

# **SALUD**

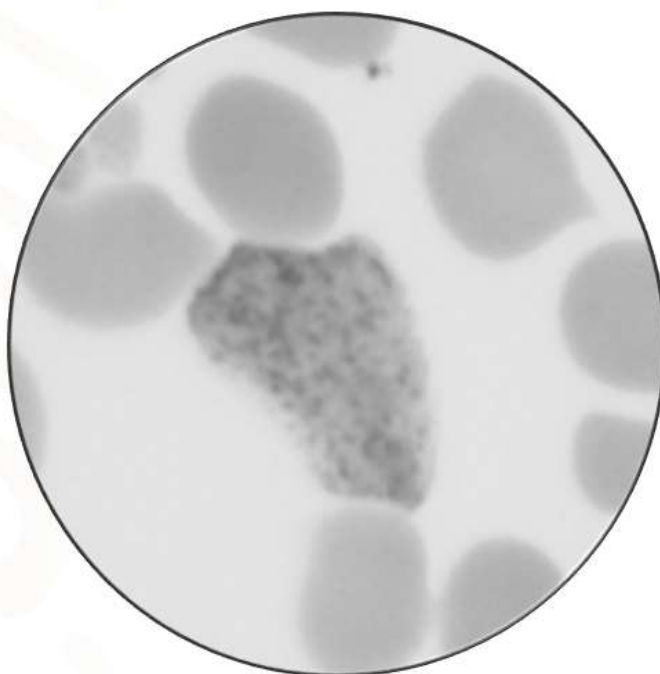
SECRETARÍA DE SALUD



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

# **Lineamientos de Vigilancia por Laboratorio**

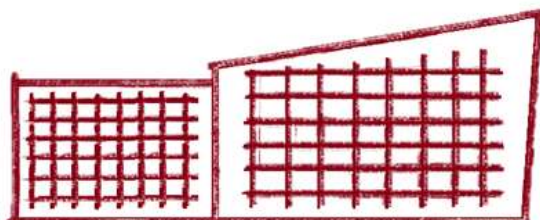
**Del Paludismo**



# **80**

1939-2019  
ISET-InDRE

## **InDRE**



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



# LINEAMIENTOS PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DEL PALUDISMO

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos  
“Dr. Manuel Martínez Báez”

2018

PRIMERA EDICIÓN. 2019

INDRE

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

TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS CONFORME A LA LEY

© INDRE-SECRETARÍA DE SALUD

SE PERMITE LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL SI SE CITA LA FUENTE: “INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS “DR. MANUEL MARTÍNEZ BÁEZ”. LINEAMIENTOS PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DEL PALUDISMO, INDRE. MÉXICO: SECRETARÍA DE SALUD; 2018”

COLECCIÓN PUBLICACIONES TÉCNICAS DEL INDRE

ISBN: EN PROCESO

INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS “DR. MANUEL MARTÍNEZ BÁEZ”

FRANCISCO P MIRANDA 177, COL. LOMAS DE PLATEROS, D.T. ÁLVARO OBREGÓN, C. P. 01480, CIUDAD DE MÉXICO, [www.gob.mx/salud](http://www.gob.mx/salud)

TEL. (55)50-62-16-00

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

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

IMPRESO EN MÉXICO. PRINTED IN MEXICO

PARA DUDAS SOBRE EL CONTENIDO DE ESTE LINEAMIENTO PONERSE EN CONTACTO CON [juan.roman@salud.gob.mx](mailto:juan.roman@salud.gob.mx) Y CON LA COORDINACIÓN DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DEL PALUDISMO A TRAVÉS DEL CORREO: [juan.serna@salud.gob.mx](mailto:juan.serna@salud.gob.mx) CON EL ASUNTO: CONTENIDO DE LINEAMIENTOS.

## SECRETARÍA DE SALUD

Dr. Jorge Alcocer Varela

SECRETARIO DE SALUD

Dra. Asa Cristina Laurell

SUBSECRETARIA DE INTEGRACIÓN Y DESARROLLO DEL SECTOR SALUD

Dr. Hugo López-Gatell Ramírez

SUBSECRETARIO DE PREVENCIÓN Y PROMOCIÓN DE LA SALUD

Dr. José Luis Alomía Zegarra

DIRECTOR GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA

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

**Biól. Irma López Martínez**

DIRECTORA DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA

**Mtra. Lucía Hernández Rivas**

DIRECTORA DE SERVICIOS Y APOYO TÉCNICO

**Lic. Adriana Castro Cabrera**

SUBDIRECTORA DE OPERACIÓN

**Biól. Norma Angélica Montes Colima**

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA

**Mtra. Dalia Viviana Vallejo Jauffred**

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y VALIDACIÓN DE TÉCNICAS

**Mtra. Judith Estévez Ramírez**

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE MUESTRAS Y SERVICIOS

**Mtro. Hiram Olivera Díaz**

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ENFERMEDADES EMERGENTES Y URGENCIAS

**Dra. Clara Gorodezky Lauferman**

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA

**Dra. Gabriela Meneses Ruiz**

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

**Mtra. Mónica Salas García**

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA

## GRUPO DE TRABAJO

**DR. JUAN MANUEL SERNA VELÁZQUEZ**

JEFE DEL LABORATORIO DE PALUDISMO

COORDINADOR DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DEL PALUDISMO

NOMBRE

M. EN C. DAVID GARCÍA SÁNCHEZ

MIC. MA. ISABEL LARA MAGADÁN

MIC. ANA MARÍA SEIDY ZAMORA CARRILLO

MIC. MA. MAURA LUNA ZARAÚA

MIC. JORGE RODRÍGUEZ GUILLERMO

TEC. ROCÍO BEATRIZ LARA ESPINOSA

LABORATORIO DE PALUDISMO

# CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	9
ANTECEDENTES	13
Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública .....	13
Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia del Paludismo	14
MARCO LEGAL	15
DEFINICIONES OPERACIONALES	17
OBJETIVOS	18
Objetivo General	18
Objetivos Específicos	18
RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DEL PALUDISMO	19
FUNCIONES DE LOS INTEGRANTES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DEL PALUDISMO	21
Funciones de los laboratorios a nivel municipal o jurisdiccional	21
Funciones de los Laboratorios Estatales de Salud Pública .....	22
Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia .....	24
TOMA, MANEJO Y ENVÍO DE MUESTRA	25
Criterios de aceptación y rechazo de muestras	28
Muestras de alto valor	29
ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO	29
CALIDAD EN EL SERVICIO DIAGNÓSTICO	32
PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DEL DESEMPEÑO	33
CRITERIOS PARA LA LIBERACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS PARA LA VIGILANCIA DEL PALUDISMO	36
Los LESP perderán su liberación diagnóstica cuando ocurra cualquiera de los siguientes escenarios:	36
BIBLIOGRAFÍA	37
ANEXOS	39
Anexo I: Bioseguridad en el Laboratorio	39
Anexo II: Técnicas de Diagnóstico y preparación de reactivos	39
Anexo III. Formatos	44



## INTRODUCCIÓN

El paludismo, también conocido como malaria, es una enfermedad parasitaria causada por protozoarios del género *Plasmodium* y transmitida al ser humano por la picadura de mosquitos hembra, del género *Anopheles*, infectados con el parásito. Existen alrededor de 150 especies diferentes de *Plasmodium*, sin embargo, sólo 4 pueden infectar al hombre *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae* y *Plasmodium ovale*. En la actualidad existen reportes de casos aislados en Asia de Paludismo ocasionado por *Plasmodium knowlesi* conocido por causar enfermedad en primates.

En general, cuando un *Anopheles* hembra ingiere sangre con el parásito en sus etapas sexuales (gametocitos), los gametos masculino y femenino se unen en el estómago del mosquito y forman el oocineto, este atraviesa la pared gástrica y forma un quiste, u oocito, en su cara externa, en el que se desarrollan alrededor de 1,000 esporozoítos en un período que dura entre 8 y 35 días, dependiendo de la especie del parásito y de la temperatura. Los esporozoítos atraviesan la pared del quiste, llegan a las glándulas salivales y son inyectados a otra persona cuando el mosquito hembra vuelve a picar.

En un huésped susceptible, los esporozoítos infectan células del hígado y se transforman en esquizontes (exoeritrocíticos ó hepáticos) los cuales al madurar liberan miles de merozoítos al torrente sanguíneo donde infectan eritrocitos. En estas células sanguíneas los merozoítos se convierten en trofozoítos los cuales crecen y se multiplican de forma cíclica. La mayor parte se convierte en formas asexuales, de trofozoítos a esquizontes sanguíneos maduros, que rompen el eritrocito entre 48 y 72 horas y liberan de 8 a 30 merozoítos eritrocíticos (según la especie), que a su vez infectan a otros eritrocitos. Durante cada ciclo, la ruptura de eritrocitos por un gran número de esquizontes eritrocíticos (liberando nuevos merozoítos y compuestos tóxicos propios del metabolismo del parásito) ocasiona los síntomas clínicos. En el interior de los eritrocitos infectados, algunos merozoítos pueden transformarse en formas sexuales (gametocitos). Por lo general los gametocitos aparecen en el torrente sanguíneo a los 3 días después de la parasitemia manifiesta con *P. vivax* y *P. ovale*; y después de 10 días en *P. falciparum* (Figura 1.)

En caso de *P. vivax* y *P. ovale*, algunos esporozoítos al infectar célula hepática, entran en estados de latencia conocidos como hipnozoítos, los cuales con el paso del tiempo (meses o años) tienen la capacidad de reactivarse produciendo “recaídas”. En la infección por *P. malariae* y *P. falciparum*, puede persistir un número escaso de parásitos en los eritrocitos, que al multiplicarse a un cierto nivel ocasionan nuevamente los síntomas (recrudescencia).

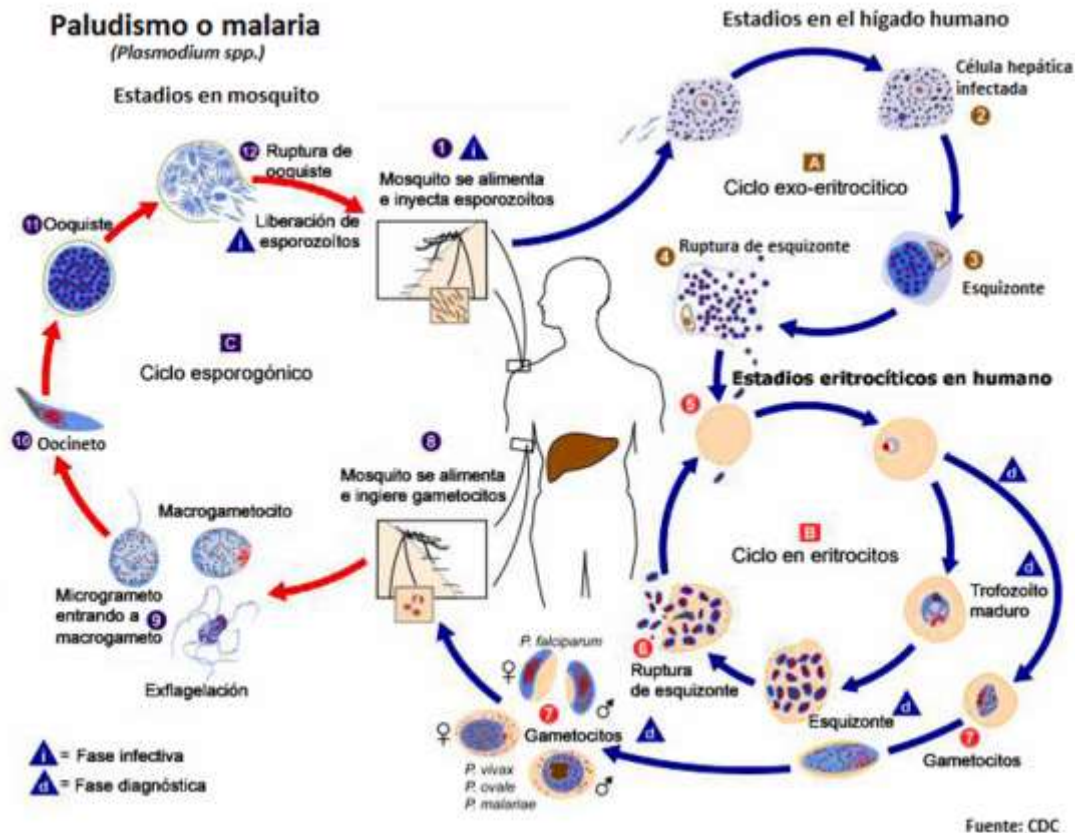


Figura 1. Ciclo de vida del *Plasmodium* spp. (Tomado y traducido de <http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>).

