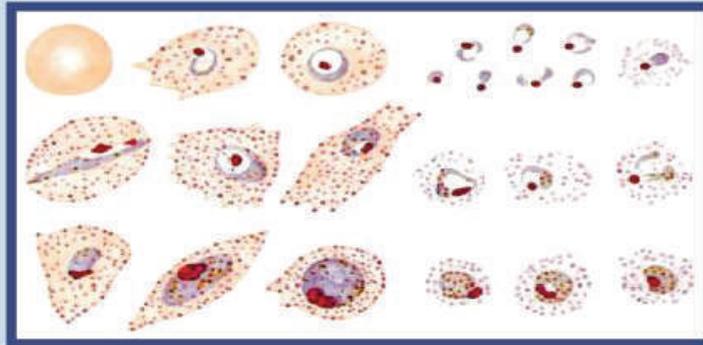
Las formas maduras y algunas inmaduras son indistinguibles con los trofozoitos maduros. FORMAS MADURAS. redondas, compactas; CROMATINA: única, bien definida; PIGMENTO: disperso, grueso, puede estar distribuido perifericamente, Puede presentarse formas erosionadas con cromatina y pigmento presente.

Anexo 9 Morfología de *P. ovale* en sangre periférica

Plasmodium ovale

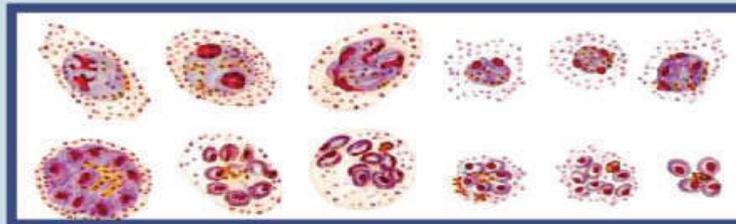
Trofozoíto

Se pueden ver todos los estadios; Granulaciones de James prominentes en los glóbulos rojos infectados, Aumenta el tamaño y larga el Glóbulo rojo. El borde de algunos glóbulos rojos se observa fimbriado. En generales es menor tamaño al de *P. vivax*.



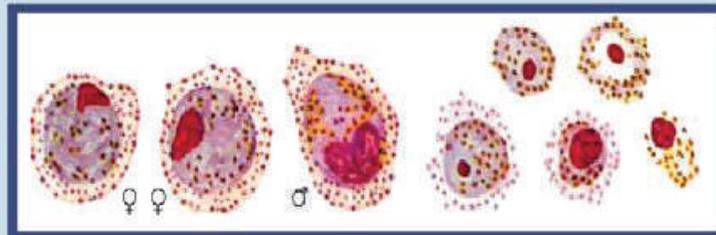
TAMAÑO: generalmente pequeño NÚMERO: pocos FORMA: anillo redondeado, formas compactas CROMATINA: única y grande CITOPLASMA: regular y denso PIGMENTO: amarillo y disperso en formas maduras.

Esquizonte



TAMAÑO: como el de *P. malariae* NÚMERO: pocos FORMAS MADURAS: 4-2 merozoitos, usualmente 8 en conglomerado PIGMENTO: masa concentrada y oscura.

Gametocito



Las formas maduras y algunas inmaduras son difíciles de distinguir con los trofozoitos maduros. FORMAS MADURAS: redondeadas, de meno tamaño al de *P. vivax*. CROMATINA: única, bien definida. PIGMENTO: disperso, grueso, puede estar distribuido periféricamente. Presencia de formas erosionadas con cromatina única y pigmento presente.

Anexo 10

Posibles artefactos en el examen microscópico de malaria

Artefactos y contaminantes que pueden causar confusión

ELEMENTOS DE LA SANGRE

- Nubes o mallas y restos de cromatina derivados de glóbulos rojos inmaduros en anemias severas
- Grupos aislados de granulaciones de eosinófilos
- Plaquetas y Linfocitos. Comparación de tamaño

BACTERIAS

ESPORAS

CELULAS VEGETALES

Hifas y esporas HONGOS

ARTEFACTOS DE DIFERENTES FUENTES

- Partículas de polvo
- Cristales de colorante
- Rayones de la lámina
- Fisuras redondeadas en la lámina

Anexo 11

Recuento en extendido de sangre periférica

El recuento en este tipo de muestra se realiza frente a los glóbulos rojos o eritrocitos y se aplica la siguiente fórmula:

$$\# \text{ de parásitos}/\mu\text{L de sangre} = \frac{\# \text{ de parásitos} \times \# \text{ de eritrocitos}/\mu\text{L de sangre}}{10.000 \text{ eritrocitos}}$$

Para facilitar el cálculo, el número de eritrocitos/ μL de sangre puede ser sustituido por el hematocrito del paciente multiplicado por 100.000. Es así que reemplazando tenemos:

$$\# \text{ de parásitos}/\mu\text{L de sangre} = \frac{\# \text{ de parásitos} \times \text{Hematocrito} \times 100.000}{10.000 \text{ eritrocitos}}$$

Simplificando la fórmula (eliminando los ceros) y se tiene:

$$\# \text{ de parásitos}/\mu\text{L de sangre} = \# \text{ de parásitos} \times \text{Hematocrito} \times 10$$

Procedimiento:

Debido a que la fórmula indica que el recuento se realiza en 10.000 eritrocitos, entonces es necesario hacer una estimación de estas células. Por lo tanto, se busca en la parte del extendido en donde los glóbulos rojos no se encuentren sobrepuestos pero tampoco muy separados y se cuentan, por lo menos, en tres campos microscópicos la cantidad de eritrocitos. Es necesario registrar la cantidad de eritrocitos en cada campo y se calcula el promedio.

Lo anterior indica que aproximadamente en un campo microscópico con la distribución de eritrocitos escogida hay un promedio determinado de glóbulos rojos. Ejemplo:

Campo 1: 300 eritrocitos

Campo 2: 310 eritrocitos

Campo 3: 290 eritrocitos

Promedio: 300 eritrocitos

Entonces, en un campo microscópico hay aproximadamente 300 eritrocitos, entonces se procede a calcular el número de campos microscópicos que se requiere observar para contar 10.000 eritrocitos, para lo cual se hace el siguiente cálculo:

$$\begin{array}{l}
 1 \text{ campo} \text{-----} 300 \text{ eritrocitos} \\
 X \text{ -----} 10.000 \text{ eritrocitos, entonces:} \\
 \\
 X = \frac{10.000 \text{ eritrocitos} \times 1 \text{ campo}}{300 \text{ eritrocitos}} \\
 \\
 X = 33,3
 \end{array}$$

Para este ejercicio es necesario observar 33 campos microscópicos con la distribución de eritrocitos seleccionada.

