



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Callao, ²¹ de ^{ABRIL} de 2015

Visto, el Informe N° 028-2015-GRC/DIRESA/DLSP de fecha 13.ABR.2015, emitido por la Directora de la Dirección de Laboratorio de Salud Pública; y,

CONSIDERANDO:

Que, el artículo 122 de la Ley 26842 – Ley General de Salud, establece que: "La autoridad de salud se organiza y se ejerce de manera descentralizada entre los niveles de Gobierno Nacional, Gobierno Regional y Gobierno Local, de conformidad con las normas que regulan el sector salud y dentro del marco de la Constitución Política del Perú, de la Ley 27657, Ley del Ministerio de Salud; de la Ley 27867, Ley Orgánica de los Gobiernos Regionales; y de las leyes especiales que regulan distintos aspectos de la salud.";

Que, el presente Manual de procedimientos describe y presenta formalmente los procedimientos requeridos de la Toma de muestra y procedimientos laboratoriales para descartar de Malaria, siendo un instrumento técnico descriptivo de gestión y de sistematización normativa con carácter instructivo e informativo que tiene como finalidad estandarizar criterios técnicos para normar los procedimientos, a fin de coadyuvar al cumplimiento de sus metas y funciones en concordancia con los objetivos trazados por la DIRESA CALLAO;

Que, la malaria es una enfermedad parasitaria y transmisible que por siglos ha representado una amenaza para la salud del hombre y la economía de los países endémicos;

Que, la Organización Mundial de la Salud estima que anualmente ocurren más de 300 millones de infecciones de malaria y que, 1,5 a 2,5 millones de personas fallecen como consecuencia de esta enfermedad. Esto supone una amenaza para 200 millones de personas, dado que deteriora la salud y bienestar de la población económicamente activa, mermando los escasos recursos de muchos países en vías de desarrollo;

Que, en nuestro país, la población residente en riesgo de enfermar es de aproximadamente 19 millones de habitantes, con un patrón de comportamiento temporal y estacional asociado geográficamente a zonas tropicales y desérticas irrigadas de la costa norte, selva montañosa, selva central y suroriental y la Cuenca Amazónica oriental del país. El comportamiento y tendencia de la enfermedad malárica tiene un patrón en las áreas fronterizas y en el nororiente del Perú, con diseminación a valles interandinos;

Que, esta población en riesgo ha sido clasificada en áreas definidas de alto, mediano y bajo riesgo de transmisión, presentando el mayor número de casos los departamentos de Loreto, Piura, Tumbes, San Martín, Junín y Madre de Dios;

Que, el citado Manual de Procedimientos para el descarte laboratorial de malaria tiene como propósito contribuir a que el personal de los laboratorios pertenecientes a la Dirección Regional de Salud del Callao, cuente con procedimientos estandarizados. En el futuro estos procedimientos pueden ser mejorados o reemplazados por otros;

Que, es política de la Dirección Regional de Salud del Callao el establecimiento de un Sistema de Gestión de la Calidad en la Dirección de Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA, como un mecanismo para asegurar el mejoramiento continuo en la investigación científica aplicada en salud y en la prestación de servicios especializados requeridos por nuestros usuarios;

Que, es objetivo establecer formalmente los procedimientos requeridos para la obtención, embalaje y transporte de muestras de pacientes sospechosos de malaria, así como los

procedimientos de laboratorios para su diagnóstico, procedimiento que forma parte de la Dirección de Laboratorio de Salud Pública, que tiene como objetivo establecer las pautas necesarias con respecto a las funciones que realiza el personal, a fin de lograr uniformidad en la ejecución de los procedimientos acciones y controlar el cumplimiento de la rutina de trabajo del personal que labora en el diagnóstico laboratorial de Malaria, como también de los trabajadores nuevos y al personal que cumple capacitación o pasantía en la Red de Laboratorios de los Establecimientos de Salud;

Que, las normas contenidas en el presente Manual son de aplicación para todo el personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la Dirección Regional de Salud del Callao y en los laboratorios de las tres Direcciones de Redes de Salud de la Dirección Regional de Salud del Callao;

De conformidad con la Ley 26842 – Ley General de Salud, Ley 27657 - Ley del Ministerio de Salud; Ley 27867, Ley Orgánica de los Gobiernos Regionales; y de las leyes especiales que regulan;

Estando a lo propuesto por la Directora de Laboratorio de Salud Pública de la Dirección Regional del Salud del Callao;

Con el visado de la Directora de la Oficina de Asesoría Jurídica de la Dirección Regional de Salud del Callao; y

En uso de las atribuciones y facultades conferidas al Director General de la Dirección Regional de Salud del Callao, mediante la Resolución Ejecutiva Regional N° 000604-2013;

SE RESUELVE:

ARTÍCULO PRIMERO: Apruébese el "MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA DIAGNOSTICO LABORATORIAL DE MALARIA" de la Dirección de Laboratorio de Salud Pública de la Dirección Regional de Salud del Callao, que consta de 53 PÁGINAS, y contiene 05 CAPÍTULOS y sus ANEXOS el cual forma parte integrante de la presente Resolución.-----

ARTÍCULO SEGUNDO: La Dirección de Laboratorio de la Dirección Regional de Salud del Callao es responsable de cumplir y supervisar el cumplimiento de las disposiciones contenidas en el presente Manual. -----

ARTÍCULO TERCERO: Dispóngase que la Oficina de Comunicaciones publique la presente resolución en el portal institucional de la página Web de la Dirección Regional de Salud del Callao.-----

ARTÍCULO CUARTO: Notifícase la presente Resolución Directoral a los estamentos administrativos correspondientes para su conocimiento y fines pertinentes.-----

Regístrese y comuníquese.

 GOBIERNO REGIONAL DEL CALLAO
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD DEL CALLAO

Dr. RICARDO ALDO LAMA MORALES
Director General
C. M. P. 12555

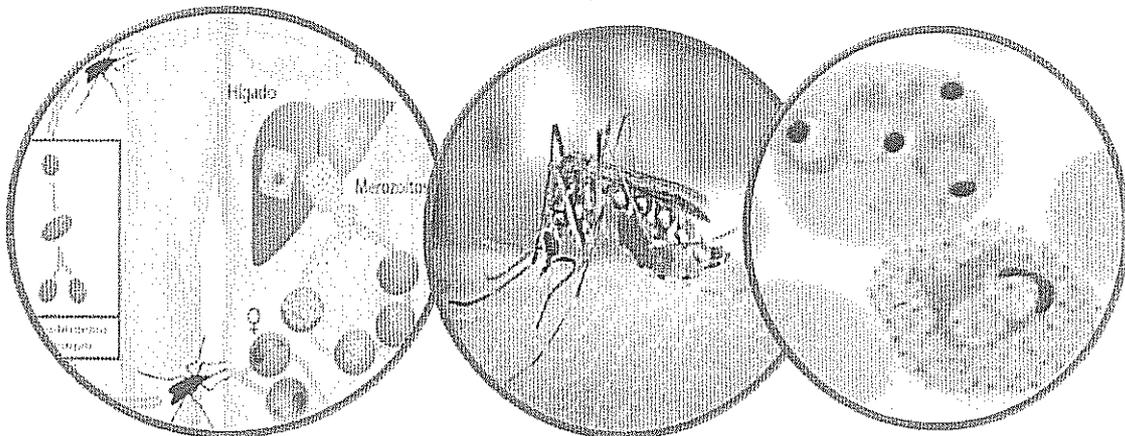


GOBIERNO REGIONAL DEL CALLAO
DIRECCION REGIONAL DE SALUD DEL CALLAO

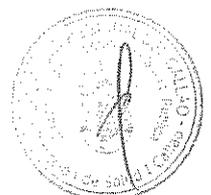


MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA DIAGNOSTICO LABORATORIAL DE MALARIA

DIRECCIÓN DE LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA
DIRESA CALLAO



AÑO - 2015



INDICE

	<i>Pag.</i>
1. INTRODUCCION	02
2. DATOS GENERALES	
2.1. Objetivo	03
2.2. Alcance	03
3. DISPOSICIONES GENERALES	04
4. CUADRO DE IDENTIFICACION DE PROCESOS Y SUB PROCESOS	05
5. DATOS DEL PROCEDIMIENTO:	
5.1. Toma de Muestra de Gota Gruesa.	06-09
5.2. Preparación de Muestras	10-12
5.3. Embalaje, Remisión y Transporte de Muestras	13-15
5.4. Preparación de Muestras para Gota Gruesa y Frotis	16-17
5.5. Examen de Rutina de Gota Gruesa	18-20
5.6. Examen de Rutina de Frotis	21-23
5.7. Procedimientos para la Coloración de la Muestra Hemática	24-28
5.8. Observación microscópica de los parásitos	29-31
5.9. Diagnóstico Inmunológico de Malaria	32-38
5.10. Actividades de Laboratorio	39-41
5.11. Actividades de Nivel Local	42-43
5.12. Supervisión Directa a los Laboratorios	44-46
6. ANEXOS	47-52
7. BIBLIOGRAFIA	53



1.- INTRODUCCIÓN.-

El presente Manual de Procedimientos describe y presenta formalmente los procedimientos requeridos de la Toma de muestra y procedimientos laboratoriales para descarte de Malaria, siendo un instrumento técnico descriptivo de gestión y de sistematización normativa con carácter instructivo e informativo, que tiene como finalidad estandarizar criterios técnicos para normar los procedimientos, a fin de coadyuvar al cumplimiento de sus metas y funciones, en concordancia con los objetivos trazados por la DIRESA CALLAO.

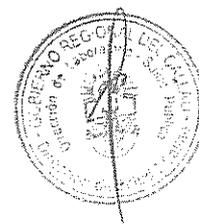
La malaria es una enfermedad parasitaria y transmisible que por siglos ha representado una amenaza para la salud del hombre y la economía de los países endémicos.

La Organización Mundial de la Salud estima que anualmente ocurren más de 300 millones de infecciones de malaria y que, 1,5 a 2,5 millones de personas fallecen como consecuencia de esta enfermedad. Esto supone una amenaza para 200 millones de personas, dado que deteriora la salud y bienestar de la población económicamente activa, mermando los escasos recursos de muchos países en vías de desarrollo.

En nuestro país, la población residente en riesgo de enfermar es de aproximadamente 19 millones de habitantes, con un patrón de comportamiento temporal y estacional asociado geográfica y ecológicamente a zonas tropicales y desérticas irrigadas de la costa norte, selva montañosa, selva central y suroriental y la Cuenca Amazónica oriental del país. El comportamiento y tendencia de la enfermedad malárica tiene un patrón en las áreas fronterizas y en el nororiente del Perú, con diseminación a valles interandinos.

Esta población en riesgo ha sido clasificada en áreas definidas de alto, mediano y bajo riesgo de transmisión, presentando el mayor número de casos los departamentos de Loreto, Piura, Tumbes, San Martín, Junín y Madre de Dios.

El presente manual de procedimientos para el descarte laboratorial de malaria tiene como propósito contribuir a que el personal de los laboratorios pertenecientes a la Dirección Regional de Salud del Callao cuente con procedimientos estandarizados. En el futuro estos procedimientos pueden ser mejorados o reemplazados por otros.



