



La salud
es de todos

Minsalud

Curso de conceptos básicos de la estrategia de eliminación de la malaria

-
- Módulo 3 Vigilancia parasitológica por laboratorio
 - Unidad 3 Lineamientos Red Nacional de Laboratorios

Contenido

Módulo 3. Vigilancia parasitológica por laboratorio	1
Resultado de aprendizaje:.....	1
Unidad 3. Lineamientos Red Nacional de Laboratorios	1
Introducción	1
Lineamientos	1





Curso Conceptos básicos de la estrategia de eliminación de la malaria

Módulo 3. Vigilancia parasitológica por laboratorio

Resultado de aprendizaje:

Identificar los métodos diagnósticos de malaria, las características morfológicas y estadios parasitarios manejando los lineamientos nacionales en lo concerniente al diagnóstico de malaria y a las actividades de la Red Nacional de Laboratorios

Unidad 3. Lineamientos Red Nacional de Laboratorios

Introducción

Esta unidad tiene por objetivo manejar los conceptos generales sobre lineamientos nacionales en lo concerniente al diagnóstico de malaria y a las actividades de la Red Nacional de Laboratorios.

Lineamientos

El diagnóstico de malaria se hace mediante visualización directa de la especie parasitaria infectante presente en sangre (*Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, infección mixta) por medio de examen directo microscópico de gota gruesa y extendido de sangre periférica como método complementario, la detección de antígenos parasitarios a través de las Pruebas de Diagnóstico Rápido (PDR) (1) (2) y mediante métodos parasitológicos directos que permiten la detección de ácidos nucleicos del parásito como la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

En este contexto se debe garantizar el acceso universal al diagnóstico de malaria que, acompañado de un tratamiento oportuno, el reporte y análisis de los casos, así como el seguimiento microscópico al tercer día luego de iniciado el tratamiento, posibilita la toma de decisiones que impactan la morbilidad y la mortalidad de la enfermedad (3) (4).

La microscopia se constituye en el estándar de oro para el diagnóstico de la malaria, teniendo en cuenta que se debe contar con metodología estandarizada de elaboración y coloración, colorantes con características técnicas y de calidad adecuados, personal bien entrenado y Programas de Garantía de Calidad continuos, es una metodología que tiene ventajas por ser económica, sensible y específica y que permite realizar actividades de control de calidad (5).





Las PDR son dispositivos de fácil uso e interpretación sencilla que permiten ampliar la cobertura del diagnóstico de malaria en zonas rurales dispersas y en donde la población que se encuentra en riesgo de tener la enfermedad no tiene acceso al diagnóstico ni a un tratamiento antimalárico oportuno. Sin embargo, es importante tener presente que el diagnóstico microscópico es la prueba de referencia para el diagnóstico de malaria y debe ser el método por excelencia siempre que existan las condiciones para su aplicación (6).

A pesar de las numerosas ventajas de las 2 técnicas mencionadas previamente, éstas no logran estimar acertadamente la prevalencia de las infecciones que cursan con parasitemias muy bajas (<100 parásitos/μl) en escenarios de baja transmisión. Así, la necesidad de contar con métodos de detección más sensibles ha llevado a la utilización de herramientas diagnósticas basadas en la amplificación del ácido nucleico (NAA por sus siglas en inglés), particularmente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés). Este tipo de metodología se viene utilizando ampliamente en estudios epidemiológicos o de investigación y actualmente se encuentran disponibles en el mercado varias pruebas con desempeño diagnóstico superior a la microscopía y las PDR (7).

Los recientes avances en el control de la malaria y el incremento en los fondos para combatir esta enfermedad han llevado a considerar la eliminación de la malaria como una meta alcanzable para un considerable número de regiones endémicas. El paso del control a eliminación prioriza las intervenciones dirigidas a erradicar las infecciones que contribuyen a la transmisión de la malaria, sin considerar el estatus sintomático o la parasitemia. Colombia participa en esta iniciativa y ya algunos municipios vienen preparándose para adoptar las estrategias de eliminación. Teniendo en cuenta que las pruebas moleculares tienen una mayor sensibilidad y especificidad y que dentro de las estrategias de eliminación la interrupción de la transmisión es un factor preponderante, las herramientas de detección molecular deben ser consideradas para el diagnóstico de casos con infección sub-microscópica y así contribuir al avance del programa de eliminación de la malaria.

Por otra parte, la eficacia del tratamiento antimalárico debe ser vigilada mediante seguimiento microscópico al tercer día luego de iniciado el tratamiento con gota gruesa, lo que permite monitorear la completa eliminación de formas parasitarias asexuales en el paciente con lo cual se asegura la respuesta adecuada al tratamiento.

Considerando esta situación y con el fin de unificar conceptos sobre estas metodologías de diagnóstico y seguimiento, el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de la Dirección de Redes en Salud Pública (DRSP) del INS elabora esta recomendación técnica en el marco de sus competencias.

