

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	1 de 24

República de Colombia



Gobernación de Santander

MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA DEL ÁREA DE PARASITOLOGÍA

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	2 de 24

TABLA DE CONTENIDO

1. OBJETIVO.....	4
2. ALCANCE	4
3. RESPONSABILIDADES.....	4
4. DEFINICIONES.....	4
5. CONDICIONES GENERALES	6
5.1 Condiciones ambientales	7
5.2 Control de condiciones de bioseguridad	7
5.3 Control de ambientes y superficies	7
6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO.....	8
7. LIMITACIONES E INTERFERENCIA.....	12
8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	14
9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA	17
10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA	17
10.1 Equipos	17
10.2 Reactivos	17
10.3 Controles.....	18
11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO	18
12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO.....	19
13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS.....	20
14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS.....	22

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

 <p>República de Colombia GOBIERNO DEPARTAMENTO DE SANTANDER Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	3 de 24

15. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS	23
16. DOCUMENTOS DE REFERENCIA	23
17. ANEXOS	23
18. CONTROL DE CAMBIOS	24

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	4 de 24

1. OBJETIVO

Describir los fundamentos las técnicas empleadas en el laboratorio de salud publica de Santander para el diagnóstico de malaria.

2. ALCANCE

La presente guía aplica para la vigilancia por laboratorio para el control de calidad en el diagnostico de malaria con la técnica de microscopia empleada en el laboratorio de salud publica de Santander.

3. RESPONSABILIDADES

Líder Coordinación de Laboratorio: aprobar el presente documento y supervisar el estricto cumplimiento de lo establecido en el mismo.

Profesionales del Laboratorio Departamental de Salud Pública: dar estricto cumplimiento a lo aquí establecido.

4. DEFINICIONES

Bioseguridad: la OMS lo define como un enfoque estratégico e integrado para analizar y gestionar los riesgos relevantes para la vida y la salud humana, animal y vegetal y los riesgos asociados para el medio ambiente. Se basa en el reconocimiento de los vínculos críticos entre sectores y en la posibilidad de que las amenazas se muevan dentro de los sectores y entre ellos con consecuencias para todo el sistema

Diagnóstico parasitológico: el diagnóstico de hemoparásitos se hace por el laboratorio mediante visualización directa de la especie parasitaria infectante presente en sangre (*Plasmodium spp*, *Trypanosoma s.p.p.*, *Mansonella ozzardi*, *Babesia s.p.p.*), por medio de examen microscópico de gota gruesa y extendido de sangre como método complementario.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	5 de 24

Extendido de sangre: película delgada de sangre que se fija en una lámina portaobjeto y que sirve como herramienta complementaria del diagnóstico realizado en la gota gruesa ya que permite la observación microscópica de la morfología globular y parasitaria intacta. Puede ser teñida con cualquier colorante derivado de Romanowsky.

Gametocito: es una célula germinal a partir de la cual se forman los gametos. El gametocito puede dividirse por mitosis para originar otros gametocitos o por meiosis para dar lugar a los gametos durante la gametogénesis, en malaria (*Plasmodium*), los merozoitos pueden reinfectar a los glóbulos rojos o convertirse en gametocitos masculinos y femeninos. Si el huésped es picado por un mosquito, los gametocitos pasan a este, en donde darán lugar a 4-8 microgametos por gametocito masculino y un macrogameto por gametocito femenino.

Gota gruesa: es un examen de laboratorio para determinar microscópicamente la presencia de hemoparásitos en una muestra de sangre concentrada, la cual es coloreada con los derivados de Romanowsky y permite la identificación cualitativa y cuantitativa del parásito. La gota gruesa es el método de referencia o Gold Estándar para el diagnóstico de malaria.

Malaria: es una enfermedad con manifestaciones agudas y crónicas causada por protozoarios del género *Plasmodium spp*, de los cuales cinco especies son productoras de malaria humana en el mundo: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y recientemente *P. knowlesi*. Los parásitos del género *Plasmodium spp* son transmitidos al humano a través de la picadura de la hembra del vector Anopheles, la cual se infecta al realizar una ingesta de sangre de un paciente infectado con gametocitos de *Plasmodium s.p.p*. El vector una vez infectado y al ingerir nuevamente sangre de un nuevo huésped, inocula esporozoitos infectantes dando inicio al ciclo de vida del parásito en el humano. La transmisión también puede ocurrir ocasionalmente por inoculación directa de glóbulos rojos infectados (transfusión sanguínea o accidente de laboratorio) y por transmisión vertical de madre a hijo. El cuadro clínico clásico consiste en escalofrío, fiebre y sudoración. El ataque agudo inicia con accesos febriles precedidos por

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	6 de 24

escalofríos, seguidos de intensa sudoración, repetidos cada 48 ó 72 horas según la especie parasitaria infectante.