2.- DATOS GENERALES

2.1 OBJETIVO:

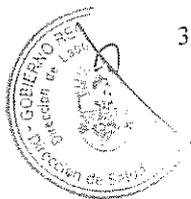
Establecer formalmente los procedimientos requeridos para la obtención, embalaje y transporte de muestras de pacientes sospechosos de malaria, así como los procedimientos laboratoriales para su diagnóstico, procedimiento que forma parte de la Dirección de Laboratorio de Salud Pública, que tiene como objetivo establecer las pautas necesarias con respecto a las funciones que realiza el personal, a fin de lograr uniformidad en la ejecución de los procedimientos, acciones y controlar el cumplimiento de la rutina de trabajo del personal que labora en el diagnóstico laboratorial de Malaria, como también de los trabajadores nuevos y al personal que cumple capacitación o pasantía en la Red de Laboratorios de los Establecimientos de Salud.

2.2 ALCANCE:

Las normas contenidas en el presente manual son de aplicación para todo el personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios de las tres Direcciones de Redes de Salud de la Dirección Regional de Salud del Callao.

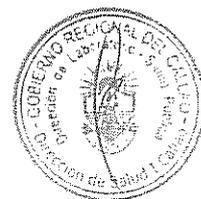
2.3 RESPONSABILIDAD:

- El Encargado del Laboratorio de Metaxénicas es el responsable de cumplir y supervisar el cumplimiento de las disposiciones contenidas en el presente manual.
- Los Responsables de los Laboratorios son responsables de mantener la competencia técnica de su personal, la idoneidad y confiabilidad de sus equipos, materiales, insumos, reactivos e instalaciones. Además deben verificar el correcto envío de resultados y supervisar el cumplimiento de las Medidas de Bioseguridad.
- El Responsable de Garantía de Calidad es el responsable de realizar los controles de calidad en cada uno de los pasos desde la toma de muestra hasta el resultado final, así como todas actividades que involucran cada uno de los procesos.
- La administración del establecimiento de salud debe dar las facilidades para que las normas de bioseguridad se cumplan.



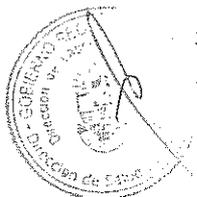
3.- DISPOSICIONES GENERALES:

- ✓ Todas las muestras deben ser tratadas como altamente infecciosas para evitar el posible contagio.
- ✓ Toda persona que manipula sangre o sus derivados, deben estar vacunadas contra el virus de la hepatitis B.
- ✓ El ingreso al laboratorio debe estar restringido.
- ✓ Debe utilizarse siempre guardapolvo o mandilones de laboratorio en la zona de trabajo.
- ✓ El guardapolvo no debe salir de la zona del laboratorio, salvo para enviarlo a lavar.
- ✓ No pipetear con la boca
- ✓ Está prohibido comer, beber, fumar, guardar alimentos, ni aplicarse cosméticos en el laboratorio.
- ✓ El cabello largo debe usarse recogido y cubierto.
- ✓ Lavarse las manos luego de quitarse los guantes y antes de salir del laboratorio
- ✓ Utilizar protección para los ojos cuando el procedimiento genere gotas o aerosoles
- ✓ Utilizar siempre guantes esterilizados y mascarillas.
- ✓ Las cortaduras o rasguños en las manos y brazos deben cubrirse y protegerse bien antes de colocarse los guantes.
- ✓ Ante cualquier accidente avisar a su jefe inmediato.
- ✓ Usar zapatos cerrados (no usar sandalias o zapatos abiertos)
- ✓ El procesamiento de las muestras debe realizarse sobre una superficie de trabajo protegida (papel absorbente plastificados o papel filtro)
- ✓ La extracción, centrifugación y separación de los sueros debe realizarse usando guantes descartables
- ✓ Las agujas usadas no deben devolverse al capuchón de plástico sino colocarlas en recipiente especial de acuerdo al manual de bioseguridad, luego de lo cual se procederá a eliminar de acuerdo a las disposiciones de bioseguridad.
- ✓ Las superficies de trabajo deben ser descontaminadas por el operador antes y después de cada actividad.
- ✓ Todos los desechos del laboratorio deben descontaminarse adecuadamente antes de eliminarlos en solución desinfectante y ser autoclavados a 121°C durante 20 minutos o incinerarse.
- ✓ Se debe limpiar a diario los pisos con un trapeador limpio y solución desinfectante. No barrer.
- ✓ El material de bioseguridad guantes, mandilones descartables mascarillas, etc. deberá colocarse en bolsa de autoclave y esterilizarse antes de ser definitivamente eliminado.
- ✓ El coágulo y suero innecesarios, deben eliminarse en un recipiente con desinfectante (por ejemplo una solución de agua y lejía al 5%).
- ✓ Sólo se debe eliminar en el sistema de desagüe, los agentes biológicos y químicos, previamente descontaminados, neutralizados o inactivos.



ARTICULO 1: CUADRO DE IDENTIFICACIÓN DE PROCESOS Y SUB PROCESOS, INDICANDO LOS PROCEDIMIENTOS QUE LO CONFORMAN:

PROCESOS	SUBPROCESOS	PROCEDIMIENTOS
<p>PROTECCIÓN, RECUPERACIÓN Y REHABILITACIÓN DE LA SALUD</p>	<p>PREVENCIÓN DE RIESGO DE SALUD</p>	001. Toma de Muestra de Sangre para Gota Gruesa para descarte de malaria
		002. Preparación de Muestras
		003. Embalaje, Remisión y Transporte de Muestras
		004. Preparación de Muestras para Gota Gruesa y Frotis
		005. Examen de Rutina de Gota Gruesa y Frotis
		006. Procedimientos para la Coloración de la Muestra Hemática
		007. Actividades de Laboratorio
		008. Supervisión Directa a los Laboratorios



PROCEDIMIENTOS

FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO			
PROCESO (1): Protección, recuperación y rehabilitación de la salud Subproceso: Prevención de riesgo de salud			
NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)	TOMA DE MUESTRA DE SANGRE PARA GOTA GRUESA PARA EL DIAGNOSTICO DE MALARIA	FECHA (3)	03/03/2015
		CÓDIGO (4)	DLSP: 001
PROPÓSITO (5): Obtener la muestra de sangre óptima para el diagnóstico laboratorial de Malaria. Un resultado diagnóstico preciso depende de la buena calidad de la muestra de sangre. La toma de muestra debe realizarse siguiendo las recomendaciones indicadas. Las muestras con cantidades insuficientes de sangre y las muestras en mal estado pueden dar lugar a resultados falsos.			
ALCANCE (6): Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.			
MARCO LEGAL (7): <ul style="list-style-type: none"> • Ley N° 26842- Ley General de Salud • Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud • Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM • Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos) 			
ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)			
INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
• Número de muestras	Muestra	Hoja de registro de la toma de muestras para descarte de Malaria	Encargado de Laboratorio
• Toma adicional de muestra x muestra no válida	Muestra	Hoja de registro de la toma de muestras para descarte de Malaria en columna de observaciones	Encargado de Laboratorio
NORMAS (9)			
<ul style="list-style-type: none"> • Resolución Ministerial N.° 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores? • Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú 			



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)

INICIO

INDICACIONES PREVIAS:

- La muestra debe ser obtenida de preferencia antes de que el paciente haya recibido tratamiento antimalárico.
- Las láminas portaobjeto para uso de toma de muestra hemática en gota gruesa deberán ser procesadas antes de su uso, (lavadas, secadas y almacenadas correctamente).
- Las láminas nuevas son lavadas con detergente neutro y agua limpia. Después de estar remojadas en agua con detergente por 30 minutos a 1 hora, enjuagar con agua continua o cambiada varias veces.
- Cada lámina deberá ser pulida individualmente con esponja para luego secarlas con un trozo de tela de algodón.
- Las láminas más limpias deberán cogerse sólo por los bordes para evitar dejar grasa sobre su superficie.
- Es preferible descartar láminas portaobjeto cuando:
 - Tengan coloración iridiscente u opaca.
 - Presenten rajaduras o superficies irregulares.
 - No estén limpias.
- Las láminas portaobjetos limpias podrán ser envueltas en papel delgado (papel copia) en grupos de 10.
- Los paquetes así seleccionados para uso de toma de muestra serán almacenados en cajas de cartón y en lugares secos (evitando polvo y humedad) para uso posterior, y separando simultáneamente las de uso diario.
- Es necesario tomar medidas de protección cuando se manipula sangre para evitar la contaminación con agentes de transmisión sanguínea (hepatitis viral B, C, G, VIH, etc.) cuya manipulación representa un riesgo potencial.

DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS PARA LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA:

a) MATERIALES

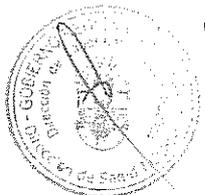
- Lancetas retractiles
- Compresas y torundas de algodón.
- Alcohol de 70%
- Recipientes de paredes rígidas para traslado de laminas
- Contenedor de desechos corto punzantes
- Hipoclorito de sodio 3 a 5 %
- Lápiz de carbón
- Laminas portaobjetos limpias.



<p>TERMINO</p>	<p>b) TOMA DE MUESTRA</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ En malaria, la muestra de sangre periférica se obtiene para preparar dos clases de películas, una gruesa y una delgada (gota gruesa y frotis, respectivamente), para su examen por microscopía directa. ➤ Vestir con mandil y usar guantes ➤ Recibir y revisar la documentación traída por el usuario. (Solicitud de vigilancia Epidemiológica). Incluir en los datos el número de dosis antisarampionosa recibidas y fecha de vacunación de la última dosis. ➤ Identificar al paciente. La identificación correcta es crucial. ➤ Asegurar que la muestra de sangre se está tomando del paciente cuyo nombre está en la solicitud. ➤ Preguntar al paciente por su nombre completo. ➤ Si hubiera alguna duda solicitar al paciente Documento de Identidad. ➤ Preparar las láminas, lancetas, algodón y alcohol a utilizar ➤ Asignar una clave o código de identificación a la muestra. ➤ Sostener la mano izquierda del paciente, con la palma hacia abajo seleccionar el tercer dedo a partir del pulgar o el dedo índice (El dedo gordo del pie puede ser utilizado en niños). ➤ Limpiar el dedo con una pieza o torunda de algodón ligeramente humedecido en alcohol, utilizando golpes firmes para retirar suciedad y grasa de la yema del dedo. ➤ Secar el dedo con un algodón limpio y seco, utilizando golpes firmes para estimular la circulación de la sangre. ➤ Sostener el dedo del paciente con la mano izquierda, tomándolo por sus lados y manteniendo una suave presión sobre ellos para favorecer la salida de sangre. ➤ Pinchar el borde de la yema del dedo con una lanceta estéril y un movimiento rápido, presionar suavemente el dedo para extraer la primera gota de sangre y limpiar con una torunda de algodón seco. ➤ Asegúrese que ninguna hilacha de algodón, que pueda mezclarse posteriormente con la sangre, permanezca en el dedo trabajando rápidamente y manipulando láminas completamente limpias. ➤ Colectar la sangre de la siguiente forma: Aplique suave presión al dedo para extraer una gota de sangre y colocarla inmediatamente en contacto con el primer tercio externo de la superficie de la lámina. Que el tamaño de esta gota sea aproximadamente del tamaño de una cabeza de fósforo. ➤ Presionar nuevamente el dedo y colectar una segunda gota de sangre más pequeña que la primera, en el centro de la lámina, para realizar el frotis. ➤ Limpiar la sangre restante del dedo con una torunda de algodón humedecido en alcohol e indicar al paciente que presione esta torunda contra el lugar de la punción por 5 minutos. ➤ Rotular las láminas ➤ Registrar datos del paciente, prueba a realizar y código asignado y/o alguna observación en el cuaderno de registro.
----------------	--