Las características de la transmisión y enfermedad por paludismo varían entre regiones, aún dentro del mismo país; y éstas dependen de factores relacionados con la especie del parásito, el vector, el hospedero humano, las condiciones ecológicas que intervienen en la transmisión de la parasitosis y de factores socioeconómicos como la pobreza, las condiciones de los servicios de atención a la salud y la prevención en las comunidades, principalmente en áreas tropicales y subtropicales. La mayoría de los casos de paludismo se genera cuando el mosquito pica al hospedero entre el anochecer y el amanecer.

La enfermedad es severa y potencialmente mortal, dependiendo de la especie de *Plasmodium* que la produzca. La inyección o transfusión de sangre infectada con el parásito y el empleo de agujas y jeringas contaminadas, también son fuente para la transmisión de la enfermedad.

El paludismo es una enfermedad febril aguda. Los síntomas aparecen a los 7 días o más después de la picadura del mosquito infectivo (generalmente entre los 10 y los 15 días). Los síntomas del paludismo son muy generales e inespecíficos, por lo

que puede ser difícil reconocer el origen palúdico de los primeros síntomas (fiebre, cefalea, sudoración intensa, escalofríos y vómitos), siendo necesario confirmar el diagnóstico, mediante la observación del parásito. Especialmente en el caso del paludismo causado por *P. falciparum*, es muy importante la prontitud de la confirmación por laboratorio, esto debido a que el paciente debe ser tratado lo antes posible de iniciados los síntomas, ya que de lo contrario el cuadro puede agravarse e incluso provocar la muerte. La OMS recomienda que no debe ser mayor a las 72 horas el periodo de inicio de síntomas hasta inicio de tratamiento (pasando por diagnóstico de laboratorio).

La inmunidad humana es un factor importante en la transmisión de la enfermedad, especialmente entre los adultos residentes en zonas que reúnen condiciones de transmisión moderada a intensa. La inmunidad se desarrolla a lo largo de años de exposición y, a pesar de que no proporciona una protección completa, reduce el riesgo de que la infección cause una enfermedad grave.

Es por ello que la mayoría de las muertes registradas en África corresponden a niños pequeños, mientras que en zonas con menos transmisión y menor inmunidad se encuentran en riesgo todos los grupos de edad. Los viajeros no inmunes, procedentes de zonas sin paludismo que contraen la infección son muy vulnerables a la enfermedad, por ello, se debe sospechar de paludismo en pacientes con fiebre que regresan a su lugar de origen, después de haber viajado a alguna de las regiones endémicas de este padecimiento, o también de aquellos pacientes febriles que migran a otro lugar tras haber residido en alguna de estas zonas, especialmente en aquéllas donde el paludismo es producido por *P. falciparum*.

*P. falciparum* y *P. vivax* son las especies que producen paludismo con mayor frecuencia y *P. falciparum* es causa de la mayor cantidad de defunciones anuales por esta enfermedad, contribuyendo además a muchas otras defunciones, en asociación con otras patologías, principalmente en niños pequeños.

De acuerdo a lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2015 se considera al paludismo como una prioridad de salud a nivel mundial. Actualmente se presenta en 106 países, en los que más de 3,200 millones de personas se encuentran en riesgo de adquirir la enfermedad y más de mil millones están en riesgo alto de contraerla (probabilidad >1 en 1,000 de contraer paludismo en un año).

El paludismo es una enfermedad prevenible y curable. En años recientes, gracias al aumento de las medidas de prevención y el control de la carga de enfermedad, se ha reducido notablemente en muchos países. De acuerdo a las estimaciones de

la OMS, en 2015 se produjeron 214 millones de casos de Paludismo (con un margen de certidumbre que oscila entre 149 y 303 millones) que ocasionaron la muerte de alrededor de 438,000 personas (con un margen de incertidumbre que oscila entre 236,000 y 635,000). La mayoría de las muertes por paludismo se producen en niños que viven en África, donde cada dos minutos muere un menor a causa de esta enfermedad. En el continente americano, la tasa de mortalidad por malaria en niños se ha reducido desde el año 2000 en un porcentaje estimado del 54%.

En la región de las Américas, la OMS ha reportado reducciones en la incidencia de más del 75% en 13 de los 21 países en los que persistía la transmisión durante el periodo de 2000 a 2012. Por su parte, México reportó en 2013 logros importantes mediante un programa de “Tratamiento focalizado”, el cual consiste en un tratamiento eficaz de los casos y el rociamiento racional de insecticidas de acción residual en determinadas zonas del país, lo que ha logrado interrumpir la transmisión en gran parte del territorio nacional.

Para diciembre de 2014, la OMS incluyó a México entre los seis países de América que se encuentra en fase de pre-eliminación del paludismo en su territorio. Argentina, país que se encuentra en fase de eliminación, ha reportado cero casos autóctonos desde 2011; y ha iniciado ya su proceso de certificación de eliminación de la malaria.

En México, los 4 focos de transmisión persistente de importancia se ubican en la vertiente del Océano Pacífico: en Chiapas (frontera con Guatemala); en el sur de Quintana Roo; al noroeste del país, en el límite fronterizo entre Durango y Nayarit; y el cuarto en los estados de Chihuahua, Sinaloa, Sonora y Durango (figura 2.)



Figura 2. Focos persistentes de Paludismo en México: Chiapas, Quintana Roo, límite entre Durango-Nayarit, y en los estados de Chihuahua, Sinaloa, Sonora y Durango (Tomado de World Malaria Report. 2016 <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/252038/1/9789241511711-eng.pdf>).

Los casos autóctonos que se reportan en el país son por *P. vivax*. Eventualmente, se reportan casos de *P. falciparum*, *P. malariae* y *P. ovale*. México reportó 596 casos de paludismo, de los cuales 551 fueron autóctonos y causados por *P. vivax*, y se registraron 45 importados por las especies *vivax* (31) y *falciparum* (14).

El control de la Paludismo a nivel mundial se basa en la veracidad y oportunidad del diagnóstico y el tratamiento adecuado. El presente documento establece los lineamientos de operación para:

- La vigilancia epidemiológica de Paludismo basada en el laboratorio.
- Estructura, organización y funcionamiento de la red nacional para el diagnóstico de Paludismo.
- La toma, manejo y envío de muestras.
- La metodología para el análisis de muestras.
- La evaluación del desempeño de los laboratorios de la RNLSP.
- El sistema de aseguramiento de la calidad en el diagnóstico de Paludismo

## ANTECEDENTES

### Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública

La Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (RNLSP) es el conjunto de laboratorios con objetivos específicos que permiten unificar métodos de diagnóstico, criterios de interpretación de resultados, transferencia tecnológica, generación de conocimiento y formación de recursos humanos que garanticen procedimientos técnico-administrativos que produzcan información de laboratorio útil para la vigilancia epidemiológica y la operación de los programas preventivos.

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

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

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

En la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública se cuenta con el diagnóstico de Paludismo.

## Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia del Paludismo

Durante la década de 1920 a 1930, el personal encargado del diagnóstico de paludismo de la Secretaría de Salud recibió capacitación en instituciones en el extranjero, principalmente en Estados Unidos, acerca de Paludismo y otras enfermedades parasitarias de importancia en Salud Pública. En 1935 se consideró la creación de un centro de investigación y docencia en México, para las enfermedades de importancia en Salud Pública, con la participación del personal capacitado en la década anterior. Este proyecto se concretó en 1939 con la inauguración el 19 de marzo del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales (ISET).

De las enfermedades prioritarias para el ISET, el Paludismo ocupó el segundo lugar por causa de mortalidad con una tasa de 130 defunciones por cada 100,000 habitantes y una morbilidad del 10% de la población general. El laboratorio de Protozoología del ISET, tenía dentro de sus funciones la vigilancia de aves de mercado y pájaros silvestres parasitados con *Plasmodium relictum*, así como el mantenimiento de las cepas de *P. gallinaceum* y *P. cathemerium*, donadas por Francia y Estados Unidos. Otro laboratorio con funciones similares a las del ISET, fue el Laboratorio de Epidemiología y Estadística a cargo del estudio de la distribución de la población de México, la vigilancia epidemiológica del Paludismo y la fiebre amarilla, entre otros padecimientos. De 1950 a 1954 el Paludismo ocupó el tercer lugar en México como causa de defunción con un promedio de 25,000 muertes anuales en una población de casi 16 millones de habitantes en el área palúdica.

En 1955 se creó la Comisión Nacional para la Erradicación del Paludismo que llevaba a cabo sus funciones con un programa de tres fases: preparatoria, ataque y consolidación. En 1956 durante la fase preparatoria se definió el límite del área palúdica: 150,000 km<sup>2</sup> del territorio nacional; se realizó el censo y la cartografía así como, el reclutamiento y adiestramiento del personal participante en el programa, en cuya estructura se encontraba el Laboratorio Central de Paludismo, el cuál constituyó una pieza fundamental. El modelo de este laboratorio se reprodujo en todo el país dando lugar a la Red Nacional de Laboratorios de Diagnóstico de Paludismo.

En la fase de ataque del programa (1957-1961) en las localidades donde se logró interrumpir la transmisión (75% del área palúdica inicial) se inició la última fase, denominada fase de consolidación, para continuar con la de ataque en las áreas con persistencia de la enfermedad.

Durante los años de 1965 a 1970 una deficiente vigilancia epidemiológica ocasionó que la fase de consolidación se redujera hasta el 50% y 37% respectivamente. Posterior al deterioro de las condiciones generales del programa, entre las acciones

de mejora se estableció la observación microscópica oportuna de las muestras de sangre como una medida específica de la vigilancia epidemiológica.

En 1981 y 1982, se le asignó al ISET el control de calidad de las ya existentes redes nacionales de diagnóstico de cáncer cérvicouterino, tuberculosis, paludismo, lepra, mal del pinto y dengue; y el laboratorio central de la red para el diagnóstico de Paludismo se reubicó en las instalaciones del ISET conocido ya entonces como Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez” (INDRE, 1985) formando parte de la Red Nacional de Laboratorios Estatales de Salud Pública (RNLSP).

En 1997 se inició la evaluación directa del desempeño para los laboratorios del país a través de la aplicación de paneles de eficiencia generados en el Laboratorio de Paludismo del INDRE, cuyos resultados generaron la necesidad de una evaluación de la RNLSP, mediante paneles que se conformaron siguiendo procedimientos estandarizados. En 2005 se llevó a cabo el Programa de Evaluación Externa del Desempeño (PEED) para los microscopistas de la red de enfermedades parasitarias transmitidas por vector (PEEDMiVec) que conjunta muestras anualmente de los Laboratorios de Paludismo, Enfermedad de Chagas y Leishmaniosis, e informa los resultados a los laboratorios, de acuerdo con los lineamientos establecidos por el Boletín Caminando a la Excelencia.