Plasmodium: es un protozoo perteneciente al filo Apicomplexa y familia *Plasmodiidae*. Agente etiológico de la malaria. Su ciclo de vida implica a dos hospedadores: el mosquito hembra del género *Anopheles* y el hombre u otros primates. En el mosquito se realiza la reproducción sexual del parásito, y es, por tanto, el hospedador definitivo; en el hombre se realiza la multiplicación asexual, siendo el hospedador intermediario.

Población objeto: el diagnóstico de hemoparásitos se debe hacer con sospecha de la enfermedad y, en general, a todos los habitantes y visitantes de zonas del territorio nacional localizadas en zonas tropicales y subtropicales consideradas de riesgo para la transmisión de estas enfermedades.

Prueba rápida para malaria: (PDR) es una prueba inmunocromatográfica diseñada para el diagnóstico rápido de malaria, en la cual se detectan antígenos parasitarios específicos permitiendo diferenciar malaria por *P. falciparum* y malaria por una especie diferente de *P. falciparum*. La técnica utiliza anticuerpos monoclonales anclados a una membrana de nitrocelulosa, los cuales capturan el complejo específico antígeno-anticuerpo previamente formado.

Recuento parasitario: estimación del número de parásitos/ l realizada en la gota gruesa y extendido de sangre periférica para el reporte de resultados específicamente del diagnóstico de malaria.

Trofozoito: es la forma vegetativa activada que se alimenta generalmente por fagocitosis y se reproduce. Los trofozoítos del género *Plasmodium* invaden los glóbulos rojos y se alimentan de las proteínas contenidas en estos.

5. CONDICIONES GENERALES

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	7 de 24

5.1 Condiciones ambientales

En el área de parasitología se requiere condiciones ambientales para asegurar la calidad de las observaciones realizadas en el microscopio. En climas calientes y húmedos los hongos pueden colonizar los portaobjetos y oculares del microscopio afectando el funcionamiento adecuado, por tal razón se recomienda mantener el microscopio en un área con aire acondicionado en funcionamiento continuo. Las salas que solo tengan aire acondicionado durante las horas de trabajo diurnas no son adecuadas.

5.2 Control de condiciones de bioseguridad

El Laboratorio Departamental de Salud Pública tiene definidos los lineamientos correspondientes a la Bioseguridad del Personal en el Manual de bioseguridad del laboratorio de salud pública de Santander MI-GS-MA.06. Para el área de parasitología el personal deberá usar los siguientes elementos de protección personal (EPP):

- Bata antifluidos manga larga
- Gorro
- Guantes de látex
- Tapabocas

5.3 Control de ambientes y superficies

Para el correcto proceso de limpieza de partes del microscopio antes y después de su uso se realiza breve descripción del procedimiento.

- Limpieza de lentes y los oculares: limpiar cuidadosamente con un pañuelo para lentes o un paño suave de algodón.
- Los objetivos de 100X de inmersión en aceite deben limpiarse inmediatamente después de haber sido utilizados. De lo contrario, el aceite se irá acumulando y el objetivo acabará por volverse inservible. No emplee el mismo paño de limpieza del objetivo de 100X para limpiar los otros objetivos 4X, 10X y 40X, los oculares ni el espejo.
- Después de su limpieza cúbralo con protector de plástico.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	8 de 24

Para la limpieza de superficies se debe seguir el proceso definido en Manual de limpieza y desinfección del Laboratorio de Salud Pública de Santander MI-GS-MA-05

- Eliminar la suciedad más gruesa y visible de las superficies, con ayuda de dulce abrigo, cepillos o similares que se encuentren en los mesones
- Limpiar y recoger con un paño absorbente húmedo el polvo de la superficie.
- Aplicar solución detergente (jabón diluido en agua) sobre las superficies, con el fin de realizar la limpieza de la suciedad orgánica.
- Realizar acción mecánica, con ayuda de cepillos, escobillones, esponjas o similares. Enjuagar o aclarar la solución sucia resultante, con suficiente agua limpia, cuidando de que no queden residuos de jabón ni suciedad que podrían inactivar los desinfectantes cuando estos se apliquen.
- Con toalla limpia, frotar toda la superficie del mesón.
- Dejar secar al medio ambiente.
- La superficie desinfectada queda disponible para ser utilizada.
- Anotar esta actividad en el formato De verificación de Limpieza de áreas y superficies MI-GS-RG-115.