ENTRADA (11)			
NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Orden para análisis de malaria	Archivos	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético
SALIDAS (12)			
NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Resultado del análisis	Establecimiento solicitante	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético
DEFINICIONES (13): Consiste en la punción de una vena para la extracción de una muestra sanguínea. Actualmente es de empleo generalizado el sistema de extracción con tubos de vacío. La región utilizada para la venopunción suele ser la fosa antecubital.			
REGISTROS (14): Solicitud de análisis Resultados de análisis			
ANEXOS (15):			



FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

PROCESO (1):

Protección, recuperación y rehabilitación de la salud
Subproceso: Prevención de riesgo de salud

NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)	PREPARACION DE MUESTRAS	FECHA (3)	03/03/2015
		CÓDIGO (4)	DLSP: 001

PROPÓSITO (5):

Obtener la muestra de sangre óptima para el diagnóstico laboratorial de Malaria.
Un resultado diagnóstico preciso depende de la buena calidad de la muestra de sangre.

ALCANCE (6):

Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.

MARCO LEGAL (7):

- Ley N° 26842- Ley General de Salud
- Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
- Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM
- Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos)

ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)

INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
• Número de muestras preparadas	Muestra preparada	Registros	Encargado de Laboratorio
• Preparación adicional de muestra no válida	Muestra preparada	registros	Encargado de Laboratorio

NORMAS (9)

- Resolución Ministerial N.° 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores
- Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)

INICIO

A. PROCEDIMIENTO PARA EL SECADO DE LAS MUESTRAS HEMÁTICAS

- Las láminas con las muestras de sangre deben permanecer horizontalmente, lo que va a permitir que la gota gruesa esté en un mismo nivel y seque uniformemente.
- Proteger las muestras con la ayuda de pequeños mosquiteros para alejarlas de dípteros y otros insectos, así como del polvo.
- En climas húmedos y cálidos, la autofijación de las muestras ocurre muy rápidamente, por lo tanto deben ser coloreadas cuanto antes, a más tardar en un plazo no mayor de tres días luego de su colección.

B. ERRORES COMUNES EN LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS HEMÁTICAS

La preparación incorrecta de la muestra hemática puede afectar el etiquetado, la coloración o el examen y, a veces, más de uno de estos. Las fallas más comunes que deben evitar cometerse son:

➤ Mala posición de las muestras de sangre

Las películas de sangre deberán estar situadas correctamente en la lámina. Si no es así, puede dificultar el examen de gota gruesa; incluso porciones de la muestra pueden ser lavadas durante el proceso de coloración.

➤ Mucha sangre

Si se obtiene demasiada sangre al coleccionar la gota gruesa, entonces la coloración puede quedar muy básica (azul), significando que se observarán muchas células blancas por campo pudiendo estas oscurecer o cubrir algunos parásitos de malaria que pueden estar presentes. Si el extendido es demasiado grueso, los glóbulos rojos pueden estar unos encima de otros imposibilitando el examen adecuado después de la fijación.

➤ Poca sangre

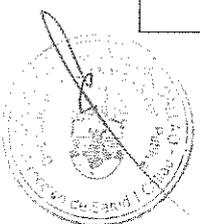
Si se emplea poca sangre en la preparación de las muestras, no habrá suficientes células blancas por campo y no se examinará suficiente cantidad de sangre como lo establece la norma.

➤ Lámina con grasa

En una lámina sin desengrasar, la sangre se esparcirá irregularmente, lo que hará difícil el examen; por otro lado, parte de la gota gruesa en algunos casos puede desprenderse durante el proceso de coloración.

➤ Si el borde de la lámina extensora es irregular

Cuando el borde de la lámina empleada como extensora está astillada, el frotis es esparcido irregularmente, afectándose la



TERMINO	<p>calidad del frotis.</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ El frotis demasiado grande y la gota gruesa mal ubicada Si el frotis es demasiado grande, la gota gruesa estará fuera de lugar, cerca al borde de la lámina, entonces no podrá ser visto fácilmente a través del microscopio. Durante el proceso de coloración o secado porciones de la gota gruesa probablemente pueden ser desprendidas. ➤ Mala posición de las muestras de sangre Las películas de sangre deberán estar situadas adecuadamente en la lámina, ya que puede dificultar el examen de gota gruesa, incluso porciones de la muestra pueden ser lavadas durante el proceso de coloración. ➤ Otros errores comunes Dejar las láminas expuestas a moscas, cucarachas, hormigas y otros insectos que se alimentan de sangre seca y dañan las muestras de sangre. Realizar gotas y frotices en muestras de sangre en láminas mal seleccionadas o rayadas. Secado irregular de la gota gruesa. Permitir la auto fijación de la gota gruesa que ocurre con el transcurrir del tiempo o a través de la exposición al calor, por lo que la coloración se hace difícil e insatisfactoria
----------------	--

ENTRADA (11)

NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Muestra sin preparar	Registros	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

SALIDAS (12)

NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Muestra preparada según criterios	Laboratorio	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

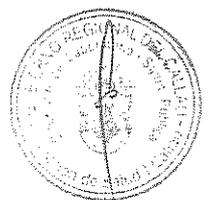
DEFINICIONES (13):

Preparación de muestra: Procedimiento por el cual se pone la muestra en condiciones de ser procesada.

REGISTROS (14):

Registros de Laboratorio

ANEXOS (15)



FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

PROCESO (1):

Protección, recuperación y rehabilitación de la salud

Subproceso: Prevención de riesgo de salud

NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)	EMBALAJE , REMISION Y TRANSPORTE DE MUESTRAS	FECHA (3)	03/03/2015
		CÓDIGO (4)	DLSP: 001

PROPÓSITO (5):

Disponer de una muestra óptima para el diagnóstico laboratorial de Malaria.

Un resultado diagnóstico preciso depende de la buena calidad de la muestra de sangre.

ALCANCE (6):

Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.

MARCO LEGAL (7):

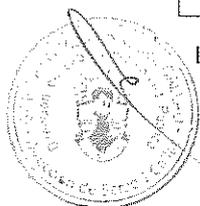
- Ley N° 26842- Ley General de Salud
- Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
- Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM
- Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos)

ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)

INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
• Número de muestras aceptadas	Muestra aceptada	Registros	Encargado de Laboratorio. Encargado de UTM
• Número de muestras rechazadas	Muestra rechazada	Registros	Encargado de Laboratorio. Encargado de UTM

NORMAS (9)

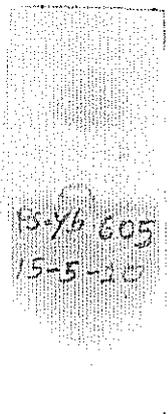
- Resolución Ministerial N.° 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores.
- Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)

<p>INICIO</p>	<p>A) EMBALAJE:</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Si no existiera centro de diagnóstico, envuelva la lámina seca en el formato de registro del paciente y enviar al Laboratorio de Referencia tan pronto como sea posible.✓ Enviar las muestras de gota gruesa al establecimiento de salud más cercano para obtener el diagnóstico.✓ Las muestras deben ser colocadas para su envío en un recipiente apropiado para su transporte a laboratorio con la finalidad de evitar cualquier rotura.✓ Introducir las muestras en una funda plástica resistente o en una caja porta láminas <p>B) REMISION Y TRANSPORTE</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Enviar todas las muestras debidamente rotuladas y embaladas.✓ Indicar los datos correctos del paciente, fecha de la toma de muestra escrito con lápiz en la cinta adhesiva o esparadrapo. No emplear tinta ni cinta de papel ya que son vulnerables a la humedad. Proteger la información de todo daño o humedad, colocarla en la parte exterior de la caja de embalaje protegida, preferiblemente por una envoltura plástica.✓ La caja o cooler debe poseer exteriormente flechas y una leyenda acerca de la posición en las que se encuentran las muestras y con las indicaciones de urgente, frágil, material médico, posición vertical, entrega inmediata, teléfono y dirección del destinatario.✓ No abrir la caja sin autorización, material peligroso y contaminante.✓ El personal encargado del transporte en este caso será el personal motorizado, quién se encargará de llevar la muestra a su destino. <p>C) RECOMENDACIONES PARA EL ENVÍO DE LÁMINAS</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Las láminas al momento del envío deben estar libres de aceite de inmersión. Para ello se debe eliminar todo resto de aceite mediante absorción al contacto con papel toalla o papel higiénico.✓ El embalaje se hará con cartón corrugado y asegurado con pabilo, a fin de evitar el deterioro o rotura de las láminas.✓ Para el envío de las muestras tienen que estar debidamente codificadas (código de establecimiento de salud, código de lámina y fecha),✓ Separar las muestras una de otra, mediante una lámina de papel o envueltas individualmente y colocadas en una
---------------	---



TERMINO	<p>caja o envase resistente para evitar su deterioro durante el transporte</p> <p>MODELO DE LÁMINA DE GOTA GRUESA CODIFICADA PARA ENVIO</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Figura 1</p>
----------------	--

ENTRADA (11)

NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Muestra extraída para Dx de malaria	Registros	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

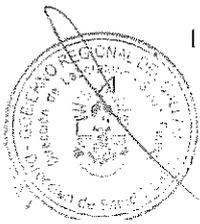
SALIDAS (12)

NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Muestras embaladas y transportadas	laboratorio	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

DEFINICIONES (13):
 Transporte de muestras: Desplazamiento de muestras de acuerdo a las normas establecidas

REGISTROS (14):
 Registros de laboratorio

ANEXOS (15):



FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

PROCESO (1):

Protección, recuperación y rehabilitación de la salud

Subproceso: Prevención de riesgo de salud

NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)

PREPARACION DE MUESTRAS PARA GOTA GRUESA Y FROTIS

FECHA (3)

03/03/2015

CÓDIGO (4)

DLSP: 001

PROPÓSITO (5):

Obtener la muestra de sangre óptima para el diagnóstico laboratorial de Malaria.

Un resultado diagnóstico preciso depende de la buena calidad de la muestra de sangre.

ALCANCE (6):

Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.