Anexo 12

REGISTRO DE TEMPERATURA Y HUMEDAD PARA PDR LUGAR DE ALMACENAMIENTO DE PDR					
Municipio:				Departamento:	
Nombre institución o lugar de almacenamiento:					
Nombre de la prueba:					
Número de lote de la PDR:			Fecha de vencimiento de la PDR:		
FECHA (DD/MM/AAAA)	HORA	TEMPERATURA REGISTRADA	HUMEDAD REGISTRADA	RESPONSABLE	OBSERVACIONES
	MAÑANA				
	TARDE				
	MAÑANA				
	TARDE				
	MAÑANA				
	TARDE				
	MAÑANA				
	TARDE				
	MAÑANA				
	TARDE				
	MAÑANA				
	TARDE				
	MAÑANA				
	TARDE				
	MAÑANA				
	TARDE				

Anexo 13

Malaria no complicada

Esquema de tratamiento primera línea para *P. falciparum*

Medicamento y Presentación	Dosis y vía de administración adultos	Dosis y vía de administración
Artemether + Lumefantrine (Coartem®) Tabletas de 20 mg de artemether y 120 mg de Lumefantrine	6 dosis en total, distribuidas en dos tomas al día por tres días. Dosis pre-empacada en blíster según peso y edad	6 dosis en total, distribuidas en dos tomas al día por tres días. Dosis pre-empacada en blíster según peso y edad

Tabla de dosificación por edad y peso de Artemeter + Lumefantrina (20/120 mg)- COARTEM para *P. falciparum*

		 Coartem® 20/120					
		Número de Tabletas de Coartem®					
		Día 1		Día 2		Día 3	
Peso (en Kg)	Edad	☀ 0h	🌙 8h	☀ 24h	🌙 36h	☀ 48h	🌙 60h
5-14	8 meses y 2 años	1	1	1	1	1	1
15-24	3-8 años	2	2	2	2	2	2
25-34	9-14 años	3	3	3	3	3	3
35 o más	15 años o más	4	4	4	4	4	4

Para facilitar la administración, la segunda dosis del primer día de Coartem (Artemeter + Lumefantrina) debe ser dada en cualquier momento entre las 8 y 12 horas después de la primera dosis. Las dosis de los días 2 y 3 son dos veces al día (mañana y tarde). (2)

Malaria no complicada Esquema de tratamiento segunda línea para *P. falciparum*

Medicamento y presentación	Dosis y vía de administración
Sulfato de quinina+ Cápsulas 300 mg	10 mg/ kg/ dosis cada 8 horas por 7 días.
Clindamicina+ tabletas 300 mg ó Doxiciclina* +	20 mg/kg/día cada 12hrs en adultos y cada 6/horas en niños durante 7 días. ó 100 mg/ día por 7 días
Primaquina** Tabletas de 5 y 15 mg	45 mg en dosis única. 0,75mg/kg > 2años

+ : Medicamentos de uso en hospitales y clínicas.

* : No administrar en niños menores de 8 años ni embarazadas.

** : No se administra en menores de 2 años ni durante el embarazo.

Malaria no complicada Esquema de tratamiento para *P. vivax*

Medicamento y presentación	Dosis y vía de administración
Cloroquina bifosfato Tabletas 250 mg, contenido de base 150 mg	Dosis total: 25 mg base/kg Dosis inicial 10 mg/kg 7.5 g/kg a las 24 y 48 horas.
Primaquina* Tabletas de 15 mg y 5 mg	0,25 mg/kg por día durante 14 días. Dosis máxima de 15 mg por día

*No administrar en menores de 2 años y embarazadas.

Tabla de dosificación por edad y peso Cloroquina y Primaquina para malaria por *P. vivax*

EDAD PESO	Dia 1		Dia 2		Dia 3		Dia 4.14
	CQ	PQ	CQ	PQ	CQ	PQ	PQ
6-11 meses							
5-9 kg	media	*	cuarto	*	cuarto	*	*
1-3 años							
10-14kg	1	1*	media	media*	media	media*	media*
4-8 años							
15-24 kg	1	1	1	1	1	1	1
9-11 años							
25-34 kg	2	media	2	media	2	media	media
12-14 años							
35-49kg	3	1	2	1	2	1	media
>15 años							
>50kg	4	1	3	1	3	1	1
* No administrar en menor de 2 años							
Tableta de 5 mg				Tableta de 15 mg			

Malaria no complicada

Esquema de tratamiento Recaída por *P. vivax*

Medicamento	Primera recaída en zona con transmisión autóctona	Segunda recaída en zona con transmisión autóctona	Recaída en zona sin transmisión autóctona
Cloroquina bifosfato Tabletas 250 mg, contenido de base 150 mg.	Dosis total: 25 mg base/kg 10 mg/kg inicial 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas.	Idem	Idem
Primaquina** Tabletas de 15 mg y 5 mg.	0,25 mg/kg por día durante 14 días. Dosis máxima de 15 mg por día.	0,5 mg/kg por día durante 14 días. Dosis máxima de 15 mg por día.	0,5 mg/kg por día durante 14 días*. Dosis máxima de 15 mg por día.

*1 Siempre que se considere que en el tratamiento inicial la primaquina fue tomada en su dosis completa.

**No administrar en menores de 2 años y embarazadas. (2)

Malaria no complicada

Esquema de tratamiento para infección mixta por *P. falciparum* y *P. vivax*

Medicamento y presentación	Dosis y vía de administración
Artemether + lumefantrine (Coartem®). Tabletas de 20 mg de artemether y 120 mg de Lumefantrine.	6 dosis en total, distribuidas en dos tomas al día por tres días. Dosis pre-empacada en blíster según peso y edad.
Primaquina* Tabletas de 15 mg y 5 mg	Dosis: 0.25 mg/ kg diarios durante 14 días.

*No administrar en menores de 2 años y embarazadas.

Nota: Consultar las respectivas tablas dadas en la parte de arriba. (2)

Malaria no complicada

Esquema de tratamiento para *P. malariae*

Medicamento y presentación	Dosis y vía de administración
Cloroquina bifosfato Tabletas 250 mg, contenido de base 150 mg	Dosis total: 25 mg base/kg Dosis inicial 10 mg/kg 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas

Anexo 14

Formato de la Evaluación Externa Indirecta del Desempeño Cara A

 <p>Instituto Nacional de Salud</p>	<p>PROCESO REDES EN SALUD PUBLICA</p>	<p>INFORME DE RESULTADOS POR LABORATORIO DE LA EEID</p>	Versión:
			Fecha versión
			Página 1 de 2

Evaluación Externa Indirecta del Desempeño

Laboratorio participante: Departamento/Código:
 Responsable:
 Período Epidemiológico: Año:
 No. total de pacientes a los cuales se les realizó gota gruesa en el período epidemiológico: Sin dato
 No. total de pacientes con gota gruesa positiva:
 No. total de láminas enviadas para Evaluación Externa Indirecta del Desempeño (EEID):
 No. total de láminas positivas enviadas para la EEID:

IDENTIFICACION DE LA LAMINA	DIAGNOSTICO								% CONCORDANCIA A RECUESTO PARASITARIO
	Positivo (P) ó Negativo (N)		Especie de <i>Plasmodium</i> 1 2 3 4 5*				RECUESTO PARASITARIO		
	PRIMER LECTOR	SEGUNDO LECTOR	PRIMER LECTOR	SEGUNDO LECTOR	PRIMER LECTOR		SEGUNDO LECTOR		
					ASEJUADOS	SEXUADOS	ASEJUADOS	SEXUADOS	
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
TOTAL									

*: 1: *P.vivax* 2: *P.falciparum* 3: *P.malariae* 4: Infección mixta 5: *P.ovale*

Formato de la Evaluación Externa Indirecta del Desempeño Cara B

 Instituto Nacional de Salud	PROCESO REDES EN SALUD PUBLICA	INFORME DE RESULTADOS POR LABORATORIO DE LA EEID	Versión: Fecha versión
			Página 2 de 2

Evaluación Externa Indirecta del Desempeño

Laboratorio participante: Departamento/Código:

Responsable:

Periodo Epidemiológico: Año:

No. total de pacientes a los cuales se les realizó gota gruesa en el periodo epidemiológico:

IDENTIFICACION DE LA LAMINA	ERRORES TECNICOS DE LA GOTTA GRUESA								IDENTIFICACION INADECUADA DE LA LAMINA
	ESPOSOR		DISTRIBUCION		COLORACION				
	GRUESA	DELGADA	TOCANDO BORDES	IRREGULAR	DH	IN	CT	PR	
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
TOTAL									

GOTAS GRUESAS			CONCORDANCIA		INDICE KAPPA GENERAL	INDICE KAPPA ESPECIE	% CONCORDANCIA DE RECuento
NUMERO TOTAL	NUMERO DE POSITIVAS	NUMERO DE NEGATIVAS	% POSITIVA	% NEGATIVA			

ERRORES TECNICOS					% ERROR GENERAL
TOTAL DE ERRORES	ESPOSOR	DISTRIBUCION	COLOR	IDENTIFICACION INADECUADA	

Responsable:

Grupo de Parasitología - RNL

Anexo 15

Formato de respuesta del PEED

 <p>Instituto Nacional de Salud</p>	<p>PROCESO DE REDES EN SALUD PÚBLICA</p>	FORMATO PARA EL PEED	Versión
			Fecha de la versión
			Página
<p>Programa Malaria Ensayo: Directo Año Envío Hoja de respuestas</p>			

Laboratorio participante: _____ Código: _____

Responsable del diagnóstico: _____

Fecha de Recepción: _____ Oportunidad: _____

Identificación de la muestra	Resultado	Identificación parasitaria / Especie	Recuento (Si aplica)	Descripción (Si aplica)	Calificación. Uso exclusivo LABORATORIO DE REFERENCIA. Concordancia Muestra
	Positivo (P) Negativo (N)				
CONCORDANCIA TOTAL					

Nota: En lo posible llene en el computador para evitar interpretaciones erradas

En el recuento escriba el resultado del recuento y además escriba el número de parásitos visualizados y el los leucocitos contados y los glóbulos rojos en que lo realizó.

Ej: Recuento. 80 parásitos/μL, 8 parásitos en 500 leucocitos. Cuando es en extendido : 38.800 parásitos/μL , 97 parásitos en 10.000 glóbulos rojos

En la descripción escriba las formas parasitarias encontradas ej: presencia de trofozoitos maduros, trofozoitos juvenes, esquizontes, gametocitos y la observacion de alguna característica especial.

Recuerde enviar únicamente la hoja de respuestas al Grupo de parasitología Malaria . Diugencie el anexo de manejo y tratamiento.

Plazo máximo de recepción de resultados como OPORTUNOS hasta el (AAAA-MMM-DD), como INOPORTUNOS hasta el (AAAA-MMM-DD), repuestas recibidas después de ésta última fecha serán consideradas como NO PARTICIPACION.

Nombre del Referente
Programa de Malaria
Grupo de Parasitología-RNL

Anexo 16

Ficha de supervisión de rutina a puestos de microscopía

1) Departamento:	SUPERVISIÓN A LOS PUESTOS DE MICROSCOPIA DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE MALARIA	2) N° de la visita/año:		
I. IDENTIFICACIÓN	3) Municipio	4) Localidad / vereda	5) Nombre y código del puesto de diagnóstico	
6) Fecha de la supervisión (dd/mm/año)	7) Supervisor	8) Microscopista: Certificado Fecha (mes/año)	9) Microscopista: Titulado Fecha (mes/año)	
II. DIAGNÓSTICO	10) Número de microscopistas	11) Días del puesto abierto para diagnóstico en el último mes	12) Horas del PD disponibles por día	13) Número de exámenes en el último período epidemiológico
Características del microscopio				
14) Microscopio 1 1. No funciona 2. Funciona con defectos 3. En buenas condiciones 4. No hay microscopio 5. Mantenimiento		15) Microscopio 2 1. No funciona 2. Funciona con defectos 3. En buenas condiciones 4. No hay microscopio 5. Mantenimiento		
16) Defectos encontrados (1. Leve 2. Grave)	Óptico:	Mecánico:	Estructural:	Eléctrico:
17) El puesto de atención cumple con condiciones físicas básicas para la prestación del servicio? 1. Si 2. No				
18) Observar y registrar sobre la disponibilidad de los siguientes insumos 1. No hay 2: Cantidad insuficiente 3. Cantidad adecuada				
Lancetas	Láminas	Azul de Metileno	Agua tamponada	Colorantes
19) Participa en el ACD de malaria? (1: Si 2. No)		20) Número de láminas enviadas en la última EEID		Positivas: Negativas:
III. DISPONIBILIDAD DE MEDICAMENTOS	Medicamentos			
21) Existe control de inventario de medicamentos 1. Si. 2. No. 3. No aplica		22) Fecha de la última actualización del registro		
23) Observar y registrar: - la cantidad de tabletas, ampollas y supositorios (válidos y vencidos) - registra fecha de los válidos o vigentes				
	Válidos	Vencidos	Fecha de vencimiento (mes/año)	Válidos
				Vencidos
				Fecha de vencimiento (mes/año)
ATM+LUM 5 -14 Kg				Primaquina 15 mg
ATM+LUM 14-24				Primaquina 5mg
ATM+LUM 25-34				Quinina comprimidos
ATM+LUM > 35 Kg				Quinina ampollas
Cloroquina 150 mg				Artesunato rectal
IV. PRESCRIPCIÓN	24) Existe Guía de Atención vigente con esquemas de tratamiento (1. Si 2. No)			
25) Existe tabla por edad y/o peso vigente (1. Si 2. No)		26) ¿Existe un formato de instrucción escrita para el tratamiento? (1. Si 2. No)		27) ¿Existe material educativo sobre adherencia? (1. Si 2. No)
28) ¿Los pacientes con malaria por <i>P. vivax</i> reciben los medicamentos empacados? (1. Si 2. No)				
Mediante interrogatorio a pacientes después de la atención, registrar: (1. Si 2. No 3. No fue posible)				
29) ¿Hay pacientes de malaria por <i>P. falciparum</i> que al concluir la atención no saben cómo tomar el esquema correctamente?				
30) ¿Hay pacientes de malaria por <i>P. vivax</i> o Infección Mixta que al concluir la atención no saben cómo tomar el esquema correctamente?				
V. DISPENSACIÓN	Mediante interrogatorio y observación de la atención registrar: (1. Si 2. No)			
31) Entrega de blísters de ATM+LUM de un grupo de edad que no corresponde con el del paciente				
32) Entrega de esquema incompleto		ATM+LUM	Cloroquina	Primaquina
33) Tabletas son extraídas del blíster		ATM+LUM	Cloroquina	Primaquina
34) Fraccionamiento de tabletas		ATM+LUM	Cloroquina	Primaquina
VI. NOTIFICACIÓN	35) Existen fichas de notificación individual suficientes. (1. Si 2. No)			
36) Error en la definición de lugar probable de infección. (1. Si 2. No)		37) Error en la clasificación de caso nuevo Vs. no nuevo. (1. Si 2. No)		
38) Revisar por lo menos 30 fichas de notificación y registrar el número de notificaciones en blanco o con error en los siguientes campos:				
¿Cuántas fichas revisó?		Edad	Embarazo	Fecha de inicio de los síntomas
Localidad / vereda de infección	Diagnóstico (especie)	Tratamiento		Tipo de caso: nuevo / no nuevo
39) ¿Hay fichas para notificar efectos adversos? (1. Si 2. No)				
VII. ACCIONES TOMADAS	40) Describa las acciones tomadas en el momento de la visita para corregir las deficiencias detectadas durante la supervisión:			

Nombre y firma de la persona responsable por la atención en el puesto cc.