6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO

Examen directo a través de Gota gruesa y extendido de sangre periférica

Precoloración y coloración: Método de Romanowsky modificado.

1. Para el diagnóstico de *Plasmodium spp*, verificar que la muestra esté completamente seca para que no se desprenda.
2. Sumergir en solución de azul de metileno fosfatado por dos (2) segundos
3. Escurrir sobre papel absorbente en posición vertical, para eliminar el exceso
4. Enjuagar con agua amortiguadora de pH 7,2
5. Escurrir y proceder a colorear.

Para la coloración, por cada lámina a colorear, en un tubo Falcon dispensar 3 mL de agua

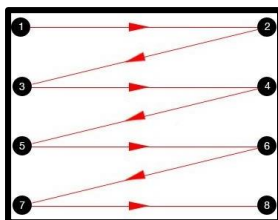
Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	9 de 24

amortiguadora, una gota de solución A y una gota de solución B, mezclar suavemente por inversión y realice la coloración:

1. En una lámina cóncava para coloración colocar las láminas con la muestra hacia abajo. Adicionar la solución colorante evitando la formación de burbujas y dejar actuar por 10-15 minutos, el tiempo que tenga estandarizado.
2. Saque la lámina del colorante y no la lave con agua, escúrrala y déjela secar de forma horizontal.

Para la lectura de la gota gruesa es necesario colocar una gota de aceite de inmersión sobre la muestra y enfocar al microscopio con objetivo de 100X, luego se busca un campo microscópico ideal (que contenga de 10 a 20 leucocitos) y se continúa observando los campos adyacentes de arriba abajo o de izquierda aderecha.



Lectura de la gota gruesa

Confirmar la positividad o negatividad de la gota gruesa así:

Negativa	Muestra negativa para hemoparásitos como la ausencia de parásitos después de observar por lo menos 300 campos microscópicos con objetivo 100x
Positiva	Muestra positiva se debe confirmar especie o especies parasitarias (infección mixta).

Realizar el recuento parasitario teniendo en cuenta la siguiente fórmula:

$$\text{No. Parasitos} \times 8000 \text{ (Leucocitos contados)}$$

200

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	10 de 24

En 200 leucocitos se observan 10 o más parásitos	Aplicar la fórmula en base a 200 leucocitos.
En 200 leucocitos se observan 9 menos parásitos	Continuar el recuento hasta llegar a los 500 leucocitos y aplicar la fórmula en base a los 500 leucocitos
500 parásitos sin llegar a contar los 200 leucocitos	El recuento se dará por terminado cuando se finalice la lectura del último campo y la parasitemia debe calcularse según la fórmula anterior

Para el informe de resultados del diagnóstico *Plasmodium spp* es necesario informar así:

- Método de diagnóstico (Gota gruesa)
- Positividad/Negatividad de la muestra
- Especie parasitaria infectante
- Recuento parasitario en unidades parásitos/ μ L.

Positivo:	Lámina de gota gruesa en la que se observen formas parasitarias compatibles con especies de <i>Plasmodium spp</i> .
Negativo	Lámina de gota gruesa en la que no se observen formas parasitarias compatibles con <i>Plasmodium spp</i>

Si se diagnostica una muestra positiva se debe confirmar especie; descartar una posible Infección mixta bajo los siguientes criterios:

- Observación de formas sexuales y asexuadas de *P. vivax*, junto con gametocitos de *P. falciparum*.
- Observación de formas sexuales y asexuadas de *P. vivax*, junto con formas asexuadas de *P. falciparum*, en cantidades similares de las dos especies. En este caso, se realiza un recuento a 100 parásitos y se determina el porcentaje de cada especie. Para definir infección mixta debe observarse >40% de formas asexuadas de *P. falciparum*.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	11 de 24

Si persisten dudas en la especie se debe usar el extendido de sangre para observar los cambios que ocasiona el parásito al glóbulo rojo o la morfología más definida y clara de las estructuras parasitarias.