MARCO LEGAL (7):

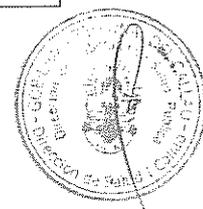
- Ley N° 26842- Ley General de Salud
- Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
- Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM
- Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos)

ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)

INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
<ul style="list-style-type: none"> • Número de muestras preparadas para gota gruesa. • Número de muestras preparadas para frotis. 	Muestra preparada	Registros de laboratorio	Tecnólogo de Labo. Técnico de Laboratorio.
<ul style="list-style-type: none"> • Número de muestras para gota gruesa o frotis mal preparadas 	Muestra preparada	Registros de laboratorio	Tecnólogo de Labo. Técnico de Laboratorio

NORMAS (9)

- Resolución Ministerial N.° 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores.
- Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)

INICIO	<p>A. GOTA GRUESA Una vez obtenida la muestra, procesar la gota gruesa de la siguiente manera:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Utilizando uno de los ángulos de una segunda lámina (lámina auxiliar) esparcir rápidamente la gota de sangre y extenderla uniformemente hasta formar una gota gruesa de 1 cm de lado o de diámetro. ➤ La sangre no debe ser excesivamente revuelta, es suficiente con 3 a 6 movimientos. ➤ Realizar el homogenizado de la muestra en una sola dirección, en forma concéntrica (de adentro hacia fuera o viceversa). <p>B. FROTIS</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Utilizando la misma lámina auxiliar, ponerla en contacto con la superficie de la lámina que contiene la gota central y hacerla correr firmemente a lo largo de su borde en un ángulo de 45°. ➤ Asegurarse de que ocurra un contacto parejo con la superficie de la lámina todo el tiempo que la sangre esté siendo esparcida, de tal manera que el frotis sea homogéneo y fino. ➤ Manipular las láminas por los bordes o por una esquina para realizar el frotis. ➤ Luego de haber secado el frotis, rotular con lápiz de carbón suave, escribiendo el código, número y fecha de la muestra. No utilizar bolígrafo para etiquetar la lámina. Dejar secar la lámina con la gota gruesa en una superficie plana y protegida de polvo, calor e insectos.
TERMINO	

ENTRADA (11)

NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Muestra extraída	Registros	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

SALIDAS (12)

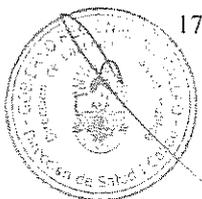
NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Muestra preparada para gota gruesa y frotis	Laboratorio	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

DEFINICIONES (13):

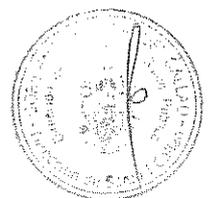
Gota gruesa: Es la extensión de una gota de sangre en forma cuadrangular de un diámetro aproximado de 1 a 1.5 cm.

REGISTROS (14):

Registros de laboratorio



ANEXOS (15):			
FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO			
PROCESO (1): Protección, recuperación y rehabilitación de la salud Subproceso: Prevención de riesgo de salud			
NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)	EXAMEN DE RUTINA DE GOTA GRUESA	FECHA (3)	03/03/2015
		CÓDIGO (4)	DLSP: 001
PROPÓSITO (5): Obtener un resultado de calidad que ayude en el diagnóstico de malaria.			
ALCANCE (6): Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.			
MARCO LEGAL (7): <ul style="list-style-type: none"> • Ley N° 26842- Ley General de Salud • Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud • Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM • Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos) 			
ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)			
INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
• Número de exámenes de gota gruesa	Examen	Registros de laboratorio	Encargado de Laboratorio Encargado de realizar el examen
• % de exámenes de gota gruesa no validados	Examen	Registros de laboratorio	Encargado de Laboratorio. Encargado de realizar el examen
NORMAS (9)			
<ul style="list-style-type: none"> • Resolución Ministerial N.º 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores. • Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú 			



TERMINO	<p>puedan ser ubicados.</p> <ol style="list-style-type: none"> 3. Examinar la gota gruesa completa con el objetivo de 10X, hasta localizar una zona conveniente para la búsqueda de los plasmodia (que se observen leucocitos numerosos y bien coloreados). 4. Colocar aceite de inmersión sobre la zona seleccionada de la gota gruesa y girar el objetivo de 100X hasta ponerlo en posición sobre ella. 5. Bajar el objetivo hasta ponerlo en contacto con el aceite de inmersión. 6. Verificar que la parte seleccionada de la lámina sea óptima (leucocitos de 10 a 20 por campo microscópico). 7. Examinar 100 campos. 8. Desplazar la lámina que contiene la muestra de sangre siguiendo el patrón mostrado (Figura N° 3). <div style="text-align: center;">  <p style="margin: 0;">FROTIS</p> </div> <p style="text-align: center;">Figura N° 3</p> <ol style="list-style-type: none"> 9. Recuerde usar el ajuste fino para enfocar, accionando el tornillo micrométrico hacia delante y atrás, con el fin de observar el mayor número posible de capas sanguíneas. 10. Anotar el número de parásitos observados y la especie a la que pertenecen (si le fue posible identificarla).
----------------	---

ENTRADA (11)

NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Orden para análisis de malaria (gota gruesa)	Registros Laboratorio	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

SALIDAS (12)

NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Resultado de gota gruesa	Establecimiento solicitante	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

DEFINICIONES (13):
UTM: Unidad Tomadora de Muestra

REGISTROS (14):
Registros de laboratorio



ANEXOS (15):

FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

PROCESO (1):

Protección, recuperación y rehabilitación de la salud

Subproceso: Prevención de riesgo de salud

NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)

EXAMEN DE RUTINA DE FROTIS

FECHA (3)

03/03/2015

CÓDIGO (4)

DLSP: 001

PROPÓSITO (5):

Obtener un resultado de frotis de más alta calidad que sirva para diagnosticar malaria.

ALCANCE (6):

Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.

MARCO LEGAL (7):

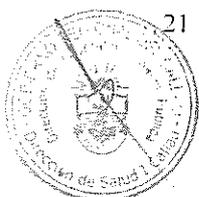
- Ley N° 26842- Ley General de Salud
- Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
- Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM
- Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos)

ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)

INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
N° de exámenes de frotis	Examen	Registros de laboratorio	Encargado de Laboratorio. Encargado de realizar el examen
% de exámenes de frotis no válidos	Examen	Registros de laboratorio	Encargado de Laboratorio. Encargado de realizar el examen

NORMAS (9)

- Resolución Ministerial N.° 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores.
- Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú.



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)

INICIO

- Este examen requiere mayor tiempo de observación en comparación con la gota gruesa, debido a que la concentración de los elementos sanguíneos es mucho menor.
- Se debe realizar en las siguientes circunstancias:
 - a. Cuando no es posible examinar la gota gruesa por alguna razón (Ejemplo: por ser muy pequeña).
 - b. Cuando no es posible identificar en la gota gruesa la(s) especie(s) de Plasmodium.
- El aspecto que debe presentar esta preparación al microscopio debe ser:
 - a. Fondo limpio y libre de residuos los eritrocitos deben estar teñidos de color rosa pálido.
 - b. El núcleo de los leucocitos, de color morado oscuro y gránulos bien definidos.
 - c. Los gránulos de Schuffner deben verse como un moteado en los eritrocitos que contienen *P. vivax*.
 - d. La cromatina de los plasmodia se tiñe de color rojo grosella intenso y el citoplasma de azul violáceo o azul cielo.

Procedimiento.-

1. Colocar la lámina sobre la platina mecánica entre los soportes de esta.
2. Enfocar con el objetivo de 10X el extremo menos denso del frotis, donde los glóbulos rojos estén dispuestos en una sola capa.
3. Bajar el objetivo de inmersión hasta poner en contacto con el aceite de inmersión.
4. Enfocar y examinar la película de sangre siguiendo el patrón mostrado con el recorrido del frotis durante la observación microscópica (Figura No 4).

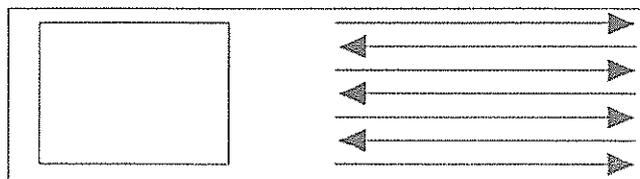
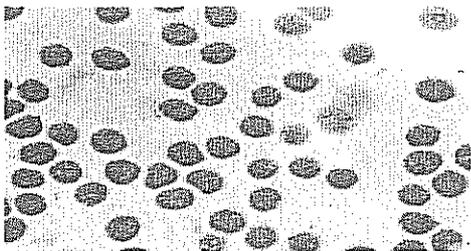


Figura 4



TERMINO	<p>5. Examinar el mayor número de campos microscópicos (300) para determinar si la muestra de sangre es positiva o negativa para malaria. Si el diagnóstico es dudoso deber· examinar de 400 a 500 campos microscópicos (Figura No 5).</p> <p style="text-align: center;">OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE PLASMODIUM FALCIPARUM EN FROTIS</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Figura 5.-</p>
----------------	---

ENTRADA (11)

NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Orden para análisis de malaria	Archivos	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

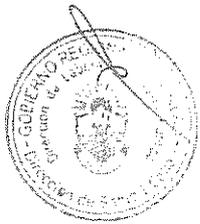
SALIDAS (12)

NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Resultado de malaria	Archivos	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

DEFINICIONES (13):
UTM: Unidad Tomadora de Muestra

REGISTROS (14):
Registros de laboratorio

ANEXOS (15):



FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

PROCESO (1):

Protección, recuperación y rehabilitación de la salud
Subproceso: Prevención de riesgo de salud

NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)	COLORACION DE MUESTRA HEMATICA PARA EL DIAGNOSTICO PARASITOLOGICO DE MALARIA	FECHA (3)	03/03/2015
		CÓDIGO (4)	DLSP: 001

PROPÓSITO (5):

Obtener una muestra de calidad que ayude en el diagnóstico de malaria.

ALCANCE (6):

Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.

MARCO LEGAL (7):

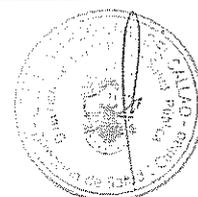
- Ley N° 26842- Ley General de Salud
- Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
- Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM
- Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos)

ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)

INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
• Número de muestras coloreadas	Coloración	Registros de laboratorio	Encargado de Laboratorio Encargado de colorear
• % de coloraciones mal realizadas	Coloración mal realizada	Registros de laboratorio	Encargado de Laboratorio. Encargado de Garantía de Calidad

NORMAS (9)

- Resolución Ministerial N.º 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores.
- Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)

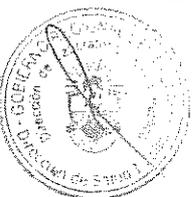
INICIO

USO DEL COLORANTE GIEMSA

El constituyente básico del colorante giemsa consiste en cierto tipo de eosinato de azul de metileno, disuelto ya sea en alcohol metílico puro o glicerina pura. La solución alcohólica constituye una forma conveniente en la preparación de la solución acuosa que tiñe simultáneamente en rojo, azul y violeta. Los elementos disueltos permanecen en solución y al cabo de un tiempo todos los elementos activos de coloración se precipitan.