En enero del 2012 el laboratorio de paludismo del INDRE se certificó con base en los requerimientos de la Norma Internacional ISO 9001:2008 Sistemas de gestión de la calidad, y en 2014 se acreditó con los requerimientos de la Norma ISO 15189: 2012 para la acreditación de los laboratorios clínicos, con el objetivo de demostrar la competencia técnica en el proceso diagnóstico del Paludismo.

En noviembre del 2012 el Laboratorio de Paludismo se incorporó al Programa de Evaluación Externa del Desempeño del diagnóstico microscópico de Paludismo para los países de Mesoamérica y el Caribe, establecido por el laboratorio de Referencia Supranacional (Laboratorio Nacional de Salud Pública), de la Secretaría de Salud de Honduras a través de la Organización Panamericana de la Salud (OPS).

## MARCO LEGAL

### Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos

- Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos. Artículo 4. Diario Oficial de la Federación 05/02/1917, Última Reforma D.O.F. 15/09/2017.

### Leyes

- Ley General de Salud, México. Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 7 de febrero de 1984. Última reforma publicada DOF 11/05/2018.
- Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos. D.O.F. 13/03/2012. Última reforma en D.O.F. 18/07/2016.

- Ley General del Sistema Nacional Anticorrupción; la Ley General de Responsabilidades Administrativas, y la Ley Orgánica del Tribunal Federal de Justicia Administrativa. D.O.F 18/07/2016.
- Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados. D.O.F. 26/01/2017.

## Reglamentos

- Reglamento Interior de la Secretaría de Salud. México. Publicado en el Diario Oficial de la Federación el 19 de enero de 2004. Última reforma en D.O.F. 07/02/2018
- Reglamento Sanitario Internacional (2005) 2da edición. Ginebra Suiza 2008. Organización Mundial de la Salud.

## Normas Oficiales Mexicanas

- Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, Para la vigilancia epidemiológica.
- Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2014. Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector.
- Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-035-SSA3-2012. En materia de información en salud.
- Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-018-STPS-2015, Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo.

## Planes y Programas

- Plan Nacional de Desarrollo 2019-2024.
- Secretaría de Salud. Programa Sectorial de Salud 2019-2024.
- Secretaría de Salud. Programa de Acción Específico 2019-2024. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, primera edición 2019.



- Programa de Acción Específico para la Prevención y Control de las Enfermedades Transmitidas por Vector; 2019-2024. México: Secretaría de Salud; 2019.

## Lineamientos y Manuales

- Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Vector; Dirección General de Epidemiología. México: Secretaría de Salud; 2018.
- Criterios de Operación para la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública Componente Vigilancia Epidemiológica; Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”. México: Secretaría de Salud; 2019.
- Lineamientos para la Gestión del Riesgo Biológico; Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”. México: Secretaría de Salud; 2019.
- Lineamientos para el reconocimiento a la competencia técnica de los laboratorios que apoyan a la vigilancia epidemiológica; Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, “Dr. Manuel Martínez Báez”. México: Secretaría de Salud; 2019.
- Manual para la toma, envío y recepción de muestras para diagnóstico, Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”. México: Secretaría de Salud; 2019.

## DEFINICIONES OPERACIONALES

Las definiciones de caso se encuentran establecidas en el Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Vector:

- **Caso probable:** toda persona que resida o provenga de área con antecedente de transmisión de paludismo (en los últimos tres años) y que en el último mes presente o haya presentado fiebre más los siguientes signos y síntomas: cefalea, diaforesis y escalofríos.
- **Caso confirmado (fase eliminación):** toda persona en quien se compruebe mediante métodos parasitológicos o moleculares reconocidos por el InDRE la presencia de *Plasmodium* en sangre.
- **Caso descartado:** Todo caso probable en quien no se detecta la presencia del *Plasmodium* en sangre por las técnicas de laboratorio reconocidas por el InDRE.

- **Recaída:** es la reanudación de la manifestación de una infección por *P. vivax* o *P. ovale* surgida después de una latencia temporal de la activación de los hipnozoítos en un período de dos meses hasta 3 años. (Caso confirmado de paludismo debido a la activación de los hipnozoítos de *P. vivax* o *P. ovale* contraídos previamente).
- **Recrudescencia:** Reaparición de parasitemia de formas asexuadas después de un tratamiento antimalárico, debido a la eliminación incompleta de formas eritrocíticas asexuadas con el mismo o las mismas especies que causaron la enfermedad original.
- **Caso importado:** caso confirmado en el cual se demuestra por evidencias epidemiológicas y parasitológicas que la infección se adquirió fuera del país.
- **Caso foráneo:** todo caso confirmado, cuyo origen es un estado del país con transmisión de paludismo, que se detecta en otro estado.
- **Caso Índice:** caso cuyas características epidemiológicas desencadenan una detección activa de otros casos. El término “caso índice” también se utiliza para designar el caso que originó la infección de uno o varios casos introducidos.
- **Caso autóctono:** todo caso confirmado contagiado localmente sin evidencia de importación y sin vínculo directo con la transmisión de un caso importado.
- **Caso Inducido:** caso confirmado en el que el origen se atribuye a una transfusión de sangre u otra forma de inoculación parenteral del parásito, pero no a la transmisión por un mosquito.
- **Caso introducido:** caso confirmado infectado localmente con evidencia epidemiológica que lo vincula directamente a un caso importado (transmisión local de primera generación).

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Establecer y dar a conocer a la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia del Paludismo (RNLSP-Paludismo), los procedimientos estandarizados de diagnóstico, control de calidad y referencia de las muestras, para un diagnóstico oportuno y de calidad, que garantice la confiabilidad diagnóstica y el resultado.

### Objetivos Específicos

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

- Estandarizar los procesos de diagnóstico del Paludismo mediante el cumplimiento de los lineamientos nacionales e internacionales establecidos.

### Ámbito de aplicación

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

## RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DEL PALUDISMO

La RNLSP-paludismo está encabezada por el Laboratorio de Paludismo del InDRE como Laboratorio Nacional de Referencia (LNR), adscrito al Departamento de Parasitología del InDRE. La Red está integrada por:

- Laboratorios Estatales de Salud Pública (LESP),
- Laboratorios de diagnóstico jurisdiccionales,
- Laboratorios públicos y privados que realizan el diagnóstico microscópico del padecimiento (figura 3).

Estos últimos son considerados como red de apoyo a nivel estatal, toda muestra que sea leída por un laboratorio que no tiene reconocimiento del InDRE debe participar como notificante y enviar la laminilla junto con los formatos correspondientes al laboratorio municipal más cercano para su relectura y su respectivo control de calidad. La emisión oficial del resultado de la lectura primaria, se dará por parte del laboratorio jurisdiccional; la emisión del resultado de control de calidad se dará por parte del LESP y/o InDRE.

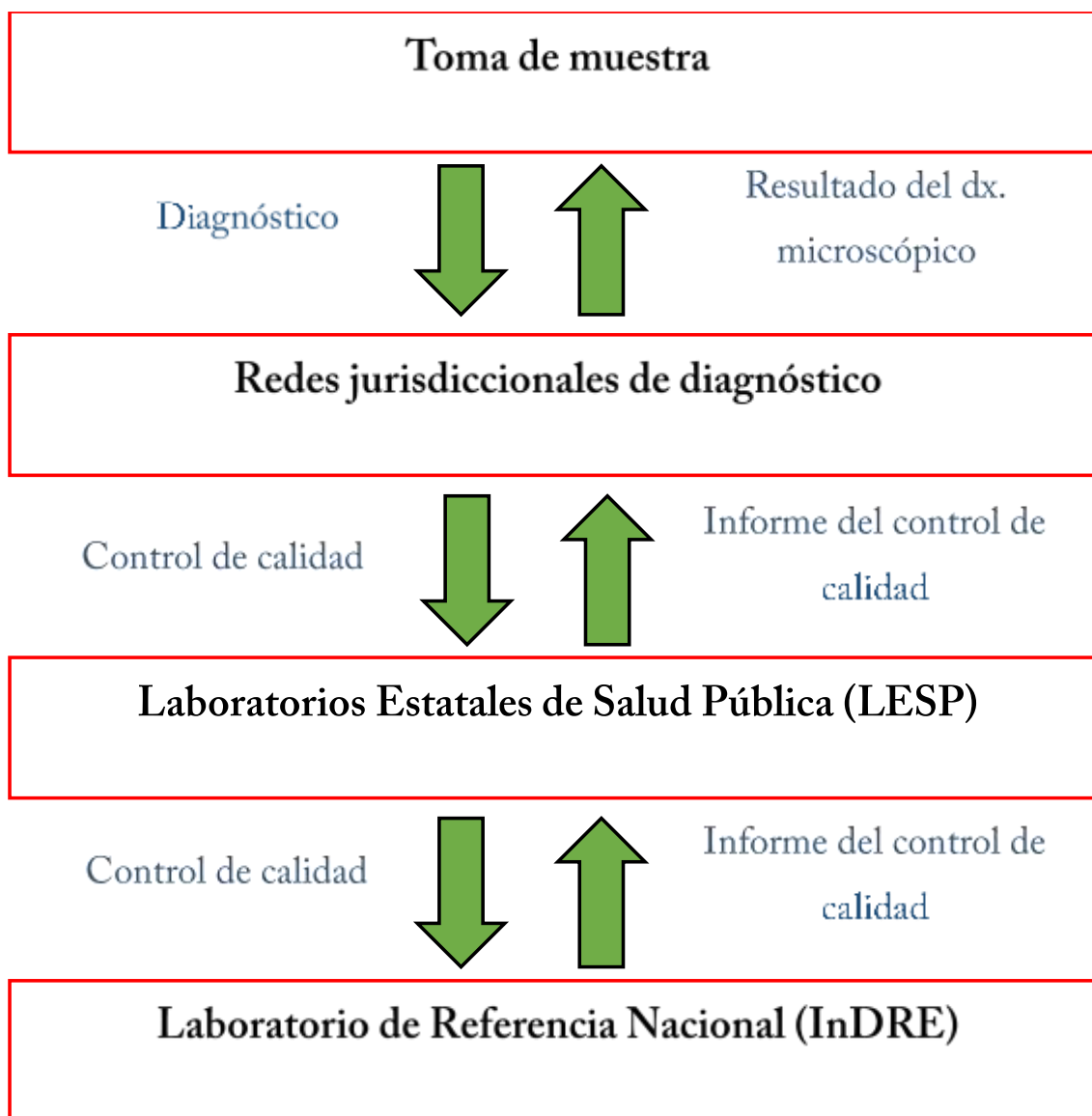


Figura 3. Flujo de trabajo de la red nacional de laboratorios para el diagnóstico de paludismo.

### Organización de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia del paludismo

De acuerdo con los datos de la última evaluación realizada (2017), la RNLSP-paludismo está conformada por 93 laboratorios jurisdiccionales, 32 laboratorios estatales y el laboratorio de referencia nacional en los cuales se distribuyen 185 microscopistas jurisdiccionales; 63 estatales y 6 a nivel central.