Para el diagnóstico de parásitos del género *Plasmodium spp*, es necesario realizar gota gruesa de control al paciente al día 3 de inicio del tratamiento.

Pruebas rápidas para el diagnóstico de parásitos del género *Plasmodium spp*

Las pruebas rápidas para el diagnóstico de malaria se fundamentan en la detección de antígenos liberados mediante la lisis de los parásitos. Estos antígenos se unen a anticuerpos monoclonales o policlonales. La unión del antígeno y del anticuerpo migra a lo largo de una tira de nitrocelulosa y se ubica en una zona predeterminada de la tirilla en la cual se observará una línea de color violeta en caso de haber una reacción positiva, es decir, que se encuentre el antígeno de parásito.

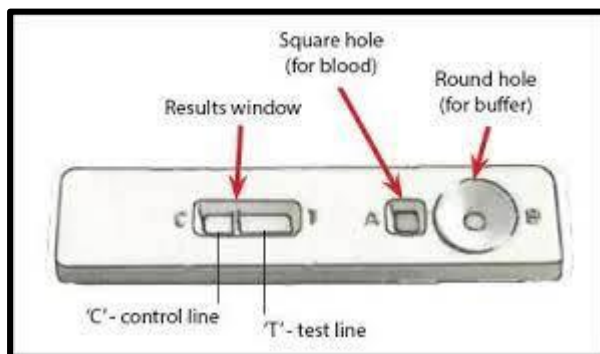
En laboratorios de salud pública (LSP) como complemento del diagnóstico microscópico y ante la duda de una de las especies de *Plasmodium spp*. observadas al microscopio. En regiones con población dispersa con problemas de malaria y en donde no se cuente con el diagnóstico microscópico, pero que cuente con las condiciones necesarias para mantener las características ambientales sugeridas por el fabricante de las pruebas rápidas. Para garantizar la calidad del diagnóstico de parásitos del género *Plasmodium spp* mediante el uso de pruebas rápidas, es fundamental que el personal responsable este capacitado en el manejo y cuidado de las mismas, las condiciones ambientales (temperatura entre 2 a 30°C) que indique el fabricante y los escenarios de posibles resultados falsos negativos, entre éstos la delección del gen *hrp2* en el parásito *P. falciparum*.

Toda adquisición de PDR debe ser sometida a control de calidad mediante paneles de sangre total en el Laboratorio Nacional de Referencia. Los estuches de pruebas rápidas que se comercialicen en Colombia

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	12 de 24

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.



7. LIMITACIONES E INTERFERENCIA

	Limitaciones	Interferencias
Toma de Muestra	<p>No realizar la correcta desinfección del sitio de punción para la toma de muestra, contaminado la muestra microbiota de la piel presente en la gota gruesa.</p> <p>No realizar la toma de muestra correcta.</p> <p>Muestras delgadas y mal coloreadas.</p>	<p>Laminas contaminadas con sangre de otros pacientes.</p> <p>Extendidos no homogéneos.</p>
Coloraciones	Reactivos vencidos	Colorantes contaminados.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

 <p>República de Colombia GOBIERNO DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	13 de 24

	<p>No estandarizar tiempos de coloración teniendo en cuenta condiciones ambientales.</p> <p>No contar con reactivos para realizar las coloraciones.</p> <p>Muestras mal fijadas, que al realizar la inmersión en azul de metileno se deprenden</p>	<p>Laminas contaminadas.</p> <p>Presencia de precipitado</p>
Microscopia	<p>Personal no entrenado en identificación de formas parasitarias de Plasmodium spp.</p> <p>Realizar recuentos parasitarios sin tener en cuenta el numero de leucocitos presente en los campos microscópicos.</p>	<p>Coloraciones con precipitados.</p> <p>Coloración con contaminación.</p> <p>Lentes y objetivos del microscopio rayados.</p> <p>Condiciones ambientales que dificulten la lectura de la laminas. (ruidos, movimientos de mesones, poco luminosidad)</p>
Prueba PDR	<p>Coloraciones con precipitados.</p> <p>Coloración con contaminación.</p> <p>Lentes y objetivos del microscopio rayados.</p>	<p>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.</p> <p>Exceso de sangre no permite ver las reacciones tenues encontrándose frente a una lectura dudosa.</p> <p>Aplicar a la PDR un volumen inadecuado de muestra, generalmente ocasionado por la dificultad en el manejo del colector de la muestra de sangre.</p> <p>Mal uso de la solución buffer. Cuando</p>