RECOMENDACIONES PARA UNA BUENA COLORACIÓN

- Asegúrese que la gota gruesa y el fróntis estén secos antes de iniciar el proceso de tinción.
- Puede acelerarse el secado empleando calor suave, por ejemplo, exponiéndolos al calor generado por una lámpara. Evite utilizar demasiado calor ya que esto puede dificultar la deshemoglobinización.
- Mantenga el envase (vidrio ámbar u oscuro) que contiene la solución madre giemsa, cerrado y en lugar seco, fresco y protegido de luz solar directa para evitar la volatilización del solvente y la oxidación del colorante prolongando la duración de la solución.
- No añadir agua a la solución madre del colorante ni introducir una pipeta mojada. Esto puede provocar deterioro de la solución ocasionando que no coloree adecuadamente.
- No agitar la botella de colorante antes de utilizarla ya que se suspenderían pequeños cristales de colorante que no han sido disueltos, y dificultarían el examen bajo microscopio.
- Nunca regrese el colorante diluido no utilizado al envase que contiene la solución madre.
- El material de vidrio usado para guardar colorante giemsa debe ser lavado en agua limpia inmediatamente después de ser utilizado para retirar los restos del colorante.
- El material usado debe remojarse por algún tiempo, preferiblemente toda la noche, en una solución de detergente y posteriormente, debe ser enjuagado totalmente en agua limpia. Los residuos de detergente en el material de vidrio pueden alterar el pH de su contenido y estropear el colorante. La solución madre constituye el colorante stock (giemsa concentrado), el cual se diluye con buffer o agua destilada para obtener la solución de



trabajo o de uso diario.

COLORACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Antes de proceder a la coloración de la gota gruesa, fije el frotis sumergiéndolo en metanol, por tres segundos y déjelo secar (Figura No 6).

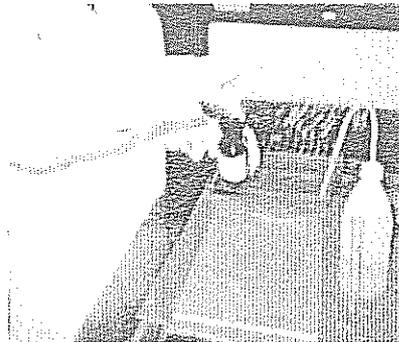


Figura N° 6

- Asegúrese de preparar el volumen de colorante diluido en cantidad suficiente para las láminas que debe colorear (Anexo D).
- Preparar sólo el volumen de colorante diluido en cantidad suficiente para las láminas que debe colorear.

A) Método rápido o coloración en varilla. -

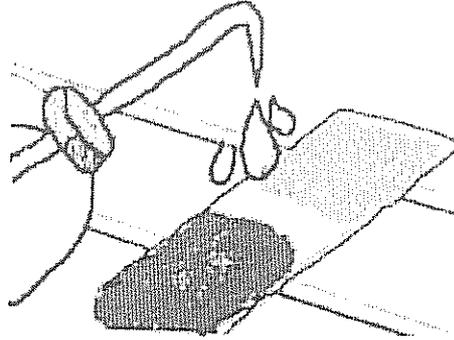
- Este método se usa generalmente para colorear entre 1 a 10 láminas.
- Debe tenerse en cuenta que la gota de sangre tiene que estar seca antes de ser coloreada, debiéndose evitar secar las muestras con demasiado calor.

Procedimiento:

1. Coloque las varillas de vidrio sobre un lavatorio o recipiente de tal forma que facilite la eliminación de los líquidos que se usan en la coloración y coloque las láminas que debe colorear sobre las varillas, de tal forma que pueda manipularlas con seguridad
2. Vierta colorante diluido sobre la gota gruesa cubriéndola por completo. Haga esto suavemente, a una distancia corta de la lámina, dejando actuar el colorante por aproximadamente 10 minutos. (Figura No 6).
3. Fijar el frotis en metanol.
4. Descarte el exceso de colorante diluido y lave la lámina con agua corriente, usando una pista, hasta que el agua no desprenda colorante (Figura No 7).

TERMINO





LAVADO DE LÁMINA DE
GOTA GRUESA
Figura N°7

B)

C) Método de lámina invertida.-

- Este método de coloración se usa para colorear la gota gruesa y frotis de varias láminas a la vez en una bandeja especial de coloración hecha de material acrílico.
- la inversión de las láminas disminuye la probabilidad de precipitado del colorante.

Procedimiento:

- Acomode las láminas en una gradilla de madera, de modo que queden inclinadas y con la gota gruesa hacia abajo.
- Deje secar las láminas en esta posición.
- Colocar la bandeja de coloración sobre una superficie plana (mesa de trabajo) cerca del lavatorio o recipiente, de tal forma que facilite la eliminación de los líquidos que se usan en la coloración.
- Acomode las láminas que desea colorear en forma invertida (con la muestra hacia abajo), espaciándolas entre ellas de tal manera que pueda agregarse el colorante por lámina (dejando fluir el colorante por el borde de la lámina (Figura No 8).

COLORACIÓN DE
LÁMINA INVERTIDA.

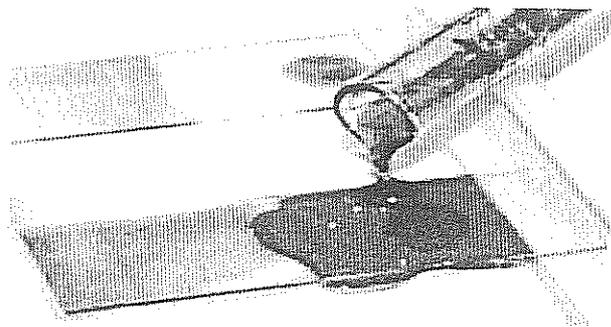
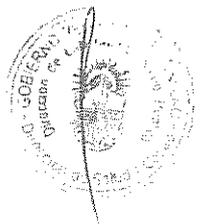


Figura N°8

ENTRADA (11)			
NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Muestra sin colorear	Registros Laboratorio	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético
SALIDAS (12)			
NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Muestra coloreada	Laboratorio. Unidad de procedimiento	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético
DEFINICIONES (13): UTM: Unidad Tomadora de Muestra			
REGISTROS (14): Registros de laboratorio			
ANEXOS (15):			



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)

INICIO

- Se necesita un microscopio compuesto con fuente de luz propia o con sistema de espejos para recibir luz natural o artificial. Si se usa como fuente externa de luz una bombilla incandescente (foco de 100W y pavonado), la luz se debe hacer pasar por un filtro azul, esto facilita la visualización de los parásitos.

RECONOCIMIENTO DE LOS PLASMODIA:

- Los parásitos de malaria toman con la coloración de giemsa un aspecto determinado en la gota gruesa y el frotis que permite el reconocimiento del tamaño y la forma del parásito.
- El núcleo del parásito (cromatina) es generalmente redondo y se colorea de un rojo intenso (rojo grosella), el citoplasma toma diferentes formas, desde una forma de anillo a una totalmente irregular y se colorea siempre de azul, aunque la tonalidad pueden variar ligeramente.

MORFOLOGIA DE LAS ESPECIES DE PLASMODIO:

1.- EN EL FROTIS DE SANGRE:

- Una simple manera de distinguir entre las cuatro especies de malaria es observar los cambios morfológicos que provoca el parásito al infectar los glóbulos rojos.
- Los caracteres distintivos son: el tamaño del glóbulo rojo (si está o no agrandado) y si se han coloreado o no las granulaciones de Schuffner dentro de la célula.
- En las preparaciones sanguíneas de película fina o frotis, las plaquetas adheridas a los eritrocitos pueden confundirse con plasmodios, así como otros contaminantes como bacterias, esporas, hongos, microalgas, precipitado de colorante, etc.

APARIENCIA DE LOS PARASITOS EN GOTA GRUESA Y FROTIS:

- La morfología de los glóbulos rojos y de los leucocitos cambian en el frotis y en la gota gruesa, lo mismo sucede con la morfología de los parásitos.
- Los parásitos de malaria pueden ser vistos semejantes a los glóbulos blancos en la gota gruesa, pero aparentan ser más pequeños que en el frotis.
- Se necesita observarlos muy cuidadosamente antes de identificarlos, enfocando y usando el micrométrico cada vez que mueva un campo microscópico, esto le permitirá examinar la gota gruesa en profundidad.



TERMINO	<ul style="list-style-type: none"> ➤ El citoplasma de los anillos finos de los trofozoitos pueden aparecer incompletos o rotos. Esta apariencia es normal en muestras de sangre de gota gruesa. Similarmente, la ausencia de glóbulos rojos puede dificultar la visión de las granulaciones de Schiffner; por tanto, en partes de la muestra no puede ser posible ver el punteado. ➤ Observar el parásito en diferentes etapas de desarrollo ayudará para hacer el diagnóstico. ➤ Recordar que las granulaciones de Maurer de Plasmodium falciparum no pueden ser vistos en gota gruesa ➤ En el estado de trofozoito, los Plasmodium presentan tres características indispensables, presentes tanto en la gota gruesa como en el frotis: <ul style="list-style-type: none"> • Citoplasma azul violáceo o azul cielo, • Núcleo rojo intenso o rojo grosella y • Pigmento amarillo pálido o castaño oscuro o negro (dependiendo de la especie y de las formas maduras del parásito). ➤ En las preparaciones sanguíneas las siguientes estructuras pueden confundirse con parásitos de malaria: plaquetas adheridas a los eritrocitos en las extensiones sanguíneas, conglomerados de plaquetas, fragmentos de leucocitos en las preparaciones de gota gruesa, colorante precipitado, restos de piel del paciente, polvo, bacterias, levaduras, esporas y otros microorganismos que caen en la preparación (si no se tienen protegidos) mientras se esté secando, y algas u otros organismos que pueden estar contaminando el colorante.
----------------	--

ENTRADA (11)

NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Solicitud de análisis para descarte de malaria	Registros	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

SALIDAS (12)

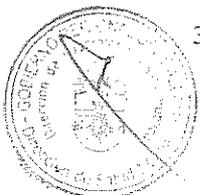
NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Resultado del análisis	Registros	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético

DEFINICIONES (13):

UTM: Unidad Tomadora de Muestra

REGISTROS (14):

Registros de laboratorio



ANEXOS (15):

FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

PROCESO (1):

Protección, recuperación y rehabilitación de la salud

Subproceso: Prevención de riesgo de salud

NOMBRE DEL
PROCEDIMIENTO
(2)

DIAGNOSTICO
INMUNOLOGICO DE MALARIA

FECHA (3)

03/03/2015

CÓDIGO (4)

DLSP: 001

PROPÓSITO (5):

Brindar apoyo al diagnóstico de malaria a través de laboratorio.

ALCANCE (6):

Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.

