

Prosperidad
para todos



Ministerio de la Protección Social
República de Colombia



Ministerio de Salud



Manual para Obtención y envío de muestras para análisis de eventos de interés en salud pública

ISBN: 978-958-13-0145-4



República de Colombia
Instituto Nacional de Salud
Subdirección Red Nacional de Laboratorios

Manual para obtención y envío de muestras para análisis
de eventos de interés en salud pública

2011

Instituto Nacional de Salud

**Juan Gonzalo López Casas
Director General**

**Edith Olivera Martiez
Secretaria General**

**Gloria Janneth Rey Benito
Subdirección Red Nacional de
Laboratorios**



Autores

Subdirección Red Nacional de Laboratorios

Gloria Janneth Rey Benito
Marysol González Hormiga

Grupo de Genética

Antonio José Bermúdez

Grupo de Entomología

Ligia Lugo Vargas

Grupo de Micobacterias

María Consuelo Garzón
Claudia Llerena Polo

Grupo de Microbiología

María Helena Realpe

Grupo de Parasitología

Martha Stella Ayala Sotelo
Yanira Andrea Romero Barbosa

Grupo de Patología

Edgar Alberto Parra Saad

Grupo de Salud Ambiental

Gerardo Nava Tovar
Carlos Armando Cristancho Pinzón

Grupo de Virología

Jairo Andrés Méndez R.
Dioselina Peláez





Editores del Manual

Gloria Janneth Rey Benito
Marysol González Hormiga

Correccion de Estilo

Gerzain Rodriguez

Ilustraciones

Marysol Gonzalez Hormiga
Juanita Sierra Rey

Diagramación y Diseño

Kevin Torres

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	11
MARCO NORMATIVO	12
1. CONSIDERACIONES GENERALES	15
1.1 Precauciones universales	16
1.2 Definiciones	16
1.3. Consentimiento informado	22
1.3.1. Consentimiento informado en caso de menores	23
1.3.2. Consentimiento informado en el laboratorio	25
1.3.3. Consentimiento informado para VIH	26
1.3.4. Excepciones al consentimiento informado	27
1.4. Recomendaciones generales	27
1.4.1. Obtención de especímenes y muestras	27
1.4.2. Suero	27
1.4.3. Centrifugación	28
1.4.4. Recomendaciones a la hora de centrifugar	31
1.4.5. Anticoagulantes	31
1.4.6. Tubos de extracción	32
2. ENTOMOLOGÍA	33
2.1. Artrópodos vectores de enfermedades	34
2.2. Flebótomos	34
2.2.1. Métodos de recolección de flebótomos en campo	34
2.2.2. Transporte de flebótomos	35
2.2.3. Envío de flebótomos para intento de aislamiento de parásitos del género <i>Leishmania</i>	35
2.2.4. Envío de material vivo	3
2.3. Mosquitos de las Tribus: <i>Culicini</i> , <i>Anophellini</i> , <i>Sabethini</i>	365
2.3.1. Búsqueda y recolección de formas inmaduras	36
2.3.2. Empaque y transporte de material entomológico de campo	36
2.3.3. Envío de formas o estadios inmaduros (larvas y pupas)	37
2.3.4. Recolección de formas adultas	37
2.3.5. Empaque y transporte de material entomológico de campo	38
2.3.6. Envío de mosquitos adultos	38
2.3.7. Envío de adultos para intento de aislamiento de virus	38
2.3.8. Envío de material vivo	39
2.4. Triatominos	39
2.4.1. Recolección en campo	39
2.4.2. Selección de ninfas y adultos	40
2.4.3. Envío de adultos vivos para intento de aislamiento de parásitos del género <i>Trypanosoma</i>	41
2.5. Garrapatas	41
2.5.1. Recolección de garrapatas en campo	41
2.5.2. Procedimiento para recolección directa sobre hospederos	42
2.5.3. Procedimiento para el método de arrastre	42
2.5.4. Procedimiento para el uso de trampa de CO ₂	42