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

 <p>República de Colombia GOBIERNO DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	14 de 24

		<p>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.</p> <p>Aplicación en el pozo errado la sangre o buffer, generando resultados negativos o inválidos.</p>
--	--	---

8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

TIPO DE MUESTRA CONSERVACION Y TRANSPORTE	MOMENTO DE TOMA DE LA MUESTRA	TÉCNICA DIAGNÓSTICA	CRITERIOS DE RECHAZO	RECEPCION Y RADICACION
Sangre capilar obtenida por punción digital para FSP y GG, transportar las láminas a temperatura ambiente protegidas de su posible ruptura.	Cualquier momento	Frotis de Sangre Periférica(FSP) Gota Guesa(GG) Coloreados con colorantes derivados de Romanowsky	Laminas partidas. Laminas no coloreadas. Laminas no marcadas. Documentación incompleta.	Verificación del 100% las muestras entregadas de la recepción a el técnico del área en el área de recepción de muestras, verificación de la documentación recibida: muestras positivas deben ingresar ficha

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

 <p>República de Colombia GOBIERNO DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	15 de 24

				<p>notificación INS 465 malaria. Formato Control calidad MI-GS-RG-134. Todas las láminas serán ingresadas a la base de datos de recepción clínica para asignación del condigo interno del LDSP.</p>
<p>Sangre total obtenida por venopunción en tubos con EDTA (4 mL), transportar a 4 a 8°C con refrigerantes <i>Nota:</i> la viabilidad de los parásitos es por un periodo no mayor a 8 horas</p>	<p>Cualquier momento</p>	<p>Frotis de Sangre Periférica (FSP) Gota Gruesa (GG). Coloreados con colorantes derivados de Romanowsky o el mismo</p>	<p>Laminas partidas. Laminas no coloreadas. Laminas no marcadas. Documentación incompleta</p>	<p>Verificación del 100% las muestras entregadas de la recepción a el técnico del área en el área de recepción de muestras, verificación de la documentación recibida: muestras positivas deben ingresar ficha notificación INS 465 malaria. Formato Control calidad MI-GS-RG-134. Todas las láminas serán ingresadas a la base de datos de recepción clínica para asignación del condigo interno del LDSP.</p>
<p>Sangre capilar obtenida por punción digital para Pruebas</p>		<p>Prueba rápida PDR</p>	<p>Muestras coaguladas.</p>	<p>Verificación del 100% las muestras</p>

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

 <p>República de Colombia Departamento de Santander Gobernación de Santander</p>	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	16 de 24

<p>rápidas de malaria (PDR), en caso de remitirse para control de calidad, transportarlas a temperatura ambiente</p>			<p>Documentación incompleta</p>	<p>entregadas de la recepción a el técnico del área en el área de recepción de muestras, verificación de la documentación recibida: muestras positivas deben ingresar ficha notificación INS 465 malaria. Formato Control calidad MI-GS-RG-134. Todas las muestras serán ingresadas a la base de datos de recepción clínica para asignación del condigo interno del LDSP.</p>
<p>Necropsia: Hígado, Bazo, Pulmón, Cerebro, en formol.</p>	<p>Momento de la muerte</p>	<p>Estudio Patológico</p>	<p>Muestras no cumplan con las condiciones de almacenamiento.</p>	<p>Verificación del 100% las muestras entregadas de la recepción a el técnico del área en el área de recepción de muestras, verificación de la documentación recibida: muestras positivas deben ingresar ficha notificación INS 465 malaria. Historia clínica del paciente.</p>

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	17 de 24

				Todas las serán ingresadas a la base de datos de recepción clínica para asignación del condigo interno del LDSP.
--	--	--	--	--

9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

PROGRAMA	ANALISIS	MATRIZ	ALMACENAMIENTO	DESCARTE	RESPONSABLE
Parasitología	Malaria	Lamina Gota gruesa y / o Extendido sangre periferica	Temperatura ambiente se almacenará el 15 por ciento de las láminas negativas procesadas en el mes y todas las positivas.	Contenedor rotulado como riesgo biológico	TECNICO / PROFESIONAL DEL AREA

10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA

10.1 Equipos

- Microscopio óptico

10.2 Reactivos

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	18 de 24

- Azul de metileno fosfatado
- Colorante Field
- Aceite de inmersión
- Pruebas rápidas PDR.