Firma del supervisor cc.

Anexo 17.

Instructivo de la Ficha de Supervisión y Lista de Chequeo- Puestos de Microscopía

La ficha consta de siete apartados: Identificación, Diagnóstico, Disponibilidad de Medicamentos, Prescripción, Dispensación, Notificación y Acciones Tomadas

1. Departamento: en la casilla superior izquierda se anota el nombre del departamento donde está ubicado el Puesto de Diagnóstico- PD.

2. Número de la visita y año: se registra el número de la visita de supervisión realizada al puesto de diagnóstico y el año en que se realiza. (Por ejemplo 1/2014 significa la primera visita de supervisión realizada al PD en el año 2014).

I. Identificación

3. Municipio: se anota el nombre del municipio donde está ubicado el PD.

4. Localidad/ vereda: se registra el nombre de la localidad o vereda donde está ubicado el PD.

5. Nombre y código del PD: se anota el nombre y el código del puesto de diagnóstico al que se realiza la supervisión. El código consta de 12 dígitos.

6. Fecha de la supervisión: se registra la fecha en días, mes y año.

7. Supervisor: se anota el nombre del supervisor que realiza la visita al PD.

8 y 9. Certificación o Titulación del microscopista: se marca 1 si el microscopista del PD está certificado o titulado (seleccione la casilla) y se marca 2 si el microscopista del PD no está certificado o titulado. Si en el PD atienden varios microscopistas y no están certificados o titulados o se certificaron o titularon en diferentes fechas, en la casilla de observaciones registrar la información. Cuando el microscopista es bacteriólogo(a), se agrega un comentario al final de la ficha, numeral 40. Nota: un microscopista certificado o titulado se ha de entender cuando éste es evaluado y certificado por el SENA en Normas de Competencia Laboral.

8 y 9. Fecha de certificación o titulación del microscopista: se registra la fecha en la que el microscopista fue certificado o titulado.

II. Diagnóstico

10. Número de microscopistas: se registra el número de microscopistas disponibles en el puesto de diagnóstico.

11. Días del PD abierto en el último mes: se registra el número de días en que está abierto el puesto para diagnóstico y tratamiento de malaria en el mes supervisado. Se entiende por mes calendario del día 1 al 30 ó 31 según corresponda.

12. Horas del PD abierto por día: se registra el número de horas disponibles para la atención en malaria al día.

13. Número de exámenes realizados en el PD el último periodo epidemiológico: se registra el número de gotas gruesas o pruebas rápidas realizadas en el puesto de diagnóstico en el último periodo epidemiológico.

14. y 15. Características de los microscopios: se registra información sobre las características de los microscopios disponibles en el puesto de diagnóstico así: se marca 1, si el microscopio no funciona (y se diligencia el numeral 16). Se marca 2, si funciona con defectos (y se diligencia el numeral 16), y 3 si el microscopio está en buenas condiciones. 4. No hay microscopio 5. Mantenimiento

16. Defectos encontrados: clasifique el tipo de daño del microscopio y registre 1 si es leve y 2 si es grave, según corresponda en la parte óptica, mecánica, estructural y eléctrica. Si hay más de un microscopio haga la respectiva anotación.

17. Condiciones físicas del PD: se registra 1, si el puesto cumple con las condiciones físicas mínimas para la atención en malaria, y 2 si el PD no cumple. Para verificar estas condiciones mínimas de los puestos de diagnóstico se debe diferenciar una IPS de un PD ubicado en la casa del microscopista. La IPS debe contar con todos los elementos básicos de infraestructura incluidos en la “Lista de chequeo para la dotación mínima de un puesto de microscopía”, sección denominada elementos básicos de infraestructura. Cuando se trata del PD ubicado en la casa del microscopista, la verificación de las condiciones físicas mínimas como: espacio para toma de muestra, espacio para entrega de resultados y medicamentos, energía eléctrica, ventilación e iluminación debe ser flexible.

18. Disponibilidad de insumos de laboratorio o en un PD: en la ficha encontrará una casilla antes de cada elemento a evaluar. Observe y registre la disponibilidad de cada uno de los insumos en el PD. El insumo denominado agua tamponada, también se le conoce como buffer o solución amortiguadora. Se marca 1 si no hay insumos, se marca 2 si la cantidad es insuficiente, es decir cuando la cantidad disponible no cubre la demanda esperada hasta la próxima entrega programada y se calcula de acuerdo con el volumen de atención, y se marca 3 si la cantidad de insumos es adecuada, es decir cuando la disponibilidad de insumos cubre la demanda hasta la próxima entrega programada.

19. Aseguramiento de la Calidad del Diagnóstico de malaria: Se refiere a la participación del microscopista en las actividades del Programa de Evaluación Externa del Desempeño-PEED, Evaluación Externa Indirecta del Desempeño-EEID, Evaluación de Competencias mediante paneles de láminas, Supervisión y Capacitación. Se marca 1 si participa en el programa, y 2 si no participa. El cumplimiento está dado por la participación en dos (2) de las actividades en el semestre. Se entiende por semestre de enero a junio y de julio a diciembre.

20. Número de láminas enviadas en la última EEID: se registrar información sobre el número de láminas remitidas en el último envío, anotando el número de positivas y el número de negativas.

III. Disponibilidad de medicamentos

21. Control de inventario: se registra si se realiza control de inventario de medicamentos en el PD y si hay soportes de verificación, idealmente tipo kardex. Marque 1, si existe, marque 2 si no existe y marque 3 cuando no aplica, esta última opción se elige cuando el puesto o laboratorio no suministra medicamentos. Por lo tanto, usted debe registrar N.A (no aplica en todas las variables de los componentes III, IV y V (22- 34)

22. Fecha de la última actualización del registro: se registra la fecha de la última actualización del inventario, día, mes y año (dd, mm, aaaa)

23. Disponibilidad del medicamento: se debe tratar en lo posible de observar y contar la disponibilidad del medicamento y registrar las cantidades de medicamentos encontrados y clasificarlos: si están vencidos, si están válidos y su fecha de vencimiento (mes/año). Para el caso del Coartem (Artemeter+Lumefantrina) se cuenta el

número de blister encontrados y se multiplica por el número de tabletas para registrar su número. Para la Primaquina, Cloroquina, Quinina y Clindamicina, contar el número de tabletas encontradas y para la Quinina registrar también el número de las ampollas.

IV. Prescripción

24. Existencia de guía o manual de atención vigente con esquemas de tratamiento de malaria en el PD se registra la existencia del manual de tratamiento así: se marca 1 si existe manual y 2 si no existe manual.

25. Existencia de tabla de dosis por edad y peso vigente en el PD: se registra la existencia de tabla de dosis por edad y peso: se marca 1 si existe tabla de dosis por edad y se marca 2 si no existe tabla de dosis por edad.

26. Existencia de formatos de instrucción escrita en el PD: se registra la existencia de formatos de instrucción escrita para entregar el tratamiento a los pacientes atendidos en el PD así: se marca 1 si existe formato y se marca 2 si no existe formato.

27. Existencia de material educativo sobre adherencia en el PD: se registra la existencia de material educativo sobre adherencia en el PD. Se marca 1 si existe material educativo, o se marca 2 si no existe material educativo.