2.5.5. Envío de material de garrapatas al laboratorio	43
2.5.6. Envío de garrapatas en alcohol	43
2.5.7. Envío de garrapatas vivas	43
2.5.8. Control de calidad	44
2.5.9. Extracción de hemolinfa a partir de garrapatas vivas	44
3. GENÉTICA	45
3.1. Muestras de sangre para TSH neonatal	46
3.1.1. TSH neonatal en sangre seca	46
3.1.2. Ficha de registro de datos	46
3.1.3. Muestra de sangre de cordón umbilical en sala de partos	46
3.1.3.1 Materiales y equipo	46
3.1.3.2 Procedimiento	47
3.1.4. Muestra de sangre de talón	47
3.1.4.1 Material y equipo	47
3.1.4.2 Procedimiento	48
3.1.5. Muestra de suero para TSH ó T4.	48
3.1.6. Envío de muestras secas en papel filtro	48
3.2. Muestras de sangre periférica para cariotipo	49
3.3. Muestras de tejido, vellosidades coriales, tumores sólidos, restos ovulares, mola hidatiforme y líquido amniótico para cariotipo	50
4. MICOBACTERIAS	51
5. MICROBIOLOGÍA 88	54
5.1 Envío de aislamientos 89	55
5.1.1. Microorganismos aislados a partir de líquido cefalorraquídeo o hemocultivos 89	55
5.1.1.1 Bacterias	56
5.1.1.2 Hongos	56
5.1.2 Aislamientos de bacterias entéricas 92	57
5.1.3 Aislamientos a partir de muestras uretrales o cervicales 93	57
5.1.3.1 Bacterias	57
5.1.4 Aislamientos obtenidos de otras muestras 94	57
5.1.4.1 Bacterias Gram positivas	57
5.1.4.2 Bacterias Gram negativas	57
5.2 Envío de muestras para diagnóstico	60
5.2.1.1 Bordetella pertusis	60
5.2.1.2 Leptospira	60
5.2.1.3 Rickettsia	62
5.2.1.4 Hongos	62
6 PARASITOLOGÍA	64
6.1 Suero 109	65
6.2. Líquido cefalorraquídeo 110	66
6.3. Sangre desecada en papel de filtro 112	68
6.3.1 Por punción digital con lanceta	68
6.3.2 Obtenida por punción digital o punción venosa	68
6.4 Sangre con anticoagulante EDTA	70
6.5 Láminas de gota gruesa y extendido de sangre periférica	70
6.6 Preparado en láminas obtenidas a partir de la capa leucoplaquetaria obtenida por microhematocrito.	75

6.7 Láminas de examen directo para leishmaniasis	76
6.7.1 Leishmaniasis cutanea	76
6.7.2 Leishmaniasis visceral	78
6.7.3 Cultivos para Leishmaniasis	80
6.8 Muestras para cultivo de Trypanosoma cruzi	81
6.9 Identificación de parásitos intestinales	81
6.9.1 Examen macroscópico	81
6.9.2 Examen microscópico	81
7 PATOLOGÍA	85
7.1 Manejo inicial de muestras para estudios histopatológicos	86
7.2 Fijadores para estudios histopatológicos de rutina	87
7.3 recipiente para envío de muestras	87
7.4 Muestras en fresco	87
7.5 Especímenes de autopsia	88
7.6 Técnica de viscerotomía: en caso de muerte probable por fiebre amarilla (decreto 1693 de 1979)	88
8 SALUD AMBIENTAL	90
8.1 Muestras de sangre / suero	91
8.1.1 Análisis de metales	91
8.1.2 Análisis de plaguicidas	91
8.1.3 Análisis de genotoxicidad	92
8.2 Orina	93
8.2.1 Análisis de metales	93
8.2.2 Análisis de no metales	94
8.3 Pelo / uñas	94
8.4 Agua / sedimento	96
8.4.1 Metales	96
8.4.2 No metales	97
8.4.2.1 Análisis de flúor	97
8.4.2.2 Análisis de cianuro	98
9 VIROLOGÍA	100
9.1 Polio / enterovirus	101
9.1.1 Paralisis flácida aguda y meningitis/meningoencefalitis aséptica.	101
9.1.2 Meningitis por Enterovirus no polio (ENP).	101
9.1.3 Detección de anticuerpos anti-polio:	101
9.2 Virus entéricos	102
9.2.1 Enfermedad diarreica aguda -EDA	102
9.2.1.1 rotavirus del grupo A	102
9.2.1.2 Norovirus, Adenovirus y Astrovirus	104
9.3 Virus entéricos en agua de consumo humano	105
9.4 Arbovirus	105
9.4.1 Dengue	105
9.4.1.1 Pruebas virológicas	106
9.4.1.2 Pruebas serológicas	106
9.4.2 Fiebre amarilla	106
9.4.2.1 Pruebas virológicas:	107
9.4.2.2 Pruebas serológicas	107
9.5 Encefalitis equinas (<i>Venezolana, del Este y del Oeste</i>).	107