# FUNCIONES DE LOS INTEGRANTES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DEL PALUDISMO

Funciones de los laboratorios a nivel municipal o jurisdiccional

Las funciones que le competen son las siguientes:

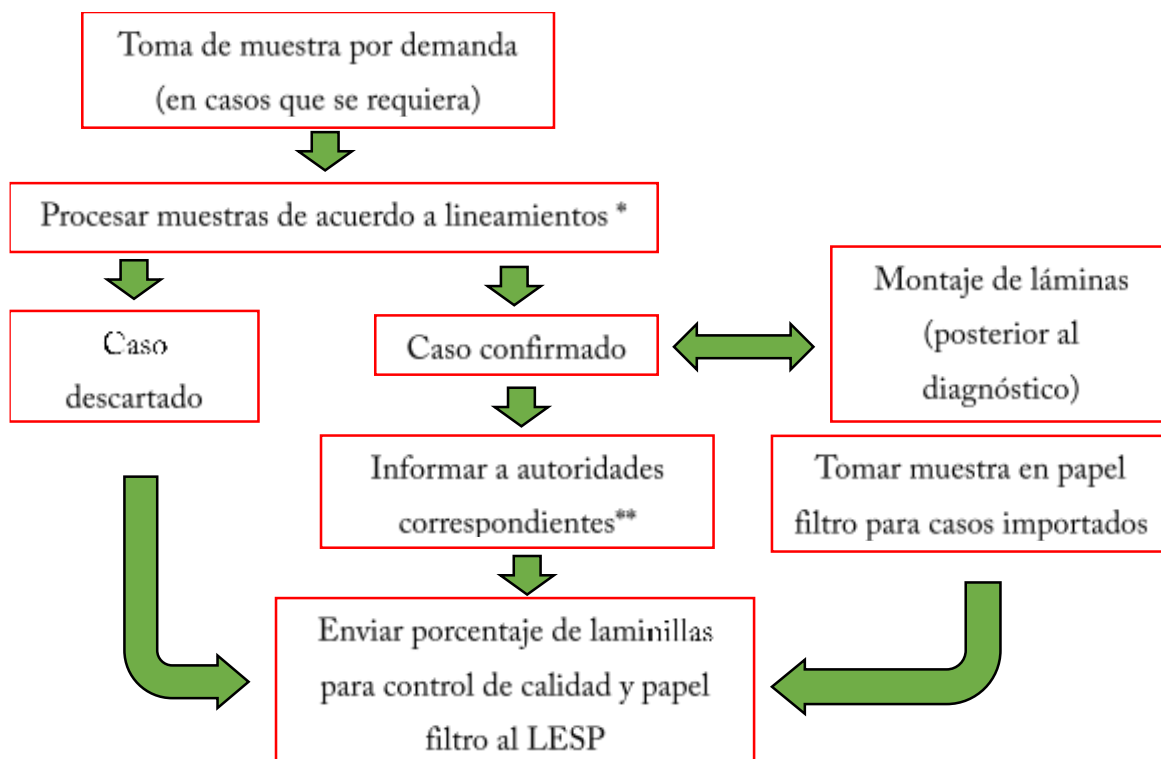


Figura 4. Funciones de los integrantes de la RNLSP. \*Para asegurar la trazabilidad de las muestras procesadas, así como la oportunidad en la entrega de resultados, el microscopista debe registrar en una bitácora toda muestra leída con los siguientes datos: **Nombre del paciente; fecha de nacimiento, fecha de inicio de síntomas, fecha toma de la muestra, fecha de recepción de la muestra, fecha de lectura, fecha de emisión de resultados, así como nombre y firma del personal que recibe el resultado.** (1) \*\*Jefe jurisdiccional, responsable de programa o epidemiólogo jurisdiccional, así como el responsable estatal de microscopistas. (2)

- De todos los casos confirmados enviar al LESP la información del punto 1 y copia del formato: estudio epidemiológico de enfermedades transmitidas por vector, o copia del formato N1 con el folio SIPE-N1.
- En todos los casos importados, coordinarse con los responsables del programa de prevención y control de paludismo o epidemiología, para obtener una muestra de sangre, capilar o venosa (en tubo con anticoagulante) en papel filtro FTA o Wathman grado 3 (tamaño de poro 3 micras) y enviarla al LESP junto con las laminillas y documentación.

- Todas las muestras de seguimiento de caso importado, así como al menos 2 muestras negativas deben ser enviadas al LESP de manera inmediata para su control de calidad.
- Garantizar la lectura de muestras, considerando los periodos vacacionales de los microscopistas.
- Elaborar el cierre de la información del formato M-3 y organizar el envío de muestras semanal para control de calidad al LESP con el Vo. Bo. del jefe del programa jurisdiccional (esto para evitar sesgos en las fechas de recepción, lectura y emisión de resultados por parte del microscopista).
- Enviar el porcentaje de laminillas al laboratorio estatal de acuerdo a los lineamientos establecidos para el control de calidad (100% de laminillas positivas y 10% de laminillas negativas).
- Todo personal que realice la función de microscopista, debe participar y evaluarse de manera anual en el PEEDMiVec.
- Comunicar al responsable estatal de la red, en coordinación con los responsables de programa jurisdiccionales, todo cambio de personal de microscopistas, para su capacitación y alta en la red nacional de microscopistas.
- Informar al LESP con conocimiento de programa y autoridades correspondientes, las condiciones y cualquier deterioro de los microscopios así como de insumos necesarios para el desempeño óptimo de las funciones de los microscopistas.
- Capacitar al personal de salud que lo requiera y/o solicite en la toma y manejo de muestras.

### Funciones de los Laboratorios Estatales de Salud Pública

- Cada LESP debe de contar con un responsable estatal de la red de microscopistas así como de un suplente.
- Verificar los procedimientos analíticos utilizados en el diagnóstico de Paludismo.
- Toma de muestra por demanda (en casos que se requiera).
- Realizar el diagnóstico microscópico de acuerdo a las directrices y lineamientos establecidos.
- Generar evidencia y notificar inmediatamente los casos confirmados a la autoridad correspondiente.
- Realizar el control de calidad del diagnóstico microscópico de paludismo en su red e implementar las medidas correctivas de acuerdo a los resultados obtenidos (en caso de que se requiera).
- Tener la información completa de la totalidad de casos confirmados por los laboratorios jurisdiccionales (Nombre del paciente; fecha de nacimiento,

fecha de inicio de síntomas, fecha toma de la muestra, fecha de recepción de la muestra, fecha de lectura, fecha de emisión de resultados, así como nombre del personal que recibe el resultado. Además de procedencia, lugares visitados, semana epidemiológica, especie del Plasmodio y densidad parasitaria) y enviar al InDRE esta información junto con el envío de laminillas para control de calidad y copia del formato N1 o estudio epidemiológico de enfermedades transmitidas por vector.

- Enviar el porcentaje de laminillas al InDRE de acuerdo a los lineamientos establecidos para el control de calidad (100% de laminillas positivas y 10% de laminillas negativas).
- En caso de detectar discordancias en resultado con el microscopista jurisdiccional, enviar la laminilla positiva o negativa al InDRE para control de calidad, e indicar en el oficio que dicha muestra resultó como falsa positiva o falsa negativa.
- En caso de detectar discordancias a nivel de especie de Plasmodium con el microscopista jurisdiccional, enviar la laminilla positiva al InDRE para referencia, e indicar en el oficio los resultados del laboratorio jurisdiccional y estatal.
- El porcentaje de las muestras de control de calidad deben ser enviadas por semana epidemiológica al InDRE acompañadas con la documentación correspondiente (oficio de envío y formato M-3 debidamente llenado), con un límite de tres semanas para su recepción.
- Para los casos importado, enviar al InDRE junto con la laminilla positiva (remitida por el laboratorio jurisdiccional o por el LESP en caso de que sea quien realice el diagnóstico), una muestra de sangre en papel filtro FTA o en su defecto en papel Whatman grado 3 (tamaño de poro 3 micras) para realizar técnica de PCR.
- Para conservar la integridad de las muestras, montar en resina sintética toda muestra positiva antes de realizar la densidad parasitaria.
- Todas las muestras de seguimiento de caso importado, así como las dos primeras muestras negativas deben ser enviadas al InDRE de manera inmediata con la información del paciente.
- Verificar que no exista rezago de muestras en los laboratorios jurisdiccionales, llevar un control documental y de seguimiento.
- Asegurar y coordinar la participación en el PEEDMiVec del total de los microscopistas en el estado.
- Garantizar la lectura de muestras, considerando los periodos vacacionales de los microscopistas de la red de su estado
- Organizar curso o capacitación periódica (al menos 1 vez al año) dirigido a la red estatal de microscopistas en toma, manejo, tinción y lectura de muestras de acuerdo con los procedimientos estandarizados del InDRE.
- Capacitar al personal de salud que lo requiera y/o solicite en la toma y manejo de muestras.

- Capacitar a todo personal de nuevo ingreso y generar evidencia de dicha capacitación.
- Supervisar al personal de nuevo ingreso una vez capacitado (durante un periodo mínimo de 1 mes) a través del monitoreo del desempeño de su control de calidad, y una vez que el LESP lo considere, solicitar vía oficio su incorporación al padrón nacional de microscopistas (enviando las evidencias documentales de este punto).
- Hacer el diagnóstico y seguimiento de las necesidades en cuanto a infraestructura, material, equipo, insumos y personal en cada laboratorio jurisdiccional (informar al InDRE en el último trimestre del año o antes, en caso de ser necesario)
- Proveer información importante encontrada en el laboratorio mediante informes y, notas informativas, reportes de Paludismo, a la dirección del LESP para que sea difundida a las instancias estatales correspondientes.
- Mantener actualizado el padrón de microscopistas y notificar al InDRE cualquier cambio en el mismo de manera oficial e inmediata.

### Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia

El laboratorio de Paludismo del InDRE como LNR, es el órgano normativo para el diagnóstico del paludismo en México y tiene las siguientes funciones:

- Emitir las directrices, lineamientos y políticas a seguir en para el diagnóstico de Paludismo.
- Coordinar actividades con el Programa Nacional de Prevención y Control del Paludismo, así como la identificación de necesidades para el fortalecimiento de las unidades de diagnóstico.
- Coordinar las actividades de diagnóstico con la RNLSP-paludismo y la red nacional de microscopistas.
- Estandarizar, evaluar y verificar los procedimientos analíticos utilizados en el diagnóstico de Paludismo.
- Realizar el control de calidad indirecto (CCId) y la referencia del diagnóstico de paludismo realizado en las entidades federativas.
- Participar en el Programa de Evaluación Externa del Desempeño coordinado por OPS y certificación a nivel internacional.
- Dar seguimiento a las actividades de supervisión, evaluación y capacitación directa de microscopistas de la red nacional a través de los LESP.
- Capacitar en la toma y conservación de muestras, técnicas de laboratorio, al personal coordinador de la red de microscopistas.
- Proporcionar apoyo técnico a los laboratorios estatales que lo requieran y soliciten.
- Desarrollar y conducir protocolos de investigación en apoyo a la vigilancia epidemiológica.



- Generar información confiable y oportuna de orden nacional, en materia de: diagnóstico, control de calidad, referencia, formación de recursos humanos e investigación operativa en la vigilancia epidemiológica por laboratorio, que coadyuven para la toma de decisiones en el control y prevención del Paludismo, al programa nacional de salud.
- Mantener actualizados los algoritmos de referencia y criterios pre-establecidos de interpretación de resultados.
- Asesorar y mantener el aseguramiento de la calidad en el proceso de diagnóstico de paludismo considerando:
  - Infraestructura.
  - Reactivos y materiales.
  - Equipo.
  - Capacitación, actualización y reconocimiento de microscopistas.
  - Desarrollo y estandarización de procedimientos analíticos.