Las actividades de la red de diagnóstico de malaria son:

Capacitaciones.

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

Estas actividades tienen como objetivo desarrollar y fortalecer las destrezas para diagnosticar la malaria en los entrenamientos que realiza el laboratorio de referencia al interior de su red de laboratorios. En el diagnóstico microscópico es de especial importancia la diferenciación de especies. Para lograr este propósito, en los contenidos de las capacitaciones se deben incluir temas como toma de muestra, requerimientos de un buen portaobjeto, preparación de gota gruesa y extendido, almacenamiento y transporte de láminas, formulación de colorantes,





estandarización de la coloración, uso del microscopio, limpieza básica del microscopio, uso del microscopio, reconocimiento de formas parasitarias y células sanguíneas, con especial énfasis en la diversidad morfológica que puede tener una misma especie, claves morfológicas, diagnóstico de infecciones mixtas y la detección de bajas parasitemias, lo cual implica poder contar en las capacitaciones con muestras de diferentes grados de complejidad. Adicionalmente, se debe incluir el recuento parasitario y reconocimiento de otros hemoparásitos.

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

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

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

El reentrenamiento es una actividad de mejora que se debe realizar cuando la asistencia técnica no ha surgido efecto en cuanto a la mejora de los indicadores (7).

Programa de Evaluación Externa del Desempeño Directo (PEED)

El PEED para el diagnóstico de parásitos del género *Plasmodium spp*, es un ensayo de aptitud de comparación interlaboratorio de tipo simultáneo, cualitativo/cuantitativo y continuo. El PEED corresponde a la evaluación a partir de un panel de diez (8) láminas de gotas gruesas y extendidos de óptima calidad de las especies presentes en la región con infecciones mixtas de *P. falciparum* y *P. vivax* y de otros hemoparásitos denominadas “Láminas problema”, homogéneas y estables, identificadas individualmente con códigos irrepitibles; se incluyen láminas con diferentes grados de complejidad (densidad parasitaria, morfología, artefactos) y láminas negativas. Los parámetros para determinar en los ítems de ensayo son: la positividad o negatividad de las muestras, la especie o especies presentes en la muestra, la identificación morfológica de las formas sexuadas y asexuadas y la densidad parasitaria en los ítems de ensayo positivos. Los paquetes son enviados por el Laboratorio Nacional de Referencia a los LSP (sin costo) y privados participantes en forma anual, para que estos últimos hagan la lectura y posteriormente, poder evaluar su desempeño. Las láminas son revisadas por un experto antes de su remisión, de tal forma que la complejidad sea similar y que la evaluación sea comparable para todos los participantes (9).

La participación en Programas de Evaluación Externa del Desempeño es una función de los LSP, Artículo 16, numeral 7 (Decreto 2323 de 2006); además su participación contribuye en los procesos de acreditación, al fortalecer los esquemas de aseguramiento de la calidad y el mejoramiento del desempeño analítico del laboratorio. Se evalúan los parámetros de positividad y negatividad, especie y recuento parasitarios.

Programa de Evaluación Externa del Desempeño Indirecto (PEID)

La Evaluación Externa Indirecta del desempeño es una actividad que contribuye a la calidad del diagnóstico en los Laboratorios de Salud Pública, razón por la que se constituye en un apoyo en la vigilancia epidemiológica de malaria. Esta evaluación aplica para los 33 Laboratorios





Departamentales y el Laboratorio Distrital de Bogotá, de acuerdo con la endemicidad de estos eventos.

Los LSP deberán remitir al INS:

- Todas las láminas positivas para otras especies parasitarias (*P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi*)
- Todas las láminas de infecciones mixtas
- Todas las láminas con recuento ≥ 25.000 parásitos/ μL
- Todas las láminas de pacientes que hayan fallecido con diagnóstico probable de malaria (10).

Los municipios deberán remitir al LSP:

- Selección aleatoria mensual de 10 láminas (cinco positivas y cinco negativas)
- Los parámetros valorados son:
- Concordancia de resultados positivos y negativos (aceptable, mayor del 75 %)
- Índice kappa general y de especie (aceptable, mayor de 0,8)
- Concordancia del recuento parasitario (aceptable, mayor del 75 %)
- Error general que corresponde al porcentaje de errores técnicos.

Los resultados deben enviarse de manera oportuna de tal forma que permitan la implementación de acciones correctivas cuando sea necesario (11).

Supervisión

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

En la visita es importante llevar el Instructivo para el diligenciamiento de la ficha de supervisión a puestos de microscopía y la lista de chequeo de la dotación mínima (7) .

Asistencia técnica

Actividad que permite transmitir información y conocimiento, así como formar aptitudes y desarrollar habilidades técnicas relacionadas con el diagnóstico parasitario de malaria y su calidad. La asistencia técnica puede realizarse de manera presencial o virtual.