9.6 Exantémicas virales	108
9.6.1 Sarampión	109
9.6.2 Rubeola	111
9.7 Virus de inmunodeficiencia humano (VIH)	112
9.8 Rabia	113
9.8.1 Titulación de Anticuerpos	113
9.8.2 Tipificación viral	113
9.9 Virus de hepatitis	114
9.9.2 Hepatitis B	114
9.9.3 Hepatitis C	115
9.9.4 Hepatitis D	115
9.10 Virus respiratorios	116
9.10.1 influenza	116
9.10.2 Parainfluenza 1, 2 y 3	116
9.10.3 Virus Sincitial respiratorio	116
9.10.4 Adenovirus	116
10 TRANSPORTE DE MUESTRAS	117
10.1 Responsabilidades del expedidor, destinatario y operador	118
10.1.1 Expedidor, remitente o consignador	118
10.1.2 Destinatario o consignatario	119
10.1.3 Operador o transportador	119
10.2 Contenido	119
10.2.1 Clasificación de sustancias infecciosas	119
10.2.1.1 sustancia infecciosa, Categoría A	119
10.2.1.2 Sustancia biológica, Categoría B	119
10.2.2 Muestras de seres humanos y animales exentas	119
10.2.3 Embalaje/envasado	120
10.2.4 documentación para el envío	122
10.2.5 Recomendaciones especiales para el envío de muestras al INS	123
10.2.6 Procedimiento en caso de rupturas, fugas o derrames	123
ANEXOS	125
BIBLIOGRAFÍA	130

Introducción

El Instituto Nacional de Salud (INS), como autoridad científico técnica nacional en salud, tiene la responsabilidad de actuar como laboratorio de referencia nacional y coordinar técnicamente la red nacional de laboratorios de salud pública, a través de la Subdirección Red Nacional de Laboratorios (SRNL). En este sentido, y en aras de estandarizar y garantizar la calidad, eficiencia y eficacia de los procedimientos diagnósticos de Laboratorio que apoyan la vigilancia y control en salud pública, se elaboró el presente manual, que servirá de guía para los laboratorios e instituciones que remiten muestras al INS.

En este manual se encuentra información detallada sobre la obtención, envío, transporte y conservación de las muestras o especímenes diagnósticos en condiciones de calidad analítica y seguridad, con el fin de garantizar su uso adecuado, no solo en beneficio del paciente, sino para la toma de decisiones en salud pública, porque las muestras que se remiten al INS, generalmente llegan con fines de diagnóstico, confirmación o investigación de brotes, emergencias y otros eventos de interés en salud pública.

El INS está comprometido en mantener actualizados los métodos y procedimientos de laboratorio que permitan proporcionar resultados confiables y oportunos hasta donde sea posible, debido a que la utilidad de un resultado, depende en buena medida de la exactitud del análisis, que a su vez está influenciado de manera importante por la calidad de la muestra obtenida. Por esto, a lo largo de las secciones se hace especial énfasis en todos aquellos procedimientos técnicos que pueden afectar la calidad de la muestra antes de su análisis, entre las que se mencionan las variables preanalíticas, que incluyen aspectos como la centrifugación (preparación de la muestra), la separación de alícuotas, el uso de anticoagulantes o preservativos, la hora de obtención, los medios utilizados para el transporte de las muestras, la estabilidad de la muestra para la determinación, además de otras condiciones como la identificación de las mismas y finalmente los requisitos técnicos y de seguridad durante el transporte, que es donde culmina la fase preanalítica.

MARCO NORMATIVO

Derechos fundamentales a la vida y a la salud

Código Sanitario Nacional. Título VII de la ley 9ª de 1979

Ley 10 de 1990: se le otorgan atribuciones al Estado para organizar y establecer las normas técnicas y administrativas para la prestación de los servicios de salud.

Ley 100 de 1993 (ley estatutaria)

Ley 715 de 2001 (ley orgánica): organización para la prestación de los servicios de salud.

Resolución 4547 de 1998: se definen los exámenes de laboratorio en alimentos, bebidas, medicamentos, cosméticos, insumos para la salud y productos varios de interés en salud pública, que deben realizar los laboratorios de salud pública departamentales y distritales, los laboratorios clínicos y los laboratorios de cito histopatología.

Resolución 412 de 2000: se establecen las actividades, procedimientos e intervenciones de demanda inducida y obligatorio cumplimiento y se adoptan las normas técnicas y guías de atención para el desarrollo de las acciones de protección específica y detección temprana y la atención de enfermedades de interés en salud pública.

Decreto 1011 de 2006: por el cual se establece el Sistema obligatorio de Garantía de Calidad de la Atención de Salud del Sistema General de Seguridad Social en Salud. Las disposiciones del presente decreto se aplicarán a los Prestadores de Servicios de Salud, las Entidades Promotoras de Salud, las Administradoras del Régimen Subsidiado, las Entidades Adaptadas, las Empresas de Medicina Prepagada y a las Entidades Departamentales, Distritales y Municipales de Salud.

Resolución 1043 de 2006: por la cual se establecen las condiciones que deben cumplir los prestadores de Servicios de Salud para habilitar sus servicios e implementar el componente de auditoría para el mejoramiento de la calidad de la atención y se dictan otras disposiciones.