De la pregunta 28 a 34 se debe verificar en lo posible mediante observación directa de las conductas en la atención en el PD, si no es posible la observación entonces se debe interrogar al microscopista para identificar estas fallas. Para las preguntas 29 y 30 se registra 1 si la respuesta es sí, 2, si es no, y 3 si no fue posible interrogar a pacientes.

28. Prescripción y dispensación para *P. vivax*: registrar 1 si los pacientes con *P. vivax* reciben instrucción escrita clara sobre como tomar los medicamentos o si los reciben empacados (blíster dentro de una bolsa) por día, y 2 si no se hace con ninguna de las anteriores.

29. Comprensión sobre la prescripción para *P. falciparum*: se registra 1 si después de recibir la atención el paciente no entiende como se debe tomar el esquema de tratamiento, y 2 si sí comprendió.

30. Comprensión sobre la prescripción para *P. vivax*: se registra 1 si después de recibir la atención el paciente no entiende como se debe tomar el esquema de tratamiento, y 2 si el paciente comprendió.

Comprensión sobre la prescripción para infección. Mixta: se registra 1 si después de recibir la atención el paciente no entiende como se debe tomar el esquema de tratamiento, y 2 si sí comprendió .

V. Dispensación

31. Entrega de blísteres de Coartem (Artemeter + Lumefantrina) de acuerdo a edad: se marca 1 si se entregan blísteres que no corresponden con la edad del paciente, y 2 cuando se entregan blísteres del rango de edad adecuada.

32. Entrega de esquema incompleto: según el tipo de esquema se marca 1 si es incompleto, y 2 si es completo.

33. Entrega de tabletas extraídas del blíster: según el tipo de esquema se marca 1 si se entregan tabletas extraídas del blíster, y 2 si no ocurre esta situación.

34. Entrega de tabletas fraccionadas: según el tipo de esquema se marca 1 cuando se entregan tabletas fraccionadas, y 2 cuando no ocurre esta situación.

VI. Notificación

35. Existencia de fichas de notificación individual: se registra 1 si existen fichas suficientes para la notificación, y 2 si no son suficientes o no existen.

36. y 37. Detección de errores en la notificación: se revisan los registros para identificar errores en la definición de lugar probable de la infección y errores en la clasificación de “caso nuevo” vs. “no nuevo”. La información se registra así: se marca 1 si la respuesta es positiva y se marca 2 si la respuesta es negativa

38. Ausencia de información en la ficha de notificación individual: mediante observación en lo posible revisar al menos 30 fichas de notificación y registrar el número de fichas que se lograron revisar. Se registra el número de notificaciones en blanco o con errores en las variables: edad, embarazo (esta variable solo se debe tener en cuenta cuando son mujeres en edad fértil de 10 a 54 años.), fecha de inicio de los síntomas, localidad de origen de la infección, diagnóstico por especie parasitaria, tratamientos entregados y tipo de caso: si es nuevo o No nuevo.

39. Existencia de fichas de notificación de efectos adversos: se registra 1 si existen fichas para notificar efectos adversos en el PD y 2 si no existen.

VII. Acciones tomadas

40. Se registran las deficiencias encontradas en el puesto y las acciones de mejora acordadas con el microscopista. (Redacte de manera concreta).

Al final de la ficha de supervisión debe registrarse el nombre, firma e identificación del microscopista responsable del puesto y se deja una copia en el puesto de diagnóstico. De igual forma, el supervisor debe firmar la ficha y registrar su identificación.

Control de calidad

La información contenida en la ficha debe ser confiable y veraz. Se requiere diligenciamiento de todos los campos, con letra legible, sin enmendaduras y atendiendo las instrucciones de llenado indicadas en el presente instructivo. La información contenida en la ficha, se verificará con la ficha de notificación individual de casos de malaria (SIVIGILA) y en algunos casos con visita de monitoreo al puesto supervisado.

LISTA DE CHEQUEO PARA DOTACIÓN MÍNIMA DE UN PUESTO DE MICROSCOPIA

Un puesto de microscopía como mínimo debe contar con:

DOTACIÓN DE PUESTOS DE MICROSCOPIA	SI	NO
EQUIPOS		
Microscopio binocular de luz con filtro azul (con objetivo de 4, 10, 40 y 100x retráctil)		
Contador de células		
Balanza pesa personas		
INSUMOS PARA TOMA DE MUESTRA Y ELEMENTOS DE BIOSEGURIDAD BÁSICOS		
Guantes desechables		
Lancetas		
Láminas portaobjetos esmeriladas		
Alcohol antiséptico		
Algodón		
Bolsas rojas y verdes		
Guardianes para elementos corto punzantes		
Caneca con tapa de pedal		
Hipoclorito de sodio		
Jabón yodado		
Papel absorbente o higiénico		
Recipiente plástico utilizado para el procedimiento de desengrase de láminas con alcohol.		
Reloj cronómetro para laboratorio		
Tela que no suelte hilaza		
INSUMOS PARA COLORANTE Y LECTURA		
Aceite de inmersión		
Papel de arroz o papel limpia lentes		
Papel absorbente o higiénico		
Gasa		
Lámina cóncava		
Soporte para coloración		
Reloj cronómetro para laboratorio		
Tubos plásticos con tapa rosca graduados de 15 y 30 mL		
Jeringa de 10 ML		
Frascos goteros plásticos con tapa, que no permita el paso de la luz		
Soporte para secado de láminas		
Calculadora		
Papel filtro		
REACTIVOS ACTIVOS EMPLEADOS PARA COLORACIÓN DE ROMANOWSKY MODIFICADO		
Azul de metileno fosfatado		
Solución buffer o agua amortiguada		
Solución A		
Solución B		
Metanol		
ELEMENTOS PARA EL TRATAMIENTO		
Medicamentos antimaláricos		
Esquemas de tratamiento por edad y peso		
Bolsas para empacar medicamento		
Hoja de instrucción para el tratamiento		
ELEMENTOS BÁSICOS DE INFRAESTRUCTURA		
Silla para toma de muestras		
Mesa		
Gabinete archivador (para papelería y almacenamiento de medicamentos).		

Continúa

Continuación

Gabinete archivador (para papelería y almacenamiento de medicamentos).		
Espacio para toma de muestras		
Espacio para procesamiento de muestras		
Espacio para entrega de resultados y medicamentos		
Adecuada luz y ventilación		
Vertedero con agua		
ELEMENTOS PARA NOTIFICACIÓN		
Ficha de notificación individual de casos para malaria(registros del sistema nacional)		
Registros del programa		
ELEMENTOS DE OFICINA		
Lapicero		
Lápiz		
Borrador		
Marcador de punta extrafina		
Carpetas		
Ganchos legajadores		
Perforadora		
Clips		
Ganchos cosedora		
Cosedora		