Referencia y contra referencia

Actividad mediante la cual los laboratorios públicos y privados u otras instituciones remiten muestras para la confirmación diagnóstica de malaria al nivel jerárquico inmediatamente superior para su revisión y claridad en el diagnóstico. Para tal efecto, se deben enviar las muestras con el resultado del laboratorio o puesto de diagnóstico remitente (7).





Lineamientos Nacionales para el diagnóstico microscópico de malaria:

- Confirmar la positividad o negatividad empleando la gota gruesa.
- Negatividad: una lámina es negativa cuando se evidencia la ausencia de parásitos después al observar por lo menos 500 campos microscópicos con objetivo 100x.
- Si se confirma la positividad se debe confirmar especie parasitaria; descartando una posible Infección mixta.
- Si persisten dudas en la especie se debe usar el extendido de sangre periférica.
- Recuento: La fórmula general es Número de parásitos X 8000 / número de Leucocitos
- Consideraciones especiales:
 - Si al contar 200 leucocitos, se observan 10 o más parásitos, aplicar la fórmula con base en 200 leucocitos.
 - Si al contar 200 leucocitos, se observan 9 o menos parásitos, se continúa el recuento hasta llegar a 500 leucocitos y aplicar la fórmula con base en los 500 leucocitos.
 - Si se cuentan 500 parásitos sin llegar a contar los 200 leucocitos, el recuento se dará por terminado al finalizar la lectura del último campo.
- Informe de resultados:
 - Resultados negativos: “Gota gruesa negativa para hemoparásitos, No se observan parásitos en la muestra examinada”
 - Resultados positivos: “Gota gruesa positiva para la especie o especies de *Plasmodium sp.* identificadas” En el caso de *P. falciparum* reportar la presencia de formas sexuales.
 - Si se diagnostica una infección mixta reportar primero la especie predominante y el recuento diferenciado por especie.
- Uso de pruebas rápidas
- Como herramienta de diagnóstico complementaria en brotes y epidemias.
- En centros de salud o instituciones de salud, por otro personal de salud y agentes comunitarios, previamente capacitados, para ampliar cobertura y oportunidad en el diagnóstico.
- 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.
- Sistema de archivo de la documentación asociada a los Programas de Evaluación del Desempeño, tanto la que se genera desde el Laboratorio Nacional de Referencia hacia el nivel departamental, como la que se genera del nivel departamental al municipal.

También de la información recibida por los niveles departamental y municipal producto de los resultados obtenidos en el control de calidad, de tal manera que permita hacer seguimiento, a través del tiempo, del desempeño y calidad del diagnóstico, así como generar estrategias de mejora de acuerdo con los resultados obtenidos (11).





Referencias

David A. Warrell HMG. Essential Malariology Londres: Ed. Arnold; 2002.

World Health Organization. Basic malaria microscopy Part. I. Learner`s Guide Geneva: World Health Organization; 1991.

Organización Mundial de la Salud. La iniciativa T3: Test. Treat. Track contra el paludismo. [Online].; 2015. Available from: http://www.who.int/malaria/areas/test_treat_track/es/.

Ministerio de Salud de Colombia. Resolución 412 de 2000: Guía de atención clínica malaria. [Online].; 2000. Available from: <http://www.acin.org/acin/new/Portals/0/Templates/guia%20de%20atencion%20clinica%20de%20malaria%202010.pdf>.

World Health Organization. Malaria light microscopy creating a culture of quality Geneve: World Health Organization; 2005.

World Health Organization. Malaria microscopy quality assurance manual. Geneva Geneva: World Health Organization; 2009.

Instituto Nacional de Salud, Fondo Mundial. Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento. Bogotá.; 2015.

Organización Panamericana de la Salud. Memorias Taller de Capacitación y Certificación de microscopistas para países de la región de las Américas. In Memorias Taller de Capacitación y Certificación de microscopistas para países de la región de las Américas; 2016; México, D.F: Organización Panamericana de la Salud.

Instituto Nacional de Salud. Protocolo Programas Evaluación del Desempeño. [Online].; 2019. Available from: <https://www.ins.gov.co/TyS/programas-de-calidad/SiteAssets/programas-directos/parasitolog%c3%ada/PROTOCOLO%20PEED%20Malaria%202019.pdf>.

World Health Organization. Malaria microscopy quality assurance manual. [Online].; 2009. Available from: [WHO. Malaria microscopy quality assurance manual. Manila: Geneva: World Health Organization; 2009. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204266/1/9789241549394_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204266/1/9789241549394_eng.pdf).

Cortés LJ GA. Guía para la vigilancia por laboratorio de parásitos del género Plasmodium. [Online].; 2020. Available from: [Cortés LJ, Guerra AP, Guía para la vigilancia por laboratorio de parásitos del género Plasmodium s.p.p. Instituto Nacional de Salud. 2020. https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Gu%C3%ADa%20para%20la%20vigilancia%20por%20lab](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Gu%C3%ADa%20para%20la%20vigilancia%20por%20lab).