Decreto 2323 de 2006: por el cual se reglamenta parcialmente la ley 9ª de 1979 en relación con la Red Nacional de Laboratorios y se dictan otras disposiciones. Tiene por objeto organizar la red nacional de laboratorios y reglamentar su gestión, con el fin de garantizar su adecuado funcionamiento y operación en las líneas estratégicas del laboratorio para la vigilancia en salud pública, la gestión de la calidad, la prestación de servicios y la investigación.

Decreto 3518 de 2006: por el cual se crea y reglamenta el Sistema de Vigilancia en Salud Pública y se dictan otras disposiciones. Su objeto es crear y reglamentar el Sistema de Vigilancia en Salud Pública, Siviigila, para la provisión en forma sistemática y oportuna, de información sobre la dinámica de los eventos que afecten o puedan afectar la salud de la población, con el fin de orientar las políticas y la planificación en salud pública; tomar las decisiones para la prevención y control de enfermedades y factores de riesgo en salud; optimizar el seguimiento y evaluación de las intervenciones; racionalizar y optimizar los

recursos disponibles y lograr la efectividad de las acciones en esta materia, propendiendo por la protección de la salud individual y colectiva.

Decreto 1693 de 1979 por el cual se reglamenta la vigilancia epidemiológica de Fiebre Amarilla, se establece la práctica de autopsia total o parcial (viscerotomía o punción post mortem en forma sistemática), como medio de investigación científica para fiebre amarilla y otras enfermedades.

Decreto 786 de 1990 por el cual se reglamenta parcialmente el título IX de la ley 9ª de 1979 en cuanto a la práctica de autopsias clínicas y médicas legales así como viscerotomías.

Ley 9ª de 1979 Código Sanitario Nacional, Título IX de funciones, traslado de cadáveres, inhumación y exhumación, trasplante y control de especímenes.

Artículo 333 de la Constitución Política, se consagran derechos y principios de primer orden, como la actividad económica y la iniciativa privada, los cuales son libres dentro de los límites del bien común, el interés social y el ambiente. Para su ejercicio, nadie podrá exigir permisos previos ni requisitos, sin autorización de la ley.

Artículo 130 de la ley 9 de 1979, “Código Sanitario”, establece que en la importación, fabricación, almacenamiento, transporte, comercio, manejo o disposición de sustancias peligrosas deberán tomarse todas las medidas y precauciones necesarias para prevenir daños a la salud humana y animal, de acuerdo con la reglamentación del Ministerio de Salud (Ministerio de la Protección Social).

Ley 734 Código Disciplinario Único. Art. 37. Proferir actos administrativos, por fuera del cumplimiento del deber, con violación de las disposiciones constitucionales o legales referentes a la protección de la diversidad étnica y cultural de la Nación, de los recursos naturales y del medio ambiente, originando un riesgo grave para las etnias, los pueblos indígenas, la salud humana o la preservación de los ecosistemas naturales o el medio ambiente.

Art. 38. Corregido por el Decreto Nacional 224 de 2002 "Omitir o retardar injustificadamente el ejercicio de las funciones propias de su cargo, permitiendo que se origine un riesgo grave o un deterioro de la salud humana, el medio ambiente o los recursos naturales"

Artículos 2 y 3 de la ley 105 de diciembre 30 de 1993 en su literal e) dentro de los principios fundamentales, establece: “La seguridad de las personas constituye una prioridad del Sistema y del Sector Transporte” y “La operación del transporte público en Colombia es un servicio público bajo la regulación del Estado, quien ejercerá el control y la vigilancia necesarios para su adecuada prestación, en condiciones de calidad, oportunidad y seguridad” y el numeral 6) estipula que “El Gobierno Nacional podrá establecer condiciones técnicas y de seguridad para la prestación del servicio y su control será responsabilidad de las autoridades de tránsito”, respectivamente.

Numeral 10 del Artículo 5 de la ley 99 de diciembre 22 de 1993, “Por la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente”, establece entre sus funciones la de determinar las normas ambientales mínimas y las regulaciones de carácter general sobre medio ambiente a las que

deberán sujetarse los centros urbanos y asentamientos humanos y las actividades mineras, industriales, de transporte y en general todo servicio o actividad que pueda generar directa o indirectamente daños ambientales.

Artículo 3 del Decreto ley 919 de 1989, "Por el cual se organizó el Sistema Nacional para la Prevención y Atención de Desastres", establece que la Oficina Nacional para la Atención de Desastres, hoy Dirección General para la Prevención y Atención de Desastres, elaborará un Plan Nacional para la Prevención y Atención de Desastres, el cual fue efectivamente expedido mediante Decreto 93 de 1998.