Anexo 18

Ficha de supervisión puestos de diagnóstico y tratamiento con PDR

	1) Departamento: SUPERVISIÓN A LOS PUESTOS DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE MALARIA POR PRUEBA DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO (PDR)	2) N° de la visita/año:						
I. IDENTIFICACIÓN	3) Municipio	4) Localidad / vereda	5) Nombre y código del puesto de diagnóstico					
	6) Fecha de la supervisión (dd/mm/año)	7) Supervisor	8) Personal Responsable capacitado en el puesto (1: Si 2: No)	9) Fecha de la última capacitación (mes / año)				
II. DIAGNÓSTICO	10) Número de personal responsable	11) Días del puesto abierto para diagnóstico en el último mes	12) Horas del PD abierto por día	13) Número de exámenes epidemiológico				
	Características de las PDR							
	14) Nombre de la PDR	15) Número de PDR sin vencer	16) Número de PDR vencidas	17) Temperatura y humedad de almacenamiento	Temperatura °C: Humedad %:			
	Observar y registrar sobre las siguientes características de las PDR: (1: Si 2: No)							
	18) Cajas húmedas	19) Pruebas individuales con empaque roto	20) Protegidas del calor excesivo	21) Protegidas de las plagas	22) Ubicadas en un lugar ventilado y fuera de la luz directa del sol			
	23) Participa en el ACDM (1: Si 2: No)	24) Con cuál actividad participa en el ACDM (capacitación, PEED y supervisión) (1: Si participa 2. No participa)		Capacitación:	PEED:	Supervisión:		
	25) ¿El puesto de atención cumple con condiciones físicas básicas para la prestación del servicio?(1: Si 2: No)							
	Observar y registrar sobre la disponibilidad de los siguientes insumos: (1. No hay. 2. Cantidad insuficiente 3. Cantidad adecuada)							
	26) Dispositivo de la prueba	27) Diluyente del ensayo (buffer)	28) Instrumento para colectar la sangre (asa ó pipeta capilar ó copa)	29) Lancetas	30) Algodón	31) Alcohol	32) Interpretación de la PDR en uso	
	III. DISPONIBILIDAD DE MEDICAMENTOS	Medicamentos						
33) Observar si hay registro de existencias de medicamentos (1: Si 2: No).			34) Fecha de la última actualización del registro					
35) Observar y registrar: -la cantidad de tabletas y ampollas (válidos y vencidos) - la validez del lote más antiguo								
		Válidos	Vencidos	Fecha de vencimiento (mes/año)		Válidos	Vencidos	Fecha de vencimiento (mes/año)
ATM+LUM 5-14 Kg					Primaquina 15 mg			
ATM+LUM 14-24					Primaquina 5mg			
ATM+LUM 25-34					Quinina (comp)			
ATM+LUM > 35 Kg				Quinina amp				
Cloroquina 150 mg				Artesunato rectal				
IV. PRESCRIPCIÓN	36) Existe Guía de Atención vigente con esquemas de tratamiento (1: Si 2: No)		37) Existe tabla de dosis por edad y/o peso (1: Si 2: No)		38) ¿Existe un formato de instrucción escrita para el tratamiento? (1: Si 2: No)		39) ¿Existe material educativo sobre adherencia? (1: Si 2: No)	
	40) ¿Los pacientes con malaria por <i>P. vivax</i> reciben los medicamentos empacados por días? (1: Si 2: No)							
	Mediante interrogatorio a pacientes después de la atención, registrar: (1: Si 2: No 3. No fue posible)							
	41) ¿Hay pacientes de malaria por <i>P. falciparum</i> que al concluir la atención no saben cómo tomar el esquema correctamente?							
42) ¿Hay pacientes de malaria por <i>P. vivax</i> o Infección Mixta que al concluir la atención no saben cómo tomar el esquema correctamente?								
V. DISPENSACIÓN	Mediante interrogatorio y observación de la atención registrar: (1: Si 2: No)							
	43) Entrega de blísters de ATM+LUM de un grupo de edad que no corresponde con el del paciente							
	44) Entrega de esquema incompleto		ATM+LUM		Cloroquina		Primaquina	
	45) Tabletas son extraídas del blíster		ATM+LUM		Cloroquina		Primaquina	
46) Fraccionamiento de tabletas		ATM+LUM		Primaquina				
VI. NOTIFICACIÓN	47) Existen fichas de notificación individual suficientes. (1: Si 2: No)		48) Error en la definición de lugar probable de infección. (1: Si 2: No)		49) Error en la clasificación de caso nuevo Vs. no nuevo. (1: Si 2: No)			
	50) Revisar por lo menos 30 fichas de notificación y registrar el número de notificaciones en blanco o con error en los siguientes campos:							
	¿Cuántas fichas revisó?		Edad		Embarazo		Fecha de inicio de los síntomas	
	Localidad / vereda de infección		Diagnóstico (especie)		Tratamiento		Tipo de caso: nuevo / no nuevo	
	51) ¿Hay fichas para notificar efectos adversos? (1: Si 2: No)							
VII. ACCIONES TOMADAS	52) Describa las acciones tomadas en el momento de la visita para corregir las deficiencias detectadas durante la supervisión:							

Nombre y firma de la persona responsable por la atención en el puesto cc.

Firma del supervisor cc.

Anexo 19

Instructivo de la ficha de supervisión y lista de chequeo para la dotación mínima de un puesto de diagnóstico de malaria por Pruebas de Diagnóstico Rápido- PDR

La ficha consta de siete apartados: Identificación, Diagnóstico, Disponibilidad de Medicamentos, Prescripción, Dispensación, Notificación y Acciones Tomadas.

Glosario:

PD: puesto de diagnóstico

PDR: prueba de diagnóstico rápida

PR: personal responsable

1. Departamento: en la casilla superior izquierda se anota el nombre del departamento donde está ubicado el puesto de diagnóstico (PD).

2. Número de la visita: se registra el número de la visita de supervisión realizada al puesto de diagnóstico y el año en que se realiza. (Por ejemplo 1/2014, significa la primera visita de supervisión realiza al PD en el año 2014).

I. IDENTIFICACIÓN

3. Municipio: se anota el nombre del municipio donde está ubicado el puesto de diagnóstico.

4. Localidad / vereda: se registra el nombre de la localidad o vereda donde está ubicado el puesto de diagnóstico.

5. Nombre y código del PD: se anota el nombre y el código del puesto de diagnóstico al que se realiza la supervisión.

6. Fecha de la supervisión: se registra la fecha de la supervisión: día, mes y año.

7. Supervisor: se anota el nombre del supervisor que realiza la visita al PD.

8. Capacitación del Personal Responsable – PR en el puesto: se marca 1 si el PR del puesto está capacitado y se marca 2 si el PR del puesto no está capacitado. Cuando en el puesto de diagnóstico atienden varios PR y no están capacitados o se capacitaron en diferentes fechas, en la casilla de observaciones se registra la información.

9. Fecha de la última capacitación del PR del puesto: se registra la fecha en la que el PR del puesto fue capacitado por última vez.

II. DIAGNÓSTICO

10. Número de personal responsable en el puesto: se registra el número de personal responsable en el puesto de diagnóstico.

11. Días del PD abierto en el último mes: se registra el número de días en que está abierto el puesto para diagnóstico y tratamiento de malaria en el mes supervisado. Se entiende por mes calendario del día 1 al 30 ó 31 según corresponda.

12. Horas del PD abierto por día: se registra el número de horas disponibles para la atención en malaria al día.

13. Número de exámenes realizados en el PD el último periodo epidemiológico: se registra el número de pruebas de diagnóstico rápido -PDR realizadas en el puesto de diagnóstico en el último periodo epidemiológico.

Características de las PDR: en estos espacios se registra información sobre las características de las PDR disponibles en el puesto así:

14. Nombre de la PDR: registrar el nombre de la PDR que encuentra en la visita de supervisión.

15. Número de PDR sin vencer: registrar la cantidad de PDR que tienen la fecha de vencimiento aún sin expirar.

16. Número de PDR vencidas: registrar la cantidad de PDR que tienen la fecha de vencimiento cumplida.

17. Temperatura y humedad de almacenamiento: registrar en grados centígrados (°C) la temperatura y la humedad en porcentaje (%) del almacenamiento de las PDR.