10.3 Controles

Laminas caracterizadas como negativas y positivas con el fin de garantizar la correcta visualización de estructuras parasitarias de la malaria.

11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Las muestras recibidas en el área de parasitología para control de calidad de malaria son evaluadas teniendo en cuenta el siguiente procedimiento:

1. Realizar la verificación conjunta de la muestra confirmando datos registrados en la base de datos de malaria, los datos registrados en el formato control de calidad MI-GS-RG-134 y rotulo de la muestra recibida.
2. Al realizar la verificación de la muestra recibida proceder a su lectura microscópica.
3. Para la lectura de la gota gruesa es necesario colocar una gota de aceite de inmersión sobre la muestra y enfocar al microscopio con objetivo de 100X, luego se busca un campo microscópico ideal (que contenga de 10 a 20 leucocitos) y se continúa observando los campos adyacentes de arriba abajo o de izquierda a derecha.
4. Confirmar la positividad o negatividad de la gota gruesa realizar registro en el formato de control de calidad.
5. Identificar especie de Plasmodium y realizar registro en el formato.
6. Luego de identificado la especie de Plasmodium realizar el recuento de las formas parasitarias como se explicó en el punto 6. Fundamento del método.
7. Confirmar si no hay infección mixta de malaria por Plasmodium vivax y

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	19 de 24

falciparum.

8. Si tiene dudas en la especie se debe usar el extendido de sangre para observar los cambios que ocasiona el parásito al glóbulo rojo o la morfología más definida y clara de las estructuras parasitarias.
9. Registrar toda la información en la base de datos de malaria para posteriormente realizar la emisión del resultado.
10. Al finalizar la lectura se limpia el objetivo 100X del microscopio con papel de arroz.
11. Guardar las láminas en una caja porta laminas para control de calidad cumpliendo las indicaciones del área.

Las muestras que cumplan con los siguientes criterios deben ser enviadas al INS para la confirmación de resultados:

- Malaria Mixta
- Muerte por malaria
- Recuentos superiores a >25.000 p/ul de sangre
- Plasmodium diferentes a P. falciparum y P. vivax.

Estas muestras deben ser ingresadas a la plataforma SIVILAB, para envío y codificación de muestras a enviar.

12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO

Los procedimientos descritos en este manual se encuentran en la guía de aseguramiento de los resultados del área de parasitología en donde se describen los puntos para la validación y verificación de cada resultado emitido por el área de parasitología del Laboratorio departamental de Salud pública de Santander.

Aplicar cada lineamiento definido en la guía, cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio y personal calificado y capacitado en el área, lo cual garantiza que los ensayos realizados en el área de parasitología del Laboratorio Departamental de Salud Pública de rendimiento acordes, a los esperados.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	20 de 24

13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El LDSP realiza la evaluación técnica de la muestra, coloración y reproducibilidad en el resultado de diagnóstico, distribución de la muestra, número de frotis, contaminación. Si no se presentan casos durante el mes, informar en el formato establecido: cero casos.

Evaluación de la Concordancia:

La concordancia en resultado: Se refiere a la evaluación del resultado emitido en cuanto al reconocimiento de láminas con el parásito.

La evaluación de concordancia o Discordancia está en función al puntaje obtenido de las láminas evaluadas correctamente sobre el puntaje ideal:

$$\% \text{ Concordancia} = \frac{\text{Puntaje obtenido} \times 100}{\text{Puntaje Ideal}}$$

Evaluación de Oportunidad:

Evalúa el envío de las muestras para control de calidad los 10 primeros días de cada mes.

Se evalúa así:

Oportunidad dentro de los 10 primeros días : 100 %

Después de los 10 primeros días: 0 %

Evaluación Calidad de la muestra:

En la calidad técnica de la gota gruesa se considera:

1. Espacio entre las dos muestras 0.5 cm
2. Tamaño: 1 cm. de diámetro.
3. Calidad: 10 a 20 leucocitos por campo

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	21 de 24

4. Deshemoglobinizado: El fondo de la lámina debe estar limpio de todo resto de glóbulos rojos, artefactos o resto de colorante.
5. Tonalidad: La tonalidad del parásito debe ser de un núcleo color rojo grosella, el citoplasma azul cielo y el pigmento de tonalidad amarillo sin brillo. Los leucocitos deben tener un citoplasma basófilo azul cielo, un núcleo azul purpura y los gránulos de color rojo o azul. Los monocitos deben tener citoplasma gris, el núcleo azul tenue. Los neutrófilos con citoplasma rosado y núcleo purpura. Los eosinófilos con citoplasma rosado, gránulos, rojo salmón. Basófilos citoplasma y núcleo color azul con granulaciones burdas (grueso).
6. Precipitado: Ausencia de precipitado
7. Láminas que no estén partidas
8. Láminas que no estén coloreadas.
9. Muestras sin la documentación requerida.