Decreto 1609 de 2002 Por el cual se reglamenta el manejo y transporte terrestre automotor de mercancías peligrosas por carretera.

Decreto 4741 de 2005 – Min Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 'Por el cual se reglamenta parcialmente la prevención y manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral“.

Norma Técnica Colombiana NTC 1692 "Transporte de mercancías peligrosas. Clasificación, etiquetado y rotulado”

Reglamentos Aeronáuticos Colombianos de la Unidad Administrativa Especial de Aeronáutica Civil - RAC partes 10 y 17– Oficina de Transporte Aéreo – Grupo de normas Aeronáuticas.

Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas de la Organización Mundial de la Salud1.

Reglamentación Modelo de Naciones Unidas (Libro Naranja), elaborada por el Comité de Expertos en Transporte de Mercancías Peligrosas del Consejo Económico y Social, versión vigente.

Documento OACI 9284, Instrucciones Técnicas para el Transporte sin Riesgos de Mercancías Peligrosas por Vía Aérea.

1. Consideraciones generales



1.1 Precauciones universales

Todas las muestras y con mayor razón las enviadas para diagnóstico, confirmación o investigación en eventos de interés en salud pública deben considerarse siempre potencialmente patógenas y por lo tanto, deben seguirse en todo momento y con rigurosidad las medidas de prevención de riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos (clasificación de riesgo), así como las recomendaciones de bioseguridad en el laboratorio de la Organización Mundial de la Salud.¹

Es responsabilidad del personal del laboratorio, velar porque las actividades y procedimientos allí realizados se realicen en un ambiente seguro y ordenado, lo cual se logra con recurso humano calificado y entrenado técnicamente en prácticas de bioseguridad, por su propio bien, el de sus colegas, la comunidad, el medio ambiente y los bienes.

1.2 Definiciones

*Acetilcolinesterasa*²: la acetilcolinesterasa o colinesterasa en glóbulos rojos (AChE), es una enzima humana de la familia de las colinesterasas que se encuentra en los tejidos nerviosos y los glóbulos rojos, cuya función principal es hidrolizar al neurotransmisor acetilcolina.

Aditivo: sustancia química que al añadirse a una muestra causa uno o más cambios en sus propiedades físicas o químicas³.

Aerosol: una fina niebla producida por la atomización de un líquido.

Alícuota: una pequeña parte de una determinada muestra, la cual tiene la misma composición química.

Aneunógeno: agente productor de aneuploidías.

Anticoagulante: sustancia que puede suprimir, retrasar, o evitar la coagulación de la sangre impidiendo la formación de fibrina.

Artefacto: cambio del estado de un material como resultado de un proceso o condición artificial más que de uno natural.

Arterial: relacionado con o derivado de las arterias, los vasos que conducen sangre del corazón a los tejidos del cuerpo.

Autoridades sanitarias: entidades jurídicas de carácter público con atribuciones para ejercer funciones de rectoría, regulación, inspección, vigilancia y control de los sectores público y privado en salud y adoptar medidas de prevención y seguimiento que garanticen la

1. Organización Mundial de la Salud (2005). Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ª. Edición. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.

2. Definición de acetilcolinesterasas. Consultado septiembre 2009. <http://es.wikipedia.org/wiki/Acetilcolinesterasa>

3. Kaplan, Lawrence A. & Pesce Amadeo J, (2003). Fuentes y control de la variación preanalítica. Química Clínica Teoría, análisis y correlación. Tercera Edición. St. Louis, Missouri USA: Pesce Kaplan Publishers INC.

protección de la salud pública, tales como el Ministerio de la Protección Social, la Superintendencia Nacional de Salud, el Instituto Nacional de Salud, entre otros⁴.

Cadena del transporte: está compuesta por aquellas personas naturales o jurídicas (remitante, dueño o propietario de la mercancía peligrosa, destinatario, empresa de transporte, propietario o tenedor del vehículo y conductor) que intervienen en la operación de movilización de mercancías peligrosas de un origen a un destino⁵.

Capilar: relacionado con un vaso sanguíneo muy delgado en los tejidos donde los nutrientes son depositados y los productos de desecho son removidos por la sangre.

Carbamatos: son un grupo de químicos derivados del ácido carbámico, el cual es algo parecido a la urea. Los carbamatos son compuestos biodegradables mediante la exposición a los rayos solares, no son bioacumulables, son liposolubles y en su mayoría son de mediana y baja toxicidad, con excepción del Aldicarb (temik) y el Carbofurán (furadán) que son de toxicidad alta para el ser humano. Son inhibidores transitorios de la enzima colinesterasa.

Catéter: un tubo de hule o plástico que conecta una cavidad del cuerpo con la superficie del cuerpo.