18, 19, 20, 21 y 22. Para diligenciar los ítems del 18 al 22, se debe observar y registrar sobre las características de la PDR según corresponda: se marca 1 si la respuesta es positiva y 2 si la respuesta es negativa: 1: Si y 2: No. Pruebas individuales con empaque roto, pruebas húmedas, protegidas del calor excesivo, protegidas de las plagas, ubicadas en un lugar ventilado y fuera de la luz directa del sol.

23. Participación en el Aseguramiento de la Calidad del Diagnóstico de Malaria: se registra 1 si participa en el programa y 2 si no participa. El cumplimiento está dado por la participación en dos (2) de las actividades en el semestre. Se entiende por semestre de enero a junio y se julio a diciembre.

24. Actividad (es) del ACDM en la (s) que participa: registre 1 si participa y 2 si no participa en cada una de las actividades: capacitación, Programa de Evaluación Externa del Desempeño-PEED y supervisión.

25. Condiciones físicas del PD: (verifique en la última parte del anexo la lista de chequeo para dotación mínima de un puesto de PDR en el ítem Elementos básicos de infraestructura). Registre 1, si el puesto cumple con las condiciones físicas mínimas para la atención en malaria, y 2 si el PD no cumple. Para verificar estas condiciones mínimas de los PD sea flexible. La revisión de las condiciones físicas incluyen: espacio para toma de muestra, espacio para procedimiento de muestras, entrega de resultados y medicamentos, iluminación, ventilación, vertedero con agua.

26, 27, 28, 29, 30, 31 y 32. Disponibilidad de insumos de laboratorio: para diligenciar los ítems del 26 al 32, debe observarse y anotar la disponibilidad de cada uno de los insumos en el PD. Se marca 1 si no hay insumos, se marca 2 si la cantidad es insuficiente, es decir cuando la cantidad disponible no cubre la demanda esperada hasta la próxima entrega programada y se marca 3 si la cantidad de insumos es adecuada, es decir cuando la disponibilidad de insumos cubre la demanda hasta la próxima entrega programada.

III. DISPONIBILIDAD DE MEDICAMENTOS

33. Control de inventario: se registra si se realiza control de inventario de medicamentos en el PD y si hay soportes de verificación. Si existe marca 1 y si no existe marca 2.

34. Fecha de la última actualización del registro: se registra la fecha de la última actualización del inventario. Escriba día, mes y año.

35. Disponibilidad del medicamento: se debe tratar en lo posible de observar y contar la disponibilidad del medicamento y registrar la cantidad de medicamentos encontrados y clasificarlos: si están vencidos o si están válidos y su fecha de vencimiento (mes/año). Para el caso del Coartem (ATM+LUM) se cuenta el número de blíster encontrados, para la Primaquina, Cloroquina, Quinina y Clindamicina el número de tabletas encontradas y para la Quinina también las ampollas.

IV. PRESCRIPCIÓN

36. Existencia guía o manual de atención vigente con esquemas de tratamiento de malaria en el PD: se registra la existencia del manual de tratamiento así; se marca 1 si existe manual y 2 si no existe manual.

37. Existencia de tabla de dosis por edad y peso en el PD: se registra la existencia de tabla de dosis por edad y peso: se marca 1 si existe tabla de dosis por edad y se marca 2 si no existe tabla de dosis por edad.

38. Existencia de formatos de instrucción escrita en el PD: se registra la existencia de formatos de instrucción escrita para entregar el tratamiento a los pacientes atendidos en el PD así: se marca 1 si existe formato y se marca 2 si no existe formato.

39. Existencia de material educativo sobre adherencia en el PD: se registra la existencia de material educativo sobre adherencia en el PD. Se marca 1 si existe material educativo, o se marca 2 si no existe material educativo.

De la pregunta 41 a 46 se debe verificar en lo posible mediante observación directa de las conductas en la atención en el PD, si no es posible la observación entonces se debe interrogar al responsable del puesto para identificar estas fallas. Para las preguntas 42 y 43 se registra 1 si la respuesta es sí, 2 si es no, y 3 si no fue posible interrogar a pacientes.

40. Prescripción y dispensación para *P. vivax*: registrar 1 si los pacientes con *P. vivax* reciben instrucción escrita clara sobre como tomar los medicamentos o si los reciben empacados (blíster dentro de bolsas) por día, y 2 si no se hace con ninguna de las anteriores.

41. Comprensión sobre la prescripción para *P. falciparum*: se registra 1 si después de recibir la atención el paciente no entiende como se debe tomar el esquema de tratamiento, y 2 si comprendió.

42. Comprensión sobre la prescripción para *P. vivax*: se registra 1 si después de recibir la atención el paciente no entiende como se debe tomar el esquema de tratamiento, y 2 si sí comprendió.

Comprensión sobre la prescripción para Infección Mixta: se registra 1 si después de recibir la atención el paciente no entiende como se debe tomar el esquema de tratamiento, y 2 si sí comprendió.

V. DISPENSACIÓN

43. Entrega de blísteres de Coartem (Artemeter+ Lumefantrina) de acuerdo con la edad: se marca 1 si se entrega blíster que no corresponde con la edad del paciente, y 2 si sí corresponde.

44. Entrega de esquema incompleto, según el tipo de esquema se marca 1 si es incompleto, y 2 si es completo.

45. Entrega de tabletas extraídas de blíster: según el tipo de esquema se marca 1 si se entregan tabletas extraídas del blíster, y 2 si no ocurre esto.

46. Entrega de tabletas fraccionadas: según el tipo de esquema se marca 1 cuando se entregan tabletas fraccionadas, y 2 cuando no ocurre esta situación.

VI. NOTIFICACIÓN

47. Existencia de formatos de notificación individual: se registra 1 si existen formularios suficientes para la notificación, y 2 si no son suficientes o no existen.

48 y 49. Detección de errores en la notificación: se revisan los registros para identificar errores en la definición de lugar probable de la infección y errores en la clasificación de caso nuevo vs “No nuevo”. La información se registra así: se marca 1 si la respuesta es positiva y se marca 2 si la respuesta es negativa.

50. Ausencia de información en la ficha de notificación individual: mediante observación en lo posible revisar al menos 30 fichas de notificación y registrar el número de fichas que se lograron revisar. Se registra el número de notificaciones en blanco o con errores en las variables: edad, embarazo (esta variable solo debe ser tomada en cuenta cuando son mujeres en edad fértil de 10 a 54 años.), fecha de inicio de los síntomas, localidad de origen de la infección, diagnóstico por especie parasitaria, tratamientos entregados y tipo de caso: si es nuevo o No nuevo.

51. Existencia de fichas de notificación de efectos adversos: se registra 1 si existen fichas para notificar efectos adversos en el PD y 2 si no existen.

VII. ACCIONES TOMADAS

52. Se registran las deficiencias encontradas en el puesto, las acciones tomadas y las acciones de mejora acordadas con el responsable del PD.

Al final de la ficha se registra el nombre, firma corta e identificación de la persona responsable por la atención en el PD. De igual forma, el supervisor debe firmar la ficha y registrar su identificación. **Se deja una copia en el puesto de diagnóstico.**

CONTROL DE CALIDAD

La información contenida en la ficha debe ser confiable y veraz. Se requiere diligenciamiento de todos los campos, con letra legible, sin enmendaduras y atendiendo las instrucciones de llenado indicadas en el presente instructivo y sin dejar espacios en blanco. La información contenida en la ficha, se verificará con la ficha de notificación individual de casos de malaria (SIVIGILA) y en algunos casos con visita de monitoreo al puesto supervisado.