Se evalúa de la siguiente forma:

Muestras Aceptadas: Numero de muestras que fueron evaluadas

Muestras No aceptadas: Numero de muestras que no fueron evaluadas

Calidad de la muestra:
$$\frac{\text{Numero de muestras evaluadas} \times 100}{\text{Total de muestras enviadas al LDSP}}$$

Evaluación Calidad de la información:

Se evalúa la concordancia de la información enviada sobre la información emitida por el analista del área de parasitología del LDSP, dando como resultados número de informes adecuados y no adecuados.

Informes adecuados

Informes no adecuados.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	22 de 24

Índice Kappa

El índice kappa (κ) se usa para evaluar la concordancia o reproducibilidad de instrumentos de medida cuyo resultado es categórico (2 o más categorías).

$$\text{Formula: } K = \frac{P_0 - P_e}{1 - P_e}$$

P₀: Proporción de acuerdo observados

P_e: Proporción de acuerdos esperados

Kappa	Grado de acuerdo
< 0,00	Sin acuerdo
0,00-0,20	Insignificante
0,21-0,40	Mediano
0,41-0,60	Moderado
0,61-0,80	Sustancial
0,81-1,00	Casi perfecto

14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS

Los laboratorios intermedios remiten su resultado de control de calidad, a sus niveles locales, en forma mensual en el formato CONTROL DE CALIDAD MALARIA MI-GS-RG-134. El área de parasitología realiza el envío de los resultados de control de calidad en este mismo formato, en el cual se informa el resultado, la especie parasitaria, recuento parasitario, observaciones, oportunidad en el envío de las muestras, muestras aceptadas, concordancia, índice kappa. El LDSP tiene un plazo máximo de 30 días la emisión de resultados y envío de forma digital.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

 <p>República de Colombia GOBIERNO DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	23 de 24

15. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS

Diagnóstico molecular

Se lleva a cabo mediante la técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) usando como blanco de amplificación el gen que codifica para la subunidad ribosomal pequeña 18S del ARN ribosomal (ssrRNA 18s). La extracción del ADN del parásito se realiza a partir de una muestra de sangre impregnada en papel filtro o sangre anticoagulada mediante kit comercial, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se usa una hoja de bisturí por cada muestra (papel de filtro) y simultáneamente con la extracción del ADN de las muestras, se procesará un control de extracción a partir de un círculo de papel filtro con sangre de un individuo sin malaria.

Se realiza una primera reacción de PCR la cual se realiza con iniciadores específicos para determinar género.

La segunda reacción de PCR o PCR anidada se realizará con iniciadores específicos de especie, los cuales anillan dentro de la secuencia previamente amplificada.

16. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

1. Instituto Nacional de Salud. Guía para la vigilancia por laboratorio de parásitos de género Plasmodium spp, 2022
2. Instituto Nacional de Salud, Fondo Mundial, MCP. Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento, 2015. ISBN: 978-958-13-0175.

17. ANEXOS

- MI-GS-RG-134

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas

 <p>República de Colombia GOBIERNO DE SANTANDER</p>	MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-70
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	02/06/2023
		PÁGINA	24 de 24

18. CONTROL DE CAMBIOS

CONTROL DE CAMBIOS				
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO	REVISÓ	APROBÓ
0	18/05/2023	Emisión inicial del documento	Alba Rocío Orduz Amézquita Líder Grupo LDSP German Eduardo Marín Cárdenas Director de Salud Integral Diego Sánchez Báez Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad César Ernesto Sánchez Aranda Director de Planeación y Mejoramiento en Salud	Javier Alonso Villamizar Suarez Secretario de Salud de Santander

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Hermelinda Quiroga López	Diego García Medina	Alejandra Galvis Vargas