Citotoxicidad: alteraciones de las funciones básicas en una célula: integridad de la membrana y del citoesqueleto, metabolismo, síntesis y degradación, liberación de constituyentes celulares o productos, regulación iónica y división celular.

Clastógeno: agente físico, químico o biológico capaz de inducir fracturas en los cromosomas.

Compuesto analizado: sustancia que puede ser medida por una técnica analítica.

Contrarreferencia: es la respuesta oportuna que un laboratorio público o privado u otra institución da a una solicitud formal de referencia. La respuesta puede ser la contrarremisión respectiva con las debidas indicaciones a seguir o simplemente la información sobre la atención recibida por el usuario en el laboratorio receptor, o el resultado de los respectivos exámenes de laboratorio⁶.

Destinatario: toda persona natural o jurídica, organización o gobierno que reciba una mercancía.

Determinación de anticuerpos: exámenes basados en la reacción antígeno - anticuerpo, que se aplican en el estudio del proceso infeccioso y autoinmune. Su utilidad es detectar respuesta antigénica del paciente (anticuerpos) en muestras biológicas, principalmente suero, para saber si un paciente está infectado (infección aguda) o ha respondido inmunológicamente a una infección (infección pasada), o si tiene anticuerpos contra sus

4. Ministerio de la Protección Social. (2006) Creación y reglamentación del Sistema de Vigilancia en Salud Pública. Decreto 3518 del 9 de octubre de 2006. Colombia: Ministerio de la Protección Social.

5. Ministerio de Transporte. (2002) Transporte terrestre automotor de mercancías peligrosas por carretera. Decreto 1609 del 31 de julio de 2002. Colombia: Ministerio Transporte.

6. Ministerio de la Protección Social. (2006) Reglamentación parcial de la ley 9ª de 1979 en relación a la Red Nacional de Laboratorios. Decreto 2323 de julio 12 de 2006. Colombia: Ministerio de la Protección Social.

propios componentes celulares.

Ecotoxicidad: daño causado al ecosistema por agentes físicos, químicos o biológicos.

EDTA: ácido etilendiaminetetraacético (Ethylenediaminetetraacetic acid), es un agente quelante de calcio, de uso común. Actúa como anticoagulante y preservativo, uniendo calcio y otros cationes. Por sus propiedades quelantes, es capaz de inactivar varias enzimas necesarias para la formación del coágulo y para la degradación de proteínas y lípidos en sangre.

Espécimen: es un material líquido, sólido o gaseoso que se envía al laboratorio para su caracterización o análisis.

Estasis: una disminución y lenificación en el flujo de sangre en una parte del cuerpo.

Etiqueta: información impresa que advierte sobre un riesgo de una mercancía peligrosa, por medio de colores o símbolos; se ubica sobre los diferentes empaques o embalajes de las mercancías.

Evaporación: transformación de agua en vapor.

Eventos: sucesos o circunstancias que pueden modificar o incidir en la situación de salud de un individuo o una comunidad y que para efectos del presente decreto, se clasifican en condiciones fisiológicas, enfermedades, discapacidades y muertes; factores protectores y factores de riesgo relacionados con condiciones del medio ambiente, consumo y comportamiento; acciones de protección específica, detección temprana y atención de enfermedades y demás factores determinantes asociados.

Eventos de Interés en Salud Pública: aquellos eventos considerados como importantes o trascendentes para la salud colectiva por parte del Ministerio de la Protección Social, teniendo en cuenta criterios de frecuencia, gravedad, comportamiento epidemiológico, posibilidades de prevención, costo–efectividad de las intervenciones, e interés público; que además, requieren ser enfrentados con medidas de salud pública.

Exámenes de laboratorio de interés en salud pública: pruebas analíticas orientadas a la obtención de resultados para el diagnóstico o confirmación de los eventos sujetos a vigilancia en salud pública y exámenes con propósitos de vigilancia y control sanitario, de conformidad con las disposiciones que sobre la materia establezca el Ministerio de la Protección Social.

Flebotomía: punción de una vena con una aguja con el propósito de obtener una muestra de sangre.

Genotoxicidad: daño causado por agentes físicos, químicos o biológicos en el ADN: mutaciones génicas, mutaciones cromosómicas.

Hemoconcentración: el proceso de incremento en la concentración de las células, proteínas, y ocasionalmente otros compuestos analizados en sangre a través de la pérdida de agua, ya sea in vitro o in vivo.

Hemólisis: ruptura de glóbulos rojos, que liberan al suero o al plasma sus contenidos.

Heparina: un anticoagulante que inhibe directamente la formación de fibrina.

Hoja de seguridad: documento que describe los riesgos de un material peligroso y suministra información sobre cómo se puede manipular, usar y almacenar el material con seguridad.