MARCO LEGAL (7):

- Ley N° 26842- Ley General de Salud
- Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
- Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM
- Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos)

ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)

INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
Número de resultados utilizando pruebas inmunológicas	Resultado	Registros de laboratorio	Encargado de Laboratorio. Personal encargado de prueba inmunológica
% de diagnósticos errados	Diagnóstico errado	Registros de laboratorio	Encargado de Laboratorio. Personal encargado de prueba inmunológica

NORMAS (9)

- Resolución Ministerial N.º 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores.
- Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)

INICIO

GENERALIDADES:

- El inmunodiagnóstico de malaria abarca métodos que evalúan la inmunidad humoral y celular del huésped.
- Las metodologías son suficientemente sensibles y específicas para detectar las infecciones en las que la parasitemia es baja, diferenciar infecciones pasadas de la actual, la primoinfección de las recrudescencias y las reinfecciones.
- Existen métodos de diagnóstico inmunológico directo e indirecto:
 - Los métodos de diagnóstico inmunológico directo, detectan directamente la presencia del parásito mediante la captura de antígenos del parásito durante la infección, estas fracciones antigénicas representan fracciones específicas de la molécula antigénica. Entre las pruebas que tienen este fundamento podemos mencionar las pruebas inmunocromatográficas y pruebas de ELISA directo.
 - Los métodos de diagnóstico indirecto, detectan fundamentalmente anticuerpos (también inmunoglobulinas) que se producen en respuesta al estímulo antigénico durante la infección del Plasmodium y su desarrollo biológico en el huésped vertebrado.

TECNICA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI):

- Esta **prueba se considera de referencia** en el serodiagnóstico y seroepidemiología de malaria, sirve para detectar anticuerpos en los sueros, determinar los títulos de éstos y seguir el curso de su producción. Los antígenos se obtienen de cultivos continuos o sangre de personas que tienen una infección primaria activa, los cuales son fijados en láminas portaobjetos sobre las que se agrega el suero del paciente, que contienen anticuerpos contra el agente etiológico (anticuerpo primario) y que se unirán al antígeno. Esta unión se podrá visualizar mediante un microscopio de fluorescencia utilizando una antinmunoglobulina humana marcada con fluoresceína (anticuerpo secundario).
- Es útil en zonas endémicas de malaria para medir el grado de la endemidad, verificar la presencia o ausencia de infecciones maláricas, delimitar zonas maláricas, detectar cambios estacionales de transmisión y evaluar actividades antimaláricas. Asimismo, en zonas no endémicas de malaria puede ser utilizada



para seleccionar donantes de sangre. Es importante mencionar que los antígenos homólogos detectan títulos de anticuerpos en niveles más elevados que los antígenos heterólogos y además proveen información retrospectiva sobre la población.

Requisitos para lograr una prueba de IFI óptima:

- Fuente de antígeno (proporción de esquizonte).
- Preparación y conservación de antígenos en láminas.
- Diluyente de los sueros.
- Calidad de microscopio y fuente de iluminación UV.

Ventajas y desventajas:

- El antígeno obtenido en cultivos es de superior calidad al obtenido en huéspedes infectados.
- La probabilidad de tener reacciones cruzadas es menor al de otros ensayos como ELISA.
- Su sensibilidad es de 80 % y su especificidad de 99 %.
- El título de cohorte es 1/16.
- Las láminas de inmunofluorescencia que contienen la suspensión antigénica se pueden preservar con un agente desecador y por tiempos prolongados a temperatura ambiente, sin pérdida de la actividad inmunológica.
- Una limitación para la ejecución del ensayo es la disponibilidad de equipos especializados como microscopios de epifluorescencia, incubadora de CO₂ para cultivo de cepas de *P. falciparum* con objeto de producción de antígeno parasitario para preparación de láminas.

a) Materiales:

- Frascos de vidrio de 1 L de capacidad.
- Láminas portaobjetos para IFI (12 excavaciones).
- Laminillas cubreobjetos.
- Micropipetas graduadas de: 1 - 10 µL ; 10 - 100 µL ; 100 - 1000 µL.
- Micropipeta multicanal (8 canales). 10 - 100 µL ; 100 Tips.
- Microplacas de 96 hoyos, pizetas, Papel aluminio.
- Bombillas de jebe.
- Bandejas Coplin.

b) Reactivos:

- **Antígeno:**
 - ❖ De *Plasmodium vivax* / *Plasmodium falciparum* y *P. malariae*, obtenidos a partir de sangre de individuos con infección primaria reciente (de preferencia) o a partir de cultivos continuos in vitro.



▪ **Sueros**

- ❖ Suero problema.
- ❖ Suero control positivo y negativo.

▪ **Conjugados fluorescentes**

- ❖ Conjugados fluorescentes: Anti IgG, anti IgM, anti Ig totales, marcados con isotiocianato de fluoresceína (debidamente titulado).
- ❖ Para cada lote de conjugado que inicie se recomienda determinar el título óptimo de uso.

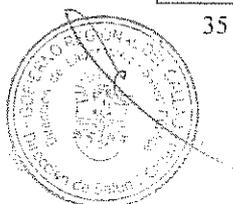
▪ **Soluciones:**

- ❖ Solución salina amortiguadora (PBS).
- ❖ Cloruro de sodio (NaCl) 8,500 g.
- ❖ Fosfato di sódico (NaHP04) 1,280 g.
- ❖ Fosfato monosódico hidratado (NaH₂ P04 .2H₂O) 0,156 g.
- ❖ Agua destilada 1000 mL pH de la solución: 7,6
- ❖ Solución bloqueadora (albúmina bovina al 1 % en PBS).
- ❖ Glicerina al 10% en PBS
- ❖ Azul de evans al 1 % (opcional) .
- ❖ Azul de Evans (Evans Blue) 0,500 g.
- ❖ PBS pH 7,6 50,00 mL

c) Equipos

- Estufa de 37°C.
- Refrigeradora.
- Balanza.
- Potenciómetro o cinta para medir el pH de soluciones.
- Bandeja para cámara húmeda.
- Agitador manual o eléctrico.
- Microscopio de inmunofluorescencia.
- Reloj.

Procedimiento:



- Y Retirar las láminas con antígeno de la congeladora (-70°C) y dejar secar a temperatura ambiente.
- Y Cubrir los antígenos con 15 µL de solución bloqueadora (con la finalidad de inactivar reacciones inespecíficas), utilizando una micro pipeta graduada y colocarlos en cámara húmeda a temperatura ambiente por 30 minutos.
- Y Paralelamente a la incubación, realizar las diluciones de los sueros empleando las microplacas ELISA de acuerdo al siguiente esquema:
 - ❖ Colocar 75 µL de solución bloqueadora en cada uno de los hoyos y 25 µL de los sueros (controles positivo, negativos y sueros a ensayar) sólo en el primer hoyo, mezclar y pasar 25 µL de la mezcla al segundo hoyo, mezclar y pasar 25 µL al tercer hoyo, y así sucesivamente. Lavar las láminas con PBS en una bandeja y sobre un vibrador eléctrico durante 5 a 10 minutos por 3 veces.
 - ❖ Retirar las láminas y secar cuidadosamente el exceso de PBS con un papel absorbente.
 - ❖ Tomar 15 µL de cada una de las diluciones (sueros positivos, negativos y muestras a ensayar) con una micro pipeta y colocar uno a uno empezando por la concentración más baja. Siga el esquema adjunto (Tabla No 7).

Tabla N 7. Esquema de diluciones

DILUCION SUEROS		1:4 (1)	1:16 (2)	1:64 (3)	1:256 (4)	1:1024 (5)	1:4096 (6)
Soluc. Bloq.	(µL)	75	75	75	75	75	75
Control Post.	(µL)	25	-	-	-	-	-
Mezclar y transf.	(µL)		25 (1)	25 (2)	25 (3)	25 (4)	25 (5)
Soluc. Bloq.	(µL)	75	75	75	75	75	75
Control Neg.	(µL)	25	-	-	-	-	-
Mezclar y transf.	(µL)		25 (1)	25 (2)	25 (3)	25 (4)	25 (5)
Soluc. Bloq.	(µL)	75	75	75	75	75	75
Muestra problema	(µL)	25	-	-	-	-	-
Mezclar y transf.	(µL)		25 (1)	25 (2)	25 (3)	25 (4)	25 (5)

- ❖ Incubar las láminas en cámara húmeda a 37°C por 30 minutos.
- ❖ Lavar las láminas.
- ❖ Agregar el conjugado marcado con isotiocianato de fluoresceína previamente titulado conteniendo Azul de Evans (1:1000) diluido en solución bloqueadora utilizando una micro pipeta y colocar en cada hoyo 15 µL de la solución.



TERMINO

- ❖ Incubar las láminas en cámara húmeda a 37°C por 30 minutos.
- ❖ Lavar las láminas.
- ❖ Colocar el glicerol al 10% en PBS sobre la lámina y cubrir con la laminilla cubreobjetos. Examinar al microscopio de fluorescencia con objetivo 40X, ocular 10X y filtro de 450- 520 nm.

Fallas comunes durante el procesamiento:

Falsos positivos:

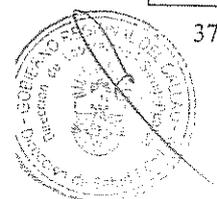
- a) Conjugados mal titulados.
- b) Reacciones cruzadas entre diferentes especies de plasmodios:
- c) Presencia de anticuerpos.
- d) Mezcla de distintos sueros en las láminas por confluencia.
- e) Presencia de factor reumatoide.

Falsos negativos:

- a) Iluminación deficiente del microscopio.
- b) Conjugados mal titulados. Tabla No 7
- c) Conservación inadecuada de los reactivos.

Observación microscópica:

- Rutinariamente las láminas procesadas para observación fluorescente deben ser examinadas al término de la ejecución de la técnica. La reacción fluorescente debe observarse sólo en el suero control positivo en presencia del antígeno y en los sueros a ensayar que también resulten positivos.
- Como título del suero se considerará la mayor dilución que presente fluorescencia. El suero es negativo cuando no hay fluorescencia.
- Para facilitar la observación microscópica se debe utilizar una ficha de registro de resultados para prueba IFI, donde se anotarán reacciones positivas como presencia de fluorescencia y reacciones negativas como no fluorescentes, en sus respectivas diluciones de sueros y conjugados.
- Si la observación no pudiera hacerse al término del procesamiento, se pueden guardar las láminas en oscuridad y refrigeración 4°C, hasta realizar la lectura al día siguiente. Considere que con el tiempo la fluorescencia disminuye.



ENTRADA (11)			
NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Orden para análisis de malaria	Registros	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético
SALIDAS (12)			
NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Resultado	Establecimiento solicitante	De acuerdo a demanda	Manual y/o magnético
DEFINICIONES (13): UTM: Unidad Tomadora de Muestra			
REGISTROS (14): Registros de laboratorio			
ANEXOS (15):			



FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

PROCESO (1):

Protección, recuperación y rehabilitación de la salud
Subproceso: Prevención de riesgo de salud

NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)

ACTIVIDADES DEL LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL, Y LABORATORIOS INTERMEDIOS

CÓDIGO (4)

DLSP: 001

FECHA (3)

03/03/2015

PROPÓSITO (5):

Realizar el control de calidad.
Obtener resultados de calidad.
Detectar incongruencias y apoyar en las soluciones

ALCANCE (6):

Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.