## TOMA, MANEJO Y ENVÍO DE MUESTRA

### Toma de gota gruesa y extendido fino

Se recomienda tomar la muestra de preferencia del dedo anular, en pacientes adultos y en niños por pinchazo del lóbulo de la oreja o talón del pie, la muestra de sangre debe ser obtenida antes de que el paciente haya recibido tratamiento antimalárico (ver figura 5).

Nota: Tener todos los materiales listos. Es importante que las láminas portaobjetos se encuentren limpias y desengrasadas; antes de realizar la técnica de toma de muestra, se deben llenar los formularios correspondientes (formato N1 o estudio estudio epidemiológico de las ETV, según sea el caso).



Figura 5. Técnica de toma de muestra de gota gruesa y frotis.

1. Frotar enérgicamente la yema del dedo del paciente (de preferencia el dedo anular, talón en caso de niños pequeños o lóbulo de la oreja) con algodón humedecido con alcohol al 70%.
2. Secar con algodón seco el excedente de alcohol que haya queda al momento de desinfectar, y sostener enérgicamente el dedo (importante en caso de niños) y realizar la punción de forma rápida.
3. La primera gota de sangre se seca con el algodón seco.
4. Se utilizan dos portaobjetos previamente lavados y desengrasados (en caso que sea imposible lavarlos, limpiarlos perfectamente con una torunda alcoholada y dejar que seque); en uno de ellos se depositan dos gotas de sangre, la primera gota (de 6 a 8  $\mu$ L) se utilizará en la gota gruesa y la segunda (de 3 a 4  $\mu$ L) para el extendido fino.
  - a) Gota gruesa. Con la gota que se colocó en el centro de la mitad del portaobjetos, y utilizando un portaobjeto auxiliar limpio, se distribuye la gota con movimientos suaves, tratando que el espesor sea uniforme en 3 movimientos formando un círculo, cuadro o rectángulo de aproximadamente 1.0 x 1.5 cm.
  - b) Frotis. Con la gota que se colocó a la mitad del portaobjetos, se realiza el frotis deslizando sobre la gota con el portaobjetos auxiliar en un movimiento rápido y suave, el Frotis deberá estar distribuido uniformemente.
5. Dejar la preparación sobre una superficie horizontal hasta que seque (protegerla de polvo, moscas y otros insectos).
6. Envolver la laminilla con el formato de Notificación N1 o con el estudio epidemiológico de enfermedades transmitidas por vector.

### Toma de muestra sanguínea en papel filtro

7. Se realizan los pasos del 1 al 3 correspondientes a la toma de muestra de gota gruesa y extendido fino.
8. Colectar las gotas de sangre en el papel filtro (de 2 a 4 gotas de sangre formando un círculo de 2 cm de diámetro separadas aproximadamente con 1 cm de espacio) NO dejar caer la gota de sangre antes de que esté completamente formada, esto crea pequeñas manchas que debería ser evitado, NO dejar caer las gotas de sangre tan cerca que se superpongan, NO manchar los dedos sobre el papel filtro, en su lugar, dejar que la gota de sangre caiga o toque (no el dedo) la tarjeta de papel de filtro.
9. En caso de tomar la muestra a partir de un tubo con anticoagulante, colocar 200  $\mu$ L de sangre para formar los círculos.
10. Sostener con una torunda el sitio de la punción.

### Manejo y envío

## Laminillas con gota gruesa y extendido fino

1. Las muestras una vez secas y envueltas con los formatos mencionados, deben ser trasladadas al laboratorio con microscopista más cercano para su lectura, tomando en cuenta el tiempo máximo de respuesta de 72 horas desde la toma de muestra hasta el inicio del tratamiento.
2. Las laminillas envueltas pueden trasladarse dentro de una caja o un sobre (no es necesario triple embalaje) a temperatura ambiente siempre y cuando sea trasladada al laboratorio lo más pronto posible, tomando en cuenta que en lugares con alta humedad puede afectar la calidad de la muestra al contaminarse con hongos.

## Muestras sanguíneas en papel filtro

1. Dejar secar totalmente las gotas de sangre en el papel filtro antes de colocarla en una bolsa "Ziploc" sellada herméticamente y con una bolsita de desecante (aplica solamente para casos importados).
2. El papel se debe secar lejos de la luz directa del sol y de los insectos. Idealmente, la tarjeta de papel de filtro se seca por lo menos 4 horas a temperatura ambiente (pero no más de 24 horas).
3. Una vez que la tarjeta esté seca, transportarla a una bolsa de plástico sellada con un paquete de desecante.
4. Si la tarjeta no se secó completamente antes de ser transportada, debe ser sacada de la bolsa y dejar que se seque completamente.
5. Mandar al laboratorio de manera oportuna la muestra dentro de la bolsa "ziploc" con 1 desecante; a su vez esta bolsa debe ser embalada en una caja o sobre con la documentación pertinente y los datos completos del paciente (formato N-1 y/o de formato de estudio epidemiológico de enfermedades transmitidas por vector).
6. Las muestras se pueden enviar a laboratorio manteniéndolas a temperatura ambiente, si y solo si viene acompañadas con un desecante y selladas herméticamente con una bolsa "ziploc"

## Criterios de aceptación y rechazo de muestras

Se dice que una muestra cumple con los estándares de calidad cuando:

- En un mismo portaobjetos viene la gota gruesa y el extendido fino.
- La gota gruesa se encuentra correctamente ubicada (1 a 1.5 cm del borde del portaobjetos) y extendido fino del centro a borde opuesto del portaobjetos.
- Tamaño adecuado (gota gruesa de 1 a 1.5 cm de diámetro o de lado y extendido fino de 3 cm aproximadamente).
- Al momento de realizar la tinción (fondo de la laminilla limpio sin restos de glóbulos rojos y sin precipitados).
- Tonalidad adecuada.

La laminilla deberá acompañarse del formato N1 o del estudio epidemiológico de caso de las enfermedades transmitidas por vector y cuando le aplique, de la solicitud del estudio. En el caso de no cumplir con el requisito, la muestra será analizada y de ser positiva deberá informarse inmediatamente al jefe jurisdiccional para la conclusión y seguimiento del caso.

- La laminilla (frotis y gota gruesa) deberá venir rotulada y no deberá estar rota, o que la muestra se encuentre fresca y cubierta con un cubreobjetos, se notificará al usuario o responsable del envío. Se solicitará una nueva muestra.

### Muestras de alto valor

En la actualidad, México se encuentra en proceso de eliminación del Paludismo, por lo que no se debe rechazar ninguna muestra, dándole la categoría de muestras de alto valor y se refiere a aquellas que se reciben en el laboratorio y que no cumplen con alguno de los criterios de aceptación, pero que, por las características de evolución del paciente, se consideran como muestra(s) de alto valor epidemiológico.

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

## ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO

El diagnóstico por laboratorio se realiza mediante la detección microscópica del *Plasmodium* spp, en la gota gruesa y extendido fino de sangre periférica teñida con Giemsa que constituyen el estándar de oro, no obstante debe considerarse antecedentes epidemiológicos y el cuadro clínico se presenta el algoritmo de diagnóstico realizado en el InDRE y que deben realizar en todos los laboratorios donde se realiza diagnóstico de Paludismo por microscopía quedando sujeto a actualizaciones cuando se realicen modificaciones a documentos normativos.

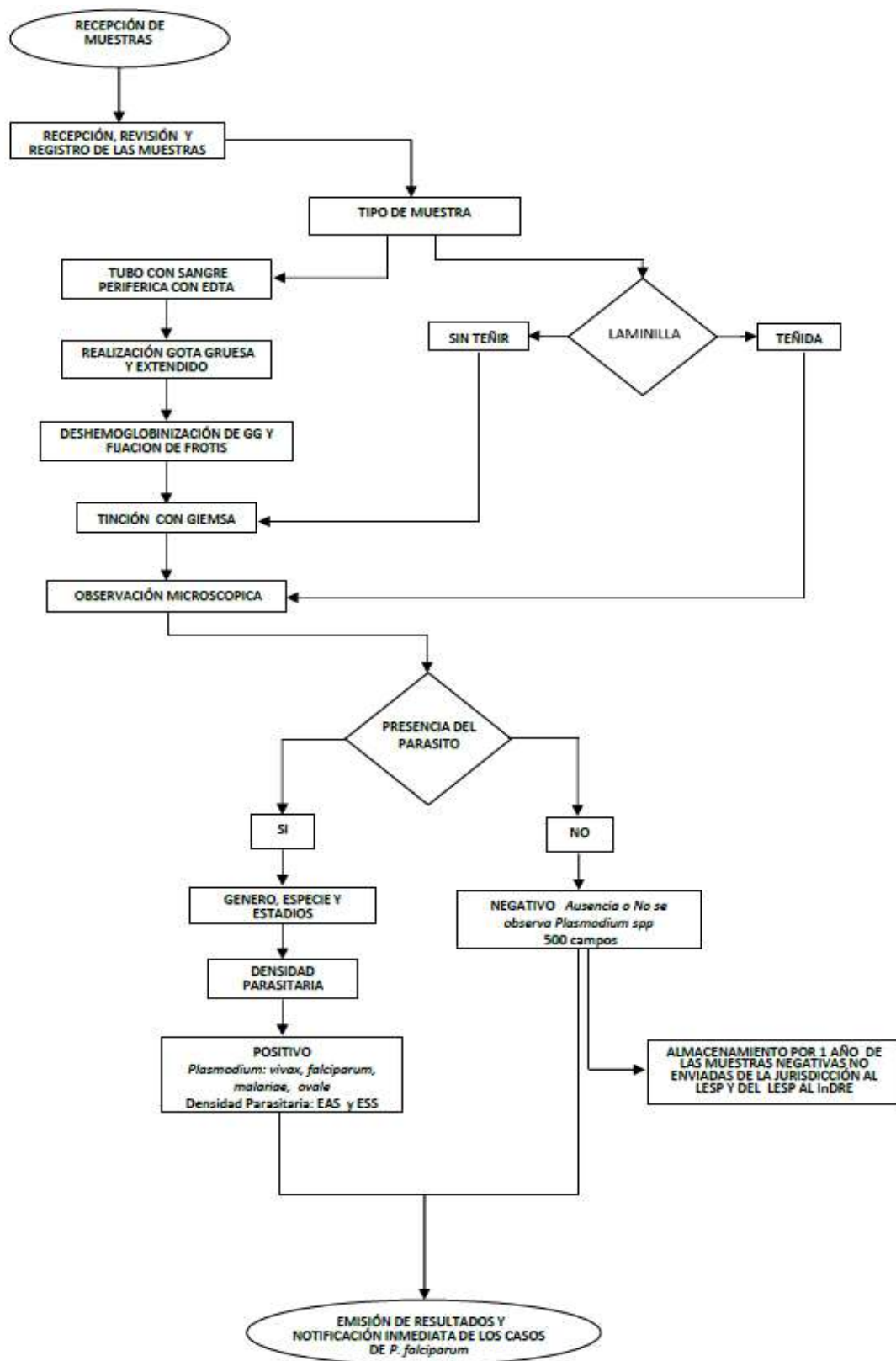


Figura 5. Algoritmo del diagnóstico parasitológico del Paludismo. Clave de tabulador: 1D2614.

## VERIFICACIÓN DEL MÉTODO DE LA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE PALUDISMO

Con la finalidad de demostrar la veracidad de los resultados se requiere determinar en cada laboratorio el desempeño del procedimiento de diagnóstico mediante una verificación, la cual va a depender de las condiciones y características de los parásitos que prevalecen en las distintas regiones; parasitemias bajas, la cual varía de acuerdo a la intensidad de la transmisión, el tiempo y tratamiento.