LISTA DE CHEQUEO PARA DOTACIÓN MÍNIMA DE UN PUESTO DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE MALARIA POR PDR

Un puesto de diagnóstico y tratamiento de Malaria por PDR debe como mínimo, contar con:

DOTACIÓN Y REQUISITOS MÍNIMOS DE UN PUESTO DE PDR	SI	NO
EQUIPOS		
Balanza pesa personas		
INSUMOS PARA TOMA DE MUESTRA Y ELEMENTOS DE BIOSEGURIDAD BÁSICOS		
Guantes desechables		
Lancetas		

Alcohol antiséptico		
Algodón		
Bolsas rojas y verdes		
Guardianes para elementos corto punzantes		
Caneca con tapa de pedal		
Hipoclorito de sodio		
Jabón yodado		
Papel absorbente o higiénico		
Reloj cronómetro para laboratorio		
REACTIVOS EMPLEADOS PARA LA PDR		
Dispositivo de la prueba empaçado en su bolsa individual con un desecante		
Diluyente del ensayo (Buffer)		
Aplicador desechable de muestra (5 µL) a manera de asa o pipeta		
Lanceta		
Algodón		
Alcohol		
ELEMENTOS PARA EL TRATAMIENTO		
Medicamentos antimaláricos		
Esquemas de tratamiento por edad y peso		
Bolsas de papel		
Hoja de instrucción para el tratamiento		
ELEMENTOS BÁSICOS DE INFRAESTRUCTURA		
Silla para toma de muestras		
Mesa		
Gabinete archivador (para papelería y almacenamiento de medicamentos).		
Espacio para toma de muestras		
Espacio para procesamiento de muestras		
Espacio para entrega de resultados y medicamentos		
Adecuada luz , ventilación y vertedero con agua		
ELEMENTOS PARA NOTIFICACIÓN		
Ficha de notificación individual de casos para malaria(registros del sistema nacional)		
Registros del programa		
ELEMENTOS DE OFICINA		
Lapicero		
Lápiz		
Borrador		
Marcador de punta extrafina		
Carpetas		
Ganchos legajadores		
Perforadora		
Clips		
Ganchos cosedora		
Cosedora		

INSTRUCTIVO

INFORME DE EXAMENES POR PUESTO DE DIAGNOSTICO DE MALARIA

1. **Departamento:** Escriba el nombre del departamento en donde esté ubicado el puesto de diagnóstico de malaria responsable de realizar esta actividad.
2. **Municipio:** Escriba el nombre del municipio en donde esté ubicado el puesto de diagnóstico de malaria responsable de realizar esta actividad.
3. **Localidad:** Escriba el nombre de la localidad en donde esté ubicado el puesto de diagnóstico de malaria responsable de realizar esta actividad.
4. **Nombre del puesto:** Escriba el nombre del puesto de diagnóstico.
5. **Código del puesto:** Corresponde al código asignado en la caracterización que se hizo por SIVIGILA.
6. **Nombre del responsable:** Corresponde al nombre del encargado de realizar la actividad de diagnóstico.
7. **Fecha del reporte ;** Colocar las fechas a que corresponde el consolidado de las semanas epidemiológicas día / mes / año.
8. **Semana Epidemiológica ;** Escriba la semana epidemiológica que se consolida.

Numero de Gotas Gruesas:

9. **Busqueda Pasiva :** corresponde a los diagnosticos realizados en los puestos de diagnostico.
10. **Busqueda Activa :** corresponde a los diagnosticos realizados fuera del puesto de diagnostico.
11. **Positiva** corresponde a los diagnosticos positivos para *Plasmodium* u otro hemoparasito.
12. **Negativas** corresponde a los diagnosticos negativos para hemoparasitos.
13. **Pf :** escriba el numero total de casos positivos para *Plasmodium falciparum*.
14. **Pv:** escriba el numero total de casos positivos para *Plasmodium vivax*.
15. **Im :** escriba el numero total de casos positivos para infeccion mixta por *Plasmodium*.
16. **Pm :** escriba el numero total de casos positivos para *Plasmodium malariae*.
17. **Otro:** escriba el numero total de casos positivos para hemoparasitos como Tripanosoma o filarias.

Numero de Pruebas de Diagnostico Rapido:

18. **Busqueda Pasiva :**
19. **Busqueda Activa :** corresponde a los diagnosticos realizados fuera del puesto de diagnostico.
20. **Positiva** corresponde a los diagnosticos positivos para *Plasmodium* u otro hemoparasito.
21. **Negativas** corresponde a los diagnosticos negativos.
22. **Pf :** escriba el numero total de casos positivos para *Plasmodium falciparum*.
23. **Pv:** escriba el numero total de casos positivos para *Plasmodium vivax*.
24. **Im :** escriba el numero total de casos positivos para infeccion mixta por *Plasmodium*.
25. **Pm :** escriba el numero total de casos positivos para *Plasmodium malariae*.
26. **Observaciones:** Escriba algún comentario de interés que no haya podido plasmar en las anteriores casillas.
27. **Firma del responsable del puesto de diagnostico.**
28. **Fecha de entrega de informe :** corresponde al día en que se entrega no cuando se realiza el consolidado día mes año.

Todas las casillas deben ser diligenciadas, en caso de no tener numero de casos marcar 0. No dejar tachones ni enmendaduras.

REFERENCIAS

1. **Instituto Nacional de Salud.** Guía protocolo para la vigilancia en salud pública en malaria, 2010. [Fecha de consulta:10 de septiembre de 2013]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/temas-de-interes/Documentacion%20Malaria/01%20Protocolo%20Malaria.pdf>
2. **Ministerio de la Protección Social.** Guía para la atención clínica integral del paciente con malaria, 2010. [Fecha de consulta:20 de septiembre de 2013]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/temas-de-interes/Documentacion%20Malaria/02%20Clinica%20Malaria.pdf>
3. **Ministerio de Salud.** Guía integral de manejo de las enfermedades transmitidas por vectores, 1996.
4. **Mendoza NM, Nicholls RS, Olano VA, Cortés LJ.** Manejo integral de malaria. Santa Fé de Bogotá: Instituto Nacional de Salud, 2000.
5. **World Health Organization.** Basic malaria microscopy. Part I. learner´s Guide. Geneva: WHO; 2010.
6. **Organización Mundial de la Salud.** Test. Treat. Track. Ampliando el diagnóstico, tratamiento y vigilancia de la malaria. Geneva: WHO; 2012. [Fecha de consulta: 10 de octubre de 2013]. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=18268&Itemid=
7. **Sturrock HJW, Hsiang MS, Cohen JM, Smith DL, Greenhouse B, et al. (2013).** Targeting Asymptomatic Malaria Infections: Active Surveillance in Control and Elimination. PLoS Med 10(6): e1001467. doi:10.1371/journal.pmed.1001467. [Fecha de consulta: 1 de junio de 2013]. Disponible en: <http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.1001467>
8. **World Health Organization.** New perspectives malaria diagnosis. Geneva: WHO;2000. .
9. **World Health Organization.** Universal access to malaria diagnostic testing. Geneva: WHO; 2011. [Fecha de consulta: 2 de febrero de 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241502092/en/>
10. **World Health Organization.** Malaria microscopy quality assurance manual. Geneva: WHO; 2009.

DISEÑO, DIAGRAMACIÓN E IMPRESIÓN





Departamento de Amazonas