MARCO LEGAL (7):

- Ley N° 26842- Ley General de Salud
- Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
- Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM
- Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos)

ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)

INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
• Número de muestras congruentes	Muestra	Registros de calidad	Responsable de garantía de calidad
• % de muestras discordantes	Muestra	Registros de calidad	Responsable de garantía de calidad

NORMAS (9)

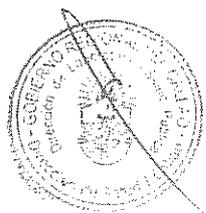
- Resolución Ministerial N.° 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores*
- Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)	
INICIO	<p>Recepción de láminas.-</p> <p>Recepcionar las muestras hemáticas de sus respectivos laboratorios intermedios y locales al 100 % de láminas positivas y negativas.</p> <p>Revisión.-</p> <p>Criterios de selección:</p> <p>a) Revisa 10% de láminas negativas y 10% de láminas positivas de cada una de las siguientes densidades parasitarias: +, ++, +++ y 100% de láminas positivas cuyas densidades son menores de +/2. Para la revisión de láminas utilizar el formato CCM-2. (Manual INS)</p> <p>b) El personal recién capacitado y aquellos que tengan discordancias mayores al 2%, deberán realizar la revisión de láminas, de acuerdo al siguiente porcentaje: Este esquema debe ser considerado, hasta que el personal evaluado logre superar los porcentajes de discordancias.</p>
TERMINO	<p>Criterios de evaluación:</p> <p>a) El nivel regional realiza el control de calidad técnica para evaluar la calidad de muestra y la calidad de coloración al 10 % de láminas recibidas, registrando los resultados en el formato CCM - 2, lo cual le permite tener un sistema de vigilancia permanente en la calidad diagnóstica de la muestra pudiendo tomar decisiones de realizar supervisiones al nivel local e intermedio, si fuera el caso.</p> <p>b) Registra y consolida los resultados de producción y control de calidad de las láminas de cada laboratorio evaluado en la ficha CCM-3.</p> <p>c) Remite en forma trimestral al Laboratorio de Referencia Nacional de Malaria el informe de producción y reproducibilidad diagnóstica, en el formato CCM-3. Asimismo, remitirá de manera inmediata los resultados de la calidad técnica de gota gruesa y frotis, así como los de reproducibilidad diagnóstica, a los niveles locales e intermedios de su jurisdicción.</p> <p>d) Envía en el formato CCM-4 al nivel de referencia nacional la relación del total de láminas.</p> <p>e) El envío de información a su nivel superior lo hará mensualmente.</p>



ENTRADA (11)			
NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c) amerite	TIPO (11d)
Muestra procesada	Registros	Trimestral y cada vez que amerite	Manual y/o magnético
SALIDAS (12)			
NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Control de calidad realizado	Laboratorio evaluado y Laboratorio de Referencia Nacional de Malaria	Trimestral y cada vez que amerite	Manual y/o magnético
DEFINICIONES (13): UTM: Unidad Tomadora de Muestra			
REGISTROS (14): Registro de laboratorio			
ANEXOS (15):			



FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

PROCESO (1):

Protección, recuperación y rehabilitación de la salud
Subproceso: Prevención de riesgo de salud

NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)	ACTIVIDADES DEL NIVEL LOCAL	FECHA (3)	DLSP: 001
		CÓDIGO (4)	03/03/2015

PROPÓSITO (5):

Detectar incongruencias y apoyar en las soluciones.
Emitir resultados de control de calidad y socializar con los involucrados.

ALCANCE (6):

Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.

MARCO LEGAL (7):

- Ley N° 26842- Ley General de Salud
- Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
- Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM
- Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos)

ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)

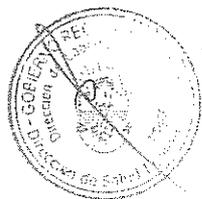
INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
Número de muestras remitidas para control de calidad.	Control de calidad	Registros de control de calidad	Encargado de Garantía de Calidad
% de muestras evaluadas	Muestra evaluada	Registros de control de calidad	Encargado de Garantía de Calidad

NORMAS (9)

- Resolución Ministerial N.º 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores.
- Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú



DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)			
INICIO	<p>Envío de láminas:</p> <p>➤ Todos los laboratorios locales que realicen diagnóstico de malaria deben enviar el 100 % de muestras positivas y 1er. Trimestre 100 % de positivas y 100 % negativas, 2do. Trimestre 100 % de positivas y 50 % negativas, 3ER. Trimestre 100 % de positivas y 25 % negativas, 4TO. Trimestre 100 % de positivas y 10 % negativas 100% de negativas, separando por grupos de láminas positivas y negativas, acompañado de su informe semanal, en el formato CCM-1. 9.</p> <p>RECOMENDACIONES GENERALES PARA EL ENVIO DE LAMINAS E INFORME DE RESULTADOS:</p> <p>1.- Del envío de láminas:</p> <p>➤ Las láminas al momento del envío deben estar limpias. Para ello, eliminar todo residuo de aceite de inmersión.</p> <p>➤ El embalaje se hará con cartón corrugado y asegurado con pabilo, a fin de evitar su deterioro o rotura.</p> <p>2.- De la emisión de resultados:</p> <p>➤ El nivel de referencia regional debe remitir su resultado de control de calidad a los niveles intermedios de su jurisdicción en un tiempo no mayor de siete días después de recibir las láminas.</p>		
TERMINO			
ENTRADA (11)			
NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Muestra para control de calidad	Registros	Trimestral	Manual y/o magnético
SALIDAS (12)			
NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Control de calidad realizado	Registros	Trimestral	Manual y/o magnético
DEFINICIONES (13):			
UTM: Unidad Tomadora de Muestra			
REGISTROS (14):			
Registros de laboratorio			



ANEXOS (15):

FICHA DE DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

PROCESO (1):

Protección, recuperación y rehabilitación de la salud

Subproceso: Prevención de riesgo de salud

NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO (2)

SUPERVISION DIRECTA A LOS LABORATORIOS

FECHA (3)

03/03/2015

CÓDIGO (4)

DLSP: 001

PROPÓSITO (5):

Detectar incongruencias y apoyar en la solución de las mismas.

Confirmar si el trabajo que se está realizando está bien hecho y si el personal ha sido entrenado para ello.

Facilitar y corregir errores en el procesamiento.

Indicar la necesidad de readiestramiento.

ALCANCE (6):

Personal que labora en el Laboratorio de Salud Pública de la DIRESA Callao y en los laboratorios y UTM de la DIRESA CALLAO.

MARCO LEGAL (7):

- Ley N° 26842- Ley General de Salud
- Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
- Decreto Supremo N° 013-2002-AS/DM
- Reglamento de la Ley N° 27557 (Procesos y Subprocesos)

ÍNDICES DE PERFORMANCE (8)

INDICADOR (8a)	UNIDAD MEDIDA (8b)	FUENTE (8c)	RESPONSABLE (8d)
• Número de supervisiones	Supervisión	Registros de laboratorio	Encargado de garantía de calidad Dirección de laboratorio de Salud Pública Encargado de Laboratorio Metaxénicas
• N° de incongruencias halladas	Supervisión	Registros de laboratorio	Encargado de garantía de calidad Dirección de laboratorio de Salud Pública Encargado de Laboratorio de Metaxénicas.

NORMAS (9)

- Resolución Ministerial N.º 721-2005/MINSA, aprueban Plan General de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de las Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitidas por Vectores



- Resolución Ministerial N° 076-2007/MINSA, aprueban la Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú

DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS (10)

INICIO

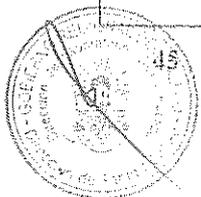
- El laboratorio de referencia regional debe realizar supervisiones periódicas a los laboratorios intermedios y locales de su jurisdicción que realicen diagnóstico parasitológico de malaria; para evaluar el rendimiento del personal y mantenimiento de microscopios e insumos.
- La supervisión es necesaria por las siguientes razones:
 - Confirmar si el trabajo que se está realizando está bien hecho y si el personal ha sido entrenado para ello.
 - Facilitar y corregir errores en el procesamiento.
 - Indicar la necesidad de readiestramiento.
 - Proveer de una buena oportunidad de conversar con el supervisor de alguna dificultad en el trabajo.

TERMINO

- Las supervisiones podrán ser semestrales o cuando se requiera, según el resultado de evaluaciones indirectas de control de calidad de muestras hemáticas utilizando el formato de evaluación y supervisión del laboratorio de malaria.
- El laboratorio evaluador preparará láminas con gran rigurosidad técnica, confirmadas en cuanto a su positividad y negatividad, la que se aplicaran durante la supervisión a los laboratorios.

TIPOS DE SUPERVISION:

- Supervisión directa:** En la supervisión directa se entrará en contacto con el encargado del control de calidad del diagnóstico parasitológico de malaria a través de una visita por un periodo prolongado. El supervisor observará su trabajo y analiza las dificultades que tiene; además, se tendrá la oportunidad de discutir aspectos importantes de la ejecución de los procesos, promoviendo soluciones que podrían facilitar la labor del microscopista.
- Supervisión indirecta:** En la supervisión indirecta se conoce el trabajo del personal a través de las láminas enviadas periódicamente a un laboratorio de referencia para la evaluación técnica de la muestra, coloración y reproducibilidad en el resultado de diagnóstico, proceso que se conoce como control de calidad de gota gruesa.



ENTRADA (11)			
NOMBRE (11a)	FUENTE (11b)	FRECUENCIA (11c)	TIPO (11d)
Laboratorio sin supervisar	Registros	Semestral	Manual y/o magnético
SALIDAS (12)			
NOMBRE (12a)	DESTINO (12b)	FRECUENCIA (12c)	TIPO (12d)
Informe de supervisión	Laboratorio supervisado	Semestral	Manual y/o magnético
DEFINICIONES (13): UTM: Unidad Tomadora de Muestra			
REGISTROS (14): Registros de laboratorio			
ANEXOS (15):			



ANEXOS



ASPECTOS DEL PARASITO DE MALARIA EN SUS DIFERENTES ESTADIOS:

Las características en los diferentes estadios de los plasmodia que se observan en la gota gruesa y frotis se muestran en las Tablas No 1, 2 y 3.

Tabla Nº 1. Características diferenciales entre plasmodios vistos en frotis de sangre humana

Característica	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malarie</i>
Glóbulo rojo Aspecto general	- Tamaño aumentado - Gránulos de Schuffner presentes.	- Tamaño normal	- Tamaño normal o menor
Trofozoito Joven (anillos)	- Pequeño a grande, generalmente un anillo por eritrocito.	- Pequeño y delicado, a menudo dos puntos de cromatina y dos o más anillos por eritrocito - La infección múltiple es rara	- Generalmente uno a dos anillos por eritrocito.
Trofozoito mediano	- Grande, ameboides. - Pigmento en forma de bastones finos.	- Raro en sangre periférica. Si existe, es de tamaño moderado. - Pigmento en forma de gránulos.	- Pequeño y compacto, a menudo en forma de banda. - Pigmento granulado
Trofozoito maduro o adulto	- Tamaño mediano, con citoplasma compacto - Pigmento fino.	- Raro en sangre periférica.	
Esquizonte	- Grande, con numerosos merozoitos (12-24). Promedio: 16 - Pigmento concentrado en 1 ó 2 masas.	- Mediano, con numerosos merozoitos (12 - 32). - Pigmento en una masa única - Su presencia es rara en sangre periférica	- Pequeño, con pocos merozoitos grandes dispuestos en roseta (6 a 12). Promedio: 8. - Pigmento granuloso, ubicado generalmente en la parte central.
Gametocito	- Esféricos, compactos y de núcleo único. - Pigmento difuso y fino.	- Forma de banana o salchicha y de núcleo único central.	- Parecido al <i>P. vivax</i> pero más pequeño y menos numeroso en el frotis.