In vitro: literalmente, en vidrio; ocurre en una situación artificial, como en un tubo de ensaye.

In vivo: ocurre en un organismo vivo.

Intraindividual: dentro de una sola persona.

Intravenoso: dentro de una vena; generalmente se refiere a los fluidos intravenosos, en donde el agua contiene medicamentos, glucosa o electrolitos que son administrados a un paciente a través de un catéter insertado en una vena.

Laboratorio de salud pública: entidad pública del orden departamental o distrital, encargada del desarrollo de acciones técnico administrativas realizadas en atención a las personas y el medio ambiente con propósitos de vigilancia en salud pública, vigilancia y control sanitario, gestión de la calidad e investigación.

Lista de mercancías peligrosas: es el listado oficial que describe más exactamente las mercancías peligrosas transportadas más frecuentemente a nivel internacional y que se publican en el Libro Naranja de la Organización de las Naciones Unidas titulado "Recomendaciones relativas al transporte de mercancías peligrosas", elaboradas por el comité de expertos en transporte de mercancías peligrosas del Consejo Económico y Social.

Mercancía peligrosa: materiales perjudiciales que durante la fabricación, manejo, transporte, almacenamiento o uso, pueden generar o desprender polvos, humos, gases, líquidos, vapores o fibras infecciosas, irritantes, inflamables, explosivos, corrosivos, asfixiantes, tóxicos o de otra naturaleza peligrosa, o radiaciones ionizantes en cantidades que puedan afectar la salud de las personas que entran en contacto con éstas, o que causen daño material.

Micronúcleo: núcleo pequeño formado por rupturas o pérdidas cromosómicas producidas por agentes aneunógenos o clastógenos indistintamente.

Mitosis: proceso de división en células somáticas que resultan en la formación de dos células genéticamente idénticas.

Mitigación: definición de medidas de intervención dirigidas a reducir o minimizar el riesgo o contaminación.

Mutagénesis: distintos tipos de daño producido en el material genético, que pueden ser estables, heredables y ocurrir en forma directa o indirecta por efecto de un agente mutágeno o clastógeno.

Mutágeno: agente que aumenta la tasa de mutación por la inducción de cambios en el ADN e incrementa la tasa de mutaciones espontáneas por causar cambios en el ADN.

Muestra: una o más partes de un sistema, destinada a proporcionar información sobre el sistema; a menudo sirve de base para tomar una decisión sobre el sistema o su producción⁷.

Muestra: es la parte del espécimen que se utiliza para la caracterización o análisis; debe ser representativa del espécimen y por tanto del paciente⁸.

Número UN: es un código específico o número de serie para cada mercancía peligrosa, asignado por el sistema de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), y que permite identificar el producto sin importar el país del cual provenga. A través de este número se puede identificar una mercancía peligrosa que tenga etiqueta en un idioma diferente al español. Esta lista se publica en el Libro Naranja de las Naciones Unidas "Recomendaciones relativas al transporte de mercancías peligrosas", elaboradas por el comité de expertos en transporte de mercancías peligrosas, del Consejo Económico y Social.

Organofosforados: grupo de químicos usados como plaguicidas artificiales para controlar las poblaciones de plagas de insectos; son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa.

Plan de contingencia: programa de tipo predictivo, preventivo y reactivo con una estructura estratégica, operativa e informática desarrollado por la empresa, industria o algún actor de la cadena del transporte, para el control de una emergencia que se produzca durante el manejo, transporte y almacenamiento de mercancías peligrosas, con el propósito de mitigar las consecuencias y reducir los riesgos de empeoramiento de la situación y acciones inapropiadas, así como para regresar a la normalidad con el mínimo de consecuencias negativas para la población y el medio ambiente.

Plan de emergencia: organización de los medios humanos y materiales disponibles para garantizar la intervención inmediata ante la existencia de una emergencia que involucre mercancías peligrosas y garantizar una atención adecuada bajo procedimientos establecidos.

7. Calam Roger, Bessman J, Ernst Dennis, Smith Susan, Szamosi Diane, Warunek David & Wiseman Joan. 2004) Procedures for the handling and processing of blood specimens. NCCLS document H18-A3 ; third edition. USA: NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087

8. Morán Luis. (2001). Calidad en el laboratorio clínico. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica, mejoría de la etapa pre analítica. Primera edición. México: Editorial Médica Panamericana S.A. de C.V.

Plasma: la parte líquida de la sangre en el torrente sanguíneo; es una muestra obtenida de sangre mediante la colecta con un anticoagulante, con una centrifugación posterior de la muestra.

Postprandial: después de comer.

Preservativos: sustancias químicas que impiden cambios en la concentración de compuestos analizados en una muestra de sangre, orina, u otro fluido corporal.