Para realizar la verificación, los LESP tienen acceso a muestras de referencia caracterizadas y resguardadas por el InDRE, las cuales podrán solicitar bajo previa planeación y solicitud oficial y que deben regresar al terminar dicho proceso.

Para la verificación de la prueba microscópica es recomendable contar al menos con dos microscopistas con experiencia y realizar el análisis estadístico básico para la verificación:

- **Sensibilidad:** es la probabilidad/habilidad de la prueba para identificar como positiva una muestra que es verdadera positiva (los que tienen la condición). Se expresa en porcentaje.
- **Especificidad** es la probabilidad/habilidad de la prueba para detectar como negativa una muestra que es verdadera negativa. Se expresa en porcentaje.
- **VPP**, valor predictivo positivo expresa el porcentaje de las muestras verdaderas positivas entre todas las que resultaron positivas en la prueba.
- **VPN**, valor predictivo negativo expresa el porcentaje de las muestras verdaderas negativas entre todas las que resultaron negativas en la prueba.

El cálculo de estos parámetros de desempeño se realiza mediante la tabla de 2x2

Estándar de oro (Panel InDRE)

		Positiva	Negativa	Suma
Prueba en evaluación	Positiva	a (verdaderos positivos)	b (falsos positivos)	a + b
	Negativa	c (Falsos negativos)	d (verdaderos negativos)	c + d
	Suma	a + c	b + d	a+b+c+d

1. Sensibilidad =  $a/(a+c)$

Especificidad=  $d/(b+d)$

2. VPP= $a/(a+b)$

VPN= $d/(c+d)$

## CALIDAD EN EL SERVICIO DIAGNÓSTICO

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

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

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

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

- **Oportunidad en el envío:** Como lineamiento internacional el tiempo desde que se toma la muestra hasta la emisión del resultado y si este es positivo iniciar el tratamiento no debe ser mayor de las 72 horas, por lo que la muestra debe llegar a los laboratorios en un plazo no mayor de las 48 horas.
- **Porcentaje de rechazo:** La proporción de rechazos permitida es del  $\leq 10\%$ . Cuando se registre mayor al 10% del rechazo, el laboratorio debe comunicar al área de vigilancia epidemiológica las oportunidades de mejora con la finalidad de que realicen las acciones conducentes. (Actualmente el país se encuentra en proceso de eliminación del paludismo por lo que no se debe rechazar ninguna muestra, dándole la categoría de muestras de alto valor).

**Fase analítica:** este indicador (estándar del servicio) competen a la RNLSP-Paludismo e inciden en la obtención de un resultado confiable y oportuno.

- **Estándar del Servicio:** El estándar de servicio para la lectura de muestras de diagnóstico es de 1 día hábil para todos los laboratorios.

**Fase post-analítica:** (emisión del resultado) compete a la RNLSP-Paludismo e inciden en el registro oportuno de un resultado en el sistema de vigilancia epidemiológica y la entrega a las partes interesadas.

- **Emisión del resultado:** Una vez obtenido el resultado de casos confirmados se debe informar de manera inmediata a las autoridades correspondientes y se cuenta con  $\leq 48$  hrs para la entrega del resultado al solicitante del servicio.



# PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DEL DESEMPEÑO

Para la evaluación de la RNLSP, el InDRE establece indicadores técnico-administrativos que permiten medir la competencia técnica de los laboratorios, indicadores descritos en el Boletín Caminando a la Excelencia y cuyos resultados se publican trimestralmente.

Las estrategias de evaluación que se utilizan son: la supervisión indirecta, la supervisión directa y el envío de paneles de evaluación externa del desempeño, de acuerdo a los lineamientos de diagnóstico específico.

## Supervisión indirecta

**Control de calidad indirecto (CCId):** Es la evaluación retrospectiva a nivel del laboratorio evaluador, por parte del LESP a las jurisdicciones y del InDRE al LESP el cual debe enviar el 100% de muestras positivas y el porcentaje de negativas asignado de acuerdo a su liberación diagnóstica (0, o 10%).

Los LESP que no cuenten con red de microscopistas jurisdiccionales y que además solo tengan 1 analista para realizar el diagnóstico, deben gestionar personal que realice el control de calidad al porcentaje de muestras positivas y negativas leídas (suplente).

El InDRE verifica la evaluación realizada por el LESP de su red de diagnóstico verificando:

- Calidad de la toma de muestra (gota gruesa y extendido fino).
- Calidad de la tinción (a través del pH de la solución de colorante)
- Identificación de errores en el diagnóstico (resultado, especie y estadio).
- Concordancia diagnóstica.

El envío se realiza por semana epidemiológica, haciendo una evaluación trimestral; en la fecha de corte para esta evaluación se considera toda muestra recibida en la fecha acordada donde puede entrar toda muestra recibida de esa semana epidemiológica y las de tres semanas anteriores. El envío de estos resultados se realiza por el InDRE dentro de un estándar de 17 días hábiles.

## Supervisión directa

La supervisión directa de la RNLSP consiste en visitas de personal designado por el InDRE a las instalaciones, en las que se revisan procesos técnicos y administrativos mediante la aplicación de cédulas específicas.

### Paneles de Eficiencia

A partir de 2005 el laboratorio de Paludismo del InDRE aplica el PEEDMiVec (programa de evaluación externa para los microscopistas del diagnóstico de las enfermedades transmitidas por vector, el cual consiste en un sistema de comparación retrospectivo, periódico y objetivo de los resultados de los diferentes LESP por medio de un panel de muestras previamente caracterizadas, utilizado como una herramienta de evaluación, para demostrar la competencia técnica de cada uno de los microscopistas que integran la red nacional en la detección de los agentes parasitarios *Trypanosoma*, *Leishmania* y *Plasmodium* contribuyendo a mantener y mejorar el diagnóstico de estos padecimientos.

La finalidad del programa reside en identificar la capacidad del laboratorio en el proceso diagnóstico de Paludismo y tiene la finalidad de asegurar:

- La integración de la red.
- La estandarización de los procedimientos analíticos utilizados.
- Promover la capacitación y actualización del personal.
- Tomar medidas correctivas y de mejora sobre las áreas de oportunidad detectadas.

El InDRE elabora anualmente el panel de evaluación para cada microscopista, el cual está compuesto por laminillas de gota gruesa y frotis de las enfermedades de Chagas, Leishmaniasis y Paludismo teñidas por Giemsa con los siguientes criterios:

Para Paludismo se seleccionan laminillas de acuerdo a los siguientes criterios:

- Positivas a *Plasmodium* de especie: *vivax* y *falciparum* con diferentes formas y densidad parasitaria.
- Negativas
- Las láminas tienen diferente calidad de toma de muestra y tinción.

Para las laminillas de Chagas:

- Se preparan laminillas con Giemsa de muestras positivas y negativas de *T. cruzi*
- Para *Leishmania*:
- Se toman muestras de impronta.

Todas las laminillas son teñidas con Giemsa y montadas en resina sintética para asegurar la conservación de la muestra.

Las láminas en los paneles deberán estar rotuladas según sistema de codificación diferenciado por laboratorio. El envío se hará de acuerdo al programa establecido anualmente, el informe se emite oficialmente a los LESP antes de emitir los resultados en el Boletín Caminando a la Excelencia (BCE).

Los resultados obtenidos en el PEEDMiVec serán notificados en el tercer trimestre del BCE después de ser notificados a los participantes.

El laboratorio de Paludismo dará un valor establecido a la identificación de las laminillas de acuerdo a los datos registrados (resultado, especie, formas parasitarias y posteriormente densidad parasitaria); En caso de Leishmania y Chagas solo la identificación de género como parte de los resultados positivos esperados, el valor e interpretación quedará a cargo del laboratorio correspondiente a cada parásito en el InDRE. Cada LESP realizará correcciones y acciones requeridas a las áreas de oportunidad detectadas en el proceso de evaluación.

El InDRE dará seguimiento y verificará efectividad de las acciones de mejora realizadas antes del envío de cada PEEDMiVec. El resultado emitido en el BCE es el promedio obtenido por todos los microscopistas que conforman la red de cada LESP. Desempeño obtenido de 90% a 99% requiere acciones de mejora según las áreas de oportunidad detectadas. Desempeño menor al 90% requerirá una capacitación a la brevedad y la demostración de su competencia para continuar con las actividades de lectura de laminillas.

Se tendrán que tomar las medidas necesarias (preventivas y correctivas) para que los microscopistas que presenten evaluaciones con calificaciones menores al 90% las incrementen en las evaluaciones subsecuentes.

Todo microscopista debe estar dado de alta en el padrón del InDRE, en caso de desertar o abandonar esta función debe notificarse inmediatamente y de manera oficial al InDRE, al igual que todo microscopista de nuevo ingreso.

### Envío de paneles

La aplicación del panel se realiza de manera escalonada a las entidades federativas participantes, en tres envíos hasta abarcar la totalidad de los microscopistas de cada red estatal, a través de la Coordinación de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (CRNL) del InDRE.

El envío debe cumplir con las normas de bioseguridad vigentes en el país.

Los paneles se acompañan de un instructivo (donde se indican los criterios de evaluación) así como de los formatos correspondientes para su llenado.

Todos los microscopistas (estatales y jurisdiccionales) deben registrar sus resultados de observación en el formato PALU-F-21 que viene acompañado de su instructivo (Anexo II).

Para los microscopistas que no cuentan con un contador de células, deben apoyarse en el formato PALU-F-22 (Anexo II) para realizar la densidad parasitaria.

Los paneles deben ser regresados en las mismas condiciones (triple embalaje) en que son recibidos en cuanto a bioseguridad, limpieza y conservación.

Los LESP, deberán enviar un listado con los nombres de los participantes en el PEEDMiVec y el número del panel que le aplicó.

## CRITERIOS PARA LA LIBERACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS PARA LA VIGILANCIA DEL PALUDISMO

- Mantener una calificación global de la red  $\geq$  al 95% en el PEEDMiVec durante cinco años consecutivos.
- Participar y mantener una concordancia anual  $\geq$  al 95% en el control de calidad indirecto.
- Asistir al curso anual de Actualización de Enfermedades Parasitarias Transmitidas por Vector por parte de los responsables de la red estatal, o en su defecto de una persona que realice microscopía de Paludismo.
- Tener una calificación  $(CCId + PEEDMiVec) / 2 \geq$  al 95%.

Los LESP perderán su liberación diagnóstica cuando ocurra cualquiera de los siguientes escenarios:

- Obtengan calificaciones de dos participaciones consecutivas en el PEEDMiVec  $<$  al 95%.
- Obtengan concordancias menores en el control de calidad indirecto  $<$  al 95% al año.
- Inasistencia de dos veces consecutivas en el curso anual de Actualización de Enfermedades Parasitarias transmitidas por vector.
- Tener un promedio anual  $<$  al 95% en el  $(CCId + PEEDMiVec) / 2$ .

Incorporación del diagnóstico de paludismo al marco analítico básico (MAB) del LESP.