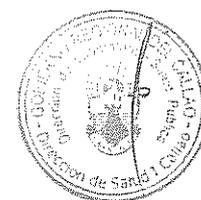
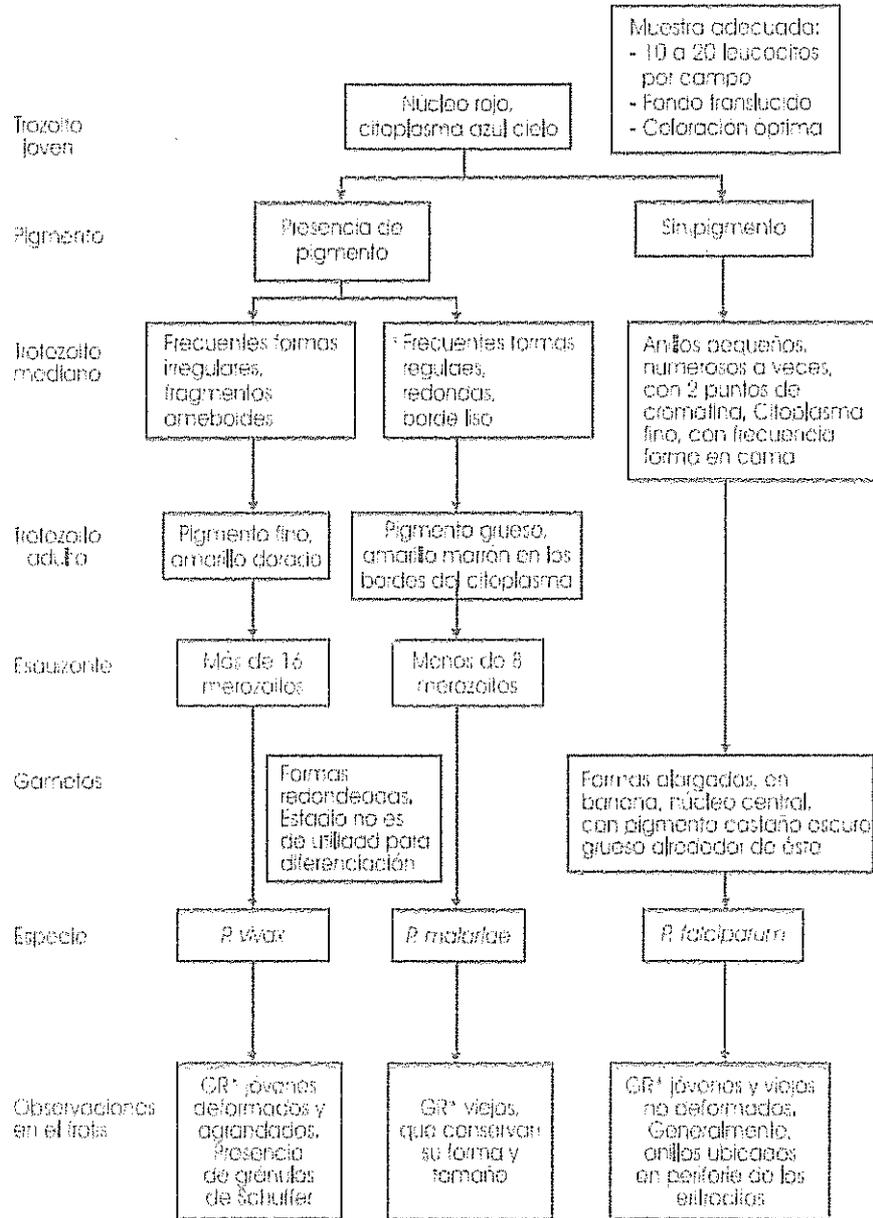


Tabla N° 2. Algoritmo para el diagnóstico parasitológico de malaria en gota gruesa.



GR⁺ = Hemáticas.

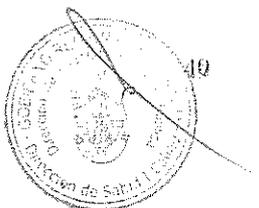


Tabla N° 3. Aspecto de las diferentes especies y estadios de los plasmodia en la gota gruesa.

Estadio característica	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>
Trofozoito			
Tamaño	pequeño a grande	pequeño a mediano	pequeño a grande
Número	moderado	por lo general abundante	escaso a moderado
Citoplasma	Fragmentado, de forma irregular	uniforme, fino	regular, denso
Cromatina	única, a veces dos	a menudo dos núcleos	única grande
Formas	Jóvenes: anillos, comas, sin pigmento mediano: citoplasma ameboides, fragmentado, con pigmento. maduro o adulto: compacto.	Frecuentemente anulares y comas. Las formas maduras (compactas) sólo presentes en casos graves	Jóvenes: anulares Adultos: redondos, compactos
Pigmento	Fino, desperdigado	Pocos gránulos o en masa	Abundante, generalmente rodeando el citoplasma
Esquizonte			
Tamaño	grande	pequeño, compacto	pequeño
No en sangre	escaso a moderado	poco frecuente, solo en forma, graves	escaso
N° de merozoitos	12 a 24, generalmente 16	12 a 30, o mas	6 a 12, generalmente 6
Forma	en conglomerado irregular formas maduras	aglomerados y compactos	merozoitos en conglomerado laxo de forma madura, algunos aparentemente sin citoplasma
Pigmento	dispuesto en masa suelta	masa única y oscura	concentrado
Gametocito			
Formas inmaduras	difíciles de distinguir de trofozoitos maduros	inmaduras: puntiagudas	Difíciles de distinguir de trofozoitos maduros
Formas maduras	redondas, grandes	en forma de banana o redondeadas	redondeadas, compactas, algunas veces también difícil de distinguir de los Trofozoitos maduros
Cromatina	grande y única, bien definida	bien definida de menor tamaño	bien definida menor tamaño
Pigmento	desperdigado fino	desperdigado, grueso	Desperdigado, rugoso. Puede estar distribuido en la periferie
Formas erosionadas	con citoplasma oscuro o ausente, y solo con cromatina y pigmento	a veces se observa órgano de extrusión de color rosa	solo con cromatina y pigmento

- Para el reconocimiento de la especie y del estadio de los plasmodios, el frotis permite observar mejor las características del parásito:



3.- Etapa de esquizonte.-

- En la etapa de esquizonte el parásito de malaria comienza a reproducirse. Esta reproducción es conocida como asexual debido a que se reproducen por simple división binaria.
- El parásito presenta núcleos con cromatina y citoplasma definido. Cuando este estadio está presente el número de núcleos observados son de utilidad para determinar la especie (Figura No 11).

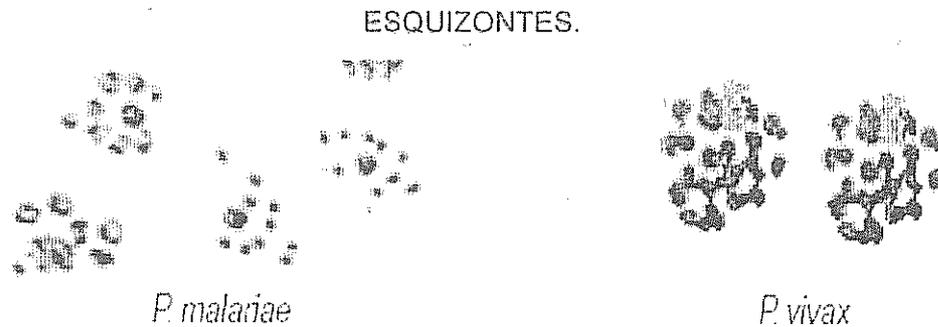


Figura N°11

4.- Etapa de gametocito.-

- El gametocito es el estadio sexual en el cual el parásito llega a ser masculino o femenino, Este proceso de maduración se completa en el estómago del anofelino hembra.
- La morfología de los gametocitos depende de la especie.
- El gametocito masculino es llamado microgametocito y el gametocito femenino macrogametocito (Figura No 12).

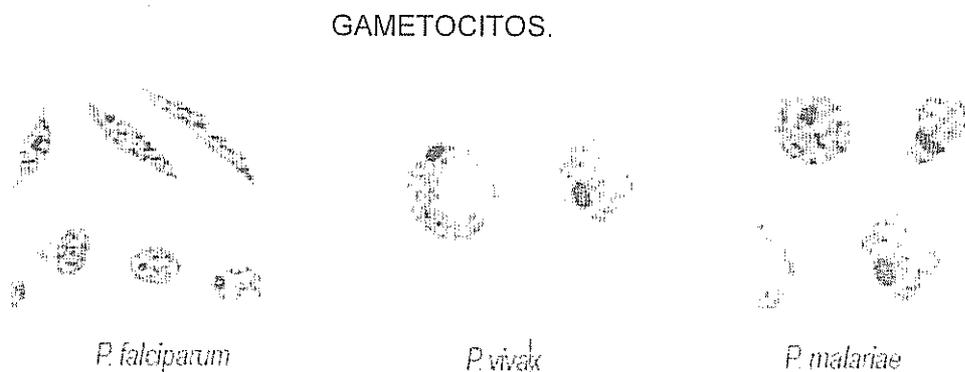
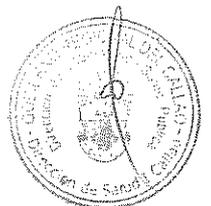


Figura N°12

- En malaria por *P. falciparum* se pueden ver en sangre periférica gametocitos y anillos a diferencia de vivax en el que se visualiza todos los estadios parasitarios.



BIBLIOGRAFIA

OMS. Guía para el transporte seguro de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos. División para la vigilancia y el control de Enfermedades emergentes y otras Enfermedades transmisibles. Ginebra, 1997

Guillen A, Beltrán M, Quispe N, Valverde A, Zavaleta A. Manual de Normas de Bioseguridad. INS. Serie Técnica N° 18, Lima Perú, 1996

Ministerio de Salud. Bioseguridad en centros y Puestos de salud. Programa Salud Básica para todos, 1997.

Manual de Procedimientos de Laboratorio para el Diagnóstico de Malaria
MPR - CNSP - 017 72 Instituto Nacional de Salud.

Ministerio de Salud. Doctrina, normas y procedimientos para el control de la malaria en el Perú. Lima: MINSA; 1994.

Organización Mundial de la Salud. Manual para el diagnóstico microscópico de la malaria.

4ta. Edición. Ginebra: OMS; 1975. Publicación Científica Nro 276. p. 1-105.

Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos de laboratorio para la obtención y envío de muestras (I). 2a ed. Lima: INS; 1997. Serie de Normas Técnicas No 15.

Manual de Bioseguridad del laboratorio DIRESA CALLAO.