Proteólisis: proceso de degradación de las proteínas, que puede ocurrir por reacciones químicas o procesos enzimáticos.

Quelación: proceso de unión de una molécula orgánica (quelante) con múltiples iones metálicos.

Red Nacional de Laboratorios: sistema técnico gerencial cuyo objeto es la integración funcional de laboratorios nacionales de referencia, laboratorios de salud pública, laboratorios clínicos, otros laboratorios, y servicios de toma de muestras y microscopía, para el desarrollo de actividades de vigilancia en salud pública, prestación de servicios, gestión de la calidad e investigación.

Referencia: mecanismo mediante el cual los laboratorios públicos y privados u otras instituciones remiten o envían pacientes, muestras biológicas o ambientales, medicamentos, productos biológicos, alimentos, cosméticos, bebidas, dispositivos médicos, insumos para la salud y productos varios a otros laboratorios con capacidad de respuesta para atender y procesar la solicitud formal requerida.

Remitente: cualquier persona natural o jurídica, organización u organismo que presente una mercancía para su transporte.

Tarjeta de emergencia: documento que contiene información básica sobre la identificación del material peligroso y datos del fabricante, identificación de peligros, protección personal y control de exposición, medidas de primeros auxilios, medidas para extinción de incendios, medidas para vertido accidental, estabilidad y reactividad e información sobre el transporte.

Rótulo: advertencia que se hace sobre el riesgo de una mercancía, por medio de colores y símbolos que se ubican sobre las unidades de transporte (remolque, semirremolque y remolque balanceado) y vehículos de carga.

Separador de suero: un componente mecánico que separa físicamente el suero y las células (los separadores de plasma separan plasma de las células), previniendo los cambios en la concentración de los compuestos analizados séricos debido al metabolismo celular.

Suero: la parte líquida de la sangre que queda después de que se ha formado un coágulo.

TBEP: tri (2-butoxietil) fosfato, una sustancia química encontrado en el hule, que puede pasar a través del tapón y unirse a proteínas, desplazando sustancias químicas y alterando sus concentraciones en el suero o plasma.

Torniquete: un dispositivo mecánico (como una banda ancha de hule) usada en la superficie de una extremidad la cual comprime las venas, haciéndolas aparecer más grandes mediante la prevención del retorno de sangre al corazón y pulmones.

Toxicidad genética: capacidad de un agente de tipo físico, químico o biológico para provocar alteraciones en el material genético.

Variación preanalítica: factores que alteran los resultados de una prueba de laboratorio y que ocurren antes de realizar la prueba.

Venoso: relacionado con las venas, los vasos que retornan la sangre de los tejidos al corazón y los pulmones.

Vigilancia en Salud Pública: función esencial asociada con la responsabilidad estatal y ciudadana de protección de la salud, consistente en el proceso sistemático y constante de recolección, análisis, interpretación y divulgación de datos específicos relacionados con la salud, para su utilización en la planificación, ejecución y evaluación de la práctica en salud pública.

Vigilancia y control sanitario: función esencial asociada con la responsabilidad estatal y ciudadana de protección de la salud, consistente en el proceso sistemático y constante de regulación, inspección, vigilancia y control del cumplimiento de normas y procesos para asegurar una adecuada situación sanitaria y de seguridad de todas las actividades que tienen relación con la salud humana.

1.3. Consentimiento informado

La Real Academia Española define el término consentimiento como la manifestación de voluntad, expresa o tácita, por la cual un sujeto acepta derechos y obligaciones en lo jurídico; en cuanto a consentimiento informado hace referencia a aquel que ha de prestar el enfermo o, de resultarle imposible, sus allegados, antes de iniciarse un tratamiento médico o quirúrgico, tras la información que debe transmitirle el médico de las razones y riesgos de dicho tratamiento o procedimiento.

El consentimiento informado, descrito con el término de “consentimiento voluntario”, en los primeros documentos legales publicados sobre el tema, como el Código de Nuremberg en 1947 y la Declaración de Helsinki en 1964, está basado en el principio de la autonomía, que es el

derecho del paciente a ser reconocido como persona libre y dueña de tomar sus decisiones⁹ y el derecho al libre desarrollo de la personalidad como lo establece la Constitución Política de Colombia de 1991 en el Capítulo I, Título II, Artículo 16.

En esta materia, la legislación colombiana cuenta con el código de ética (ley 23 del 18 de febrero de 1981) y su decreto reglamentario número 3380 del 30 de noviembre de 1981, además de la resolución 13437 de 1991 del Ministerio de Salud Pública, por la cual se adopta el Decálogo de Derechos de los Pacientes aprobado por la Asociación Médica Mundial