Los requisitos que debe de cumplir un LESP para la incorporación del diagnóstico de Paludismo a su MAB son los siguientes:

- Contar con la Infraestructura adecuada para llevar a cabo el diagnóstico microscópico.
- Dispositivos médicos en buenas condiciones (Microscopio, anexo 1).
- Insumos básicos e indispensables para realizar el diagnóstico microscópico (anexo 1).
- Personal Capacitado.
- Participar en al menos un PEEDMiVec.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Adak T., Sharma VP and Orlov VS. Studies on the *Plasmodium vivax* relapse Pattern in Delhi, India. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1998; 59:175-179.
2. Bunnag D., Karbwang J., Thanavibul A., Chittamas, S., Ratanapongse, Y. and Chalermrut K. et al. High dose of primaquine in primaquine resistant vivax malaria. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 1994; 88:218-219.
3. Chosewood C & Wilson DE. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – 5th ed. CDC-NIH; 2009.
4. European Committee for Standardization. CWA 15793:2011 Laboratory biorisk management standard. Brussels: CEN; 2011.
5. External Quality Assessment for AFB Smear Microscopy. PHL, CDC, KNCV, RIT. OMS. [http://www.aphl.org/AboutAPHL/publications/Documents/External\\_Quality\\_Assessment\\_for\\_AFB\\_Smear\\_Microscopy.pdf](http://www.aphl.org/AboutAPHL/publications/Documents/External_Quality_Assessment_for_AFB_Smear_Microscopy.pdf)
6. Frean J. Microscopic determination of malaria parasite load: role of image analysis. Microscopy Science, Technology, Applications and Education. A Méndez-Villas and J. Diaz (Eds), 2010.
7. Gascon, J., Gomez-Arce, J.E., Menendez, C., Valls, M. E. and Corochan M. Poor response to primaquine in two cases of Plasmodium vivax malaria from Guatemala. Trop. Geogr. Med. 1994; 46:32-33.
8. Gogswell F.B. The Hypnozoite and Relapse in Primate Malaria. Clinical Microbiology Reviews, 1992; 5: 26-35.
9. Guía para la implementación de un sistema de gestión de calidad en el diagnóstico microscópico de malaria: Estandarización de procedimientos y herramientas sobre el control de calidad y la evaluación externa del desempeño en las redes de laboratorio (Reunión del Grupo Técnico Asesor, Caracas, Venezuela, julio 2004) <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/ravreda-gerencia-calidad.pdf>
10. Guidelines for implementation of a quality management system in microscopic diagnosis of malaria. Malaria Light microscopy creating a culture of quality, Venezuela. WHO. 2004.
11. Implementation of the Global Malaria Control Strategy Report of a WHO Study Group on the Implementation of the Global Plan of Action for Malaria Control, Geneva 1993.
12. López AF. Diagnóstico microscópico de los parásitos de la malaria en sangre en Diagnóstico de la malaria. Publicación científica No. 512. OPS. 1988 p.p. 39-50.
13. Malaria Light microscopy creating a culture of quality. Kuala Lumpur- Malaysia 21 April 2005. Informal consultation on quality control of malaria microscopy Geneva 3 March 2006.
14. Manual para el diagnóstico microscópico de la malaria. 4ª. Ed. Publicación científica No. 46 OMS/OPS. 1960.

15. Manual para el diagnóstico microscópico de la malaria. 4ª. Ed. Publicación científica Nos. 276, OMS/OPS. 1975.
16. Miller MJ, et al. Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories. MMWR Surveill Summ. 6; 61:1-102; 2012.
17. Muhlberger N, Jelinek T, Gascon J, Probst M. Zoller T. et al. 2004. Epidemiology and clinical features of vivax malaria imported to Europe: Sentinel surveillance data from Trop Net Europ. Malaria Journal. 2004; 3:1-71.
18. Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, Para la Vigilancia Epidemiológica.
19. Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2014, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector.
20. Pan American Health Organization. External Quality assurance program for malaria microscopy diagnosis, 2010.
21. Pérez H.A. El Paludismo por Plasmodium vivax y los desafíos del tratamiento adecuado y oportuno. Boletín de Malariología y Salud Ambiental. 2004; 54, 1:1-8.
22. Rodríguez MH; "Paludismo". Quinta Unidad. Enfermedades Parasitarias. Enfermedades Tropicales en México. Capítulo 2: pp267-275.
23. World Malaria Report 2016. Geneva: World Health Organization; 2016. Licence:CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
24. World Health Organization. Basic malaria microscopy-2 Edition. Part 1: Learner's guide 2010.
25. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014; Geneva: WHO Press; 2012.
26. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual – 3rd ed. Geneva: WHO Press; 2004.
27. World Health Organization. Basic Malaria Microscopy. Part I. Learner's guide. Second Edition, 2010 WHO.
28. World Health Organization. Basic Malaria Microscopy. Part II. Tutor's guide. Second Edition, 2010 WHO.
29. World Malaria Report: time to acknowledge *Plasmodium knowlesi* malaria. Bridget E. BarberEmail authorView ORCID ID profile, Giri S. Rajahram, Matthew J. Grigg, Timothy William and Nicholas M. Anstey. Malaria Journal201716:135. DOI: 10.1186/s12936-017-1787-y.
30. Muhlberger N, Jelinek T, Gascon J, Probst M. Zoller T. et al. 2004. Epidemiology and clinical features of vivax malaria imported to Europe: Sentinel surveillance data from Trop Net Europ. Malaria Journal. 2004; 3:1-71.

# ANEXOS

## Anexo I: Bioseguridad en el Laboratorio

Aquí se describe el nivel de bioseguridad en el laboratorio para el procesamiento de las muestras. Haciendo referencia a los lineamientos de gestión del riesgo biológico del InDRE

## Anexo II: Técnicas de Diagnóstico y preparación de reactivos

### Para diagnóstico parasitoscópico en el laboratorio

Posteriormente recibida la muestra (gota gruesa y extendido fino) se procede a lo siguiente:

1. Identificar sobre el frotis con la clave de la muestra<sup>1</sup>. La anotación se hace con lápiz, esta identificación debe ser visible a simple vista y se debe anotar la misma clave en los formatos correspondientes a la muestra. Las muestras tomadas por personal del Programa de Paludismo llevan la clave del trabajador que la tomó anotada en la misma área.
2. Fijar el frotis, introduciendo la parte correspondiente al frote en un recipiente de boca ancha que contenga alcohol metílico absoluto. Escurrir el alcohol excedente evitando que se moje la gota gruesa.
3. Colocar el portaobjeto sobre la gradilla, con la gota arriba y el frotis hacia abajo hasta que seque.
4. Teñir con Giemsa como se indica en el procedimiento de tinción de gota gruesa. (Ver adelante).

### Puntos críticos

- Cantidad de sangre suficiente (entre 8 y 10 µL aprox.).
- Extender la muestra antes de que inicie la coagulación.

**Nota:** Considerar el factor tiempo distancia entre las comunidades, debido a que el tiempo de envío de las muestras al laboratorio afectaría la calidad de la gota y el frotis, ya que el tiempo óptimo una vez secada la laminilla es de 24 horas máximo para su tinción y observación.

---

<sup>1</sup> La clave de identificación de cada muestra se construye en forma de una fracción con el número progresivo correspondiente a la muestra en el numerador y en el denominador se coloca en forma continua: la clave estatal-jurisdiccional que se construye con el número del estado correspondiente en la lista de las entidades federativas por orden alfabético, luego se anota el dígito correspondiente al número de jurisdicción sanitaria, posteriormente se coloca la letra m que indica microscopista y por último el número clave individual del microscopista en el estado.

## Tinción de muestras para diagnóstico en el laboratorio

La tinción de las muestras que se reciben en el laboratorio para realizar la búsqueda microscópica de *Plasmodium*, debe realizarse de manera inmediata a su recepción, asegurando la correcta conservación y resguardo de la muestra. De acuerdo al tipo de muestra se debe seguir un proceso específico, tal y como se cita a continuación:

### Procedimiento

1. Preparar la solución de trabajo del colorante Giemsa con solución amortiguadora de fosfatos realizando una dilución al 3 o 5% de la solución madre. De acuerdo a los resultados obtenidos de la evaluación del colorante.
2. Cubrir las láminas con la solución de trabajo y dejar teñir durante 30 a 45 minutos.
3. Lavar la laminilla con solución amortiguadora, hasta retirar por completo el colorante.
4. Dejar secar las láminas a temperatura ambiente.

### Punto crítico

El tiempo de tinción y la concentración deben estandarizarse cada vez que se prepara colorante.

### Observación de muestras (lectura de laminillas)

1. Antes de iniciar la observación de las muestras revisar que el microscopio este limpio y en buenas condiciones generales.
2. Encender la lámpara y revisar la iluminación.
3. Enfocar la muestra con el objetivo 10X y seleccionar la mejor área en la gota gruesa.
4. Sin desplazar la laminilla, colocar una gota de aceite de inmersión y cambiar al objetivo de inmersión 100X. Valorar la calidad de la gota y de la tinción ya que estas características son fundamentales en el reconocimiento de los parásitos de acuerdo a la coloración que presentan.
5. Buscar sistemáticamente la presencia del parásito.
6. Observar mínimo 200 campos microscópicos<sup>2</sup> con el aumento total de 1000x del microscopio, empezando del límite inferior izquierdo de la gota, hacia arriba en forma vertical, al terminar esa línea avanzar hacia la derecha y hacia abajo y así sucesivamente, cuando la laminilla teñida es de buena calidad. Si la gota gruesa o la tinción son deficientes, se aumenta el número de campos a observar de manera inversamente proporcional a la calidad de la gota (observación microscopia normada en base a los lineamientos que nos marca la OPS).



7. Al terminar la observación, regresar al objetivo 10X, retirar la muestra y eliminar el exceso de aceite de inmersión con pañuelo facial.
8. Colocar la lámina en la caja seleccionadora de portaobjetos que consta de once casilleros. El primer casillero se destina para las láminas positivas, las negativas se colocan en los restantes casilleros de acuerdo al dígito final del registro nominal de la muestra.
9. En muestra positivas se tiene que identificar los estadios de los parásitos:
  - Trofozoito: Estadio más frecuentemente, aparece en la infección temprana, se le denomina “anillo”, y conforme va creciendo toma formas ameboideas, el parásito dentro del glóbulo rojo puede variar de tamaño de pequeño a grande. El pigmento aparece a medida que el parásito crece.
  - Esquizonte: Estadio, en el que el parásito comienza su reproducción asexual, en la sangre (esquizontes sanguíneos) y en el hígado (esquizonte tisular), se le denomina esquizogonia.
  - Gametocito: Estadio sexual en el cual el parásito se convierte en hembra o macho preparándose para la siguiente fase que ocurre en el estómago del mosquito hembra del género *Anopheles*, su forma depende de la especie.
10. En muestras positivas y de seguimiento a *Plasmodium spp* se realiza un conteo de parásitos y leucocitos de forma simultánea.
11. Considerar el grado de parasitemia en 100 campos e indicar +10 o -10; Para el conteo a partir de esta clasificación considerar:
  - 0 parásitos : contar mínimo 200 campos
  - 1-9 parásitos : contar hasta 500 leucocitos
  - 10 a más parásitos : contar hasta 200 leucocitos
  - Doble de parásitos en comparación con leucocitos: # de leucocitos contados hasta 500 parásitos, detener el conteo al llegar a los 500 parásitos, independientemente del número de leucocitos, ya sean 30 o 55.
12. En el conteo considerar número de estadios asexuales en los que tenemos a esquizontes y trofozoitos (EAS) y estadios sexuales en los que se considera a los gametocitos (ESS) por leucocitos contados por separado.
13. Determinar la densidad parasitaria con los datos obtenidos en el punto anterior con la siguiente formula:

Número de parásitos contado

\_\_\_\_\_ x 6000= Número de parásitos por microlitro de sangre

Número de leucocitos contados

#### Punto crítico

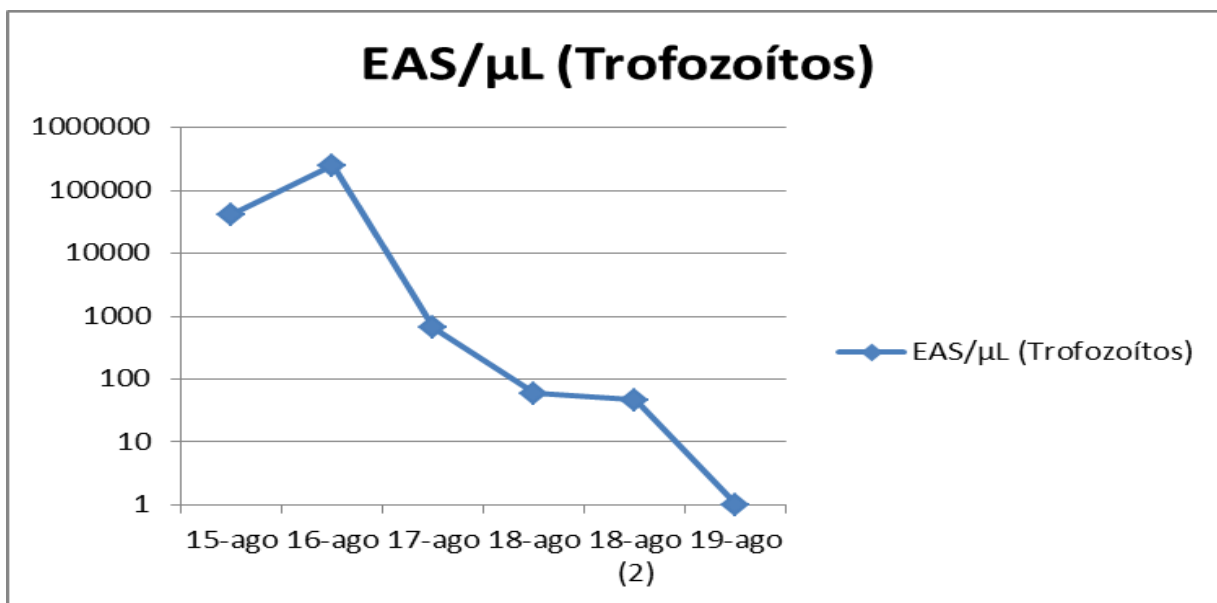
- Verificar la iluminación (registro de uso de la lámpara, la cual tiene vida promedio de no más de cinco años de uso)

No de registro	Fecha de Toma	Hora de Toma	Resultado <i>Plasmodium falciparum</i>
PAL 23	15/08/2014	-	652 EAS* 41,576 parásitos por $\mu$ L
PAL 26	16/08/2014	18:00	625 EAS 250,000 Parásitos por uL
PAL 27	17/08/2014	18:00 (1)	22 EAS 660 Parásitos por uL
PAL 28	18/08/2014	17:00	5 EAS 59 Parásitos por uL
PAL 29	17/08/2014	18:00 (2)	4 EAS 47 Parásitos por uL
PAL 30	18/08/2014	6:55	3 EAS 35 Parásitos por uL
PAL 31	19/08/2014	5:00	CERO Parásitos en 500 campos

- Verificación del colorante, considerar tiempos de tinción contra concentración de colorante idóneo en las condiciones específicas de cada laboratorio.
- Considerar la experiencia del observador y la calidad de la muestra.

### Informe de resultados

- El informe debe incluir datos específicos como:
- Muestra negativa: Ausencia *Plasmodium spp.* en 200 campos o mayor en muestras de mala calidad.
- Muestra positiva: Presencia de Parásitos se informa especie, estadios y densidad parasitaria.
- Género: *Plasmodium*; Especie: *vivax*, *falciparum*, *ovale* y *malariae*; Estadios y grado de parasitemia: No. EAS (trofozoítos, esquizontes) No. ESS o gametocitos / No. leucocitos contados.
- Realizar el seguimiento de casos confirmados con la densidad parasitaria hasta la primera laminilla reportada como negativa como lo muestra el ejemplo siguiente:



## Especificaciones de infraestructura y equipo

### *Infraestructura*

- Área independiente siempre que sea posible, en habitación amplia, bien ventilada. Por la naturaleza del trabajo, el personal requiere de un ambiente tranquilo.
- En lugares calurosos y húmedos donde no haya aire acondicionado, se sugiere el uso de ventilador eléctrico, de preferencia de techo, así como proteger las ventanas con tela metálica para evitar la entrada de insectos.
- Se requiere de una tarja de tinción con agua corriente y drenaje.

### Equipo

- Microscopio binocular con fuente de luz blanca (se sugieren las marcas: Olympus y Carl Zeiss, debido su alta calidad y eficiencia).
- Objetivos de 4X, 10X, 40X y 100X, oculares 10X.
- Filtro azul claro no esmerilado.
- Lámpara 6 V 30 W

Para la oportuna sustitución de partes dañadas del equipo, se sugiere que los LESP tengan en existencia:

- Objetivos de inmersión
- Oculares de 10X
- Lámparas de acuerdo a las especificaciones de los microscopios en uso en la red

**Nota:** En climas cálidos en donde el laboratorio no tenga aire acondicionado el microscopio se debe guardar siempre cubierto para evitar el polvo y en lugares sin humedad para evitar la formación de hongos sobre los lentes.

## Materiales

### *Para toma de la muestra*

- Lancetas estériles
- Portaobjetos con un espesor de 0.8-1.1 mm y con una medida de 25 x 75 mm
- Algodón de fibra larga o gasas
- Alcohol etílico al 70% comercial
- Lápiz de grafito
- Papel filtro Whatman (en caso que se requiera)

### *Para la tinción*

- Colorante Giemsa de buena calidad (se sugieren las marcas SIGMA o MERCK por su alta calidad).
- Glicerina
- Alcohol metílico absoluto q. p.
- Solución madre Giemsa
- Solución buffer (utilizada en su laboratorio)
- Cronómetro
- Gradillas

### *Para lectura, almacén temporal y envío de laminillas*

- Aceite de inmersión tipo A (baja viscosidad), se sugiere utilizar en temperaturas menores a 25 °C, o B (alta viscosidad) se sugiere utilizar en temperaturas mayores a 30 °C
- Caja seleccionadora de muestras
- Caja seleccionadora de alto impacto para portaobjetos
- Cartón acanalado, cordel y papel de estraza para envolver
- Formatos de registro necesarios
- Papel seda
- El contador diferencial de glóbulos (piano)

## Anexo III. Formatos

REGISTRO DE RESULTADOS PARA LA DETECCIÓN MICROSCÓPICA DE LOS AGENTES  
CAUSANTES DE *ENFERMEDADES PARASITARIAS TRASMITIDAS POR VECTOR (EPTV):*  
*Plasmodium spp y T. cruzi* (PALU-F-21)

COLOR Y No. DE PANEL: \_\_\_\_\_ NOMBRE Y CLAVE DEL MICROSCOPISTA: \_\_\_\_\_

JURISDICCION: \_\_\_\_\_ LOCALIDAD: \_\_\_\_\_

FECHA: \_\_\_\_\_ HORA DE INICIO: \_\_\_\_\_ HORA DE TERMINO: \_\_\_\_\_

RESPONSABLE DE LA APLICACIÓN DE LA EVALUACION: \_\_\_\_\_

<sup>1</sup> Número laminilla	<sup>2</sup> Clave Laminilla	<sup>3</sup> Género y especie del parásito	<sup>4</sup> Grado de infección	<sup>5</sup> Estadios parasitarios observados				<sup>6</sup> Densidad parasitaria	
				EAS		ESS	Leucocitos	EAS/μL	ESS/μL
				Trofozoitos	Esquizontes	Gametocitos			

Firma del microscopista evaluado: \_\_\_\_\_

Firma del responsable de la evaluación: \_\_\_\_\_

## Instructivo de llenado del formato PALU-F-21

- Colocar el número de la laminilla que se encuentra en la etiqueta de color y que es progresivo.
- Colocar la clave de la muestra colocada en la laminilla, identificada con marcador negro.
- Indicar el género y especie del parásito en caso de que la muestra sea positiva.
- Si el resultado es negativo se colocará NEGATIVO en la celda de género y especie y cancelar los espacios sobrantes.
- Sólo en el caso de *Plasmodium* spp indicar grado de infección (+10 ó -10), formas parasitarias (Trofozoitos, Esquizontes y Gametocitos).
- Para las muestras identificadas con *P. falciparum* reportar densidad parasitaria.

**Nota:** Llenar con tinta negra o azul, en caso de que se llene a lápiz no tendrá derecho a réplica.

# FORMATO DE APOYO PARA REALIZAR DENSIDAD PARASITARIA (PALU-F-22)

LAMINILLA: \_\_\_\_\_ COLOR Y No. DE PANEL: \_\_\_\_\_

NOMBRE Y CLAVE DEL MICROSCOPISTA: \_\_\_\_\_

<sup>1</sup> No. De EAS	<sup>2</sup> No. De ESS	<sup>3</sup> Leucocitos	<sup>1</sup> No. De EAS	<sup>2</sup> No. De ESS	<sup>3</sup> Leucocitos

## Instructivo de llenado de PALU-F-22

Este formato es de apoyo para llevar a cabo la densidad parasitaria; Si lo realiza en contador de células lo puede omitir y no es necesario enviarlo al InDRE

1. Colocar el número de la laminilla que se encuentra en la etiqueta de color y que es progresivo.
2. Colocar color y clave del panel.
3. Colocar nombre y clave del microscopista.
4. Por campo indicar el número de EAS, el número ESS y leucocitos contabilizados, hasta llegar al criterio seleccionado para realizar la densidad parasitaria.



SECRETARÍA DE SALUD  
ENVÍO DE MUESTRAS HEMÁTICAS PARA VERIFICAR LA OBSERVACIÓN  
MICROSCÓPICA

ENTIDAD	JURISDICCIÓN	AÑO	MES	SEMANA
Núm. LAB MICROSCOPISTA	LOCALIDAD	DOMICILIO	NOMBRE Y CLAVE DEL	

1. RESUMEN SEMANAL  
ENVIADAS

CONCEPTO	NÚMERO
LOCALIDADES CON INFORMACIÓN	
LOCALIDADES CON MUESTRAS POSITIVAS	
MUESTRAS HEMÁTICAS OBSERVADAS	
MICROSCOPISTAS/DÍA	
MUESTRA/MICROSCOPISTA/DÍA	
PENDIENTES	

2. MUESTRAS HEMÁTICAS

CONCEPTO	DESTINO	NÚMERO
POSITIVAS	ENTIDAD	
	InDRE	
NEGATIVAS	ENTIDAD	
	InDRE	
EXCEDENTES	ENTIDAD	
	InDRE	

3. MUESTRAS HEMÁTICAS  
MUESTRAS POSITIVAS

CLAVE	ESPECIE	GRADO DE PARASITEMIA	FORMAS EVOLUTIVAS

4. RESULTADO DE VERIFICACIÓN DE

CALIDAD DE LA TOMA	ESTADO DE LA TINCIÓN	CLAVE	ESPECIE	GRADO DE PARASITEMIA	FORMAS PARASITARIAS

5. TERMINACIÓN DE LAS MUESTRAS NEGATIVAS ENVIADAS

6. ENVÍO DEL 90%

ENTIDAD	SEMANA	NÚMERO

7. RESULTADO DE LA VERIFICACIÓN DE M. H. NEGATIVAS


#### Anexo IV: Imágenes de Portada

Imagen	Fuente
 <p data-bbox="402 667 571 699">Imagen All.4</p>	<p data-bbox="797 264 1377 338">Tofozoíto de <i>Plasmodium vivax</i>, imagen tomada a 1000X.</p> <p data-bbox="797 342 1325 373">Laboratorio de Paludismo, InDRE</p>

# 80

1939-2019  
ISET-InDRE

## SALUD

SECRETARÍA DE SALUD



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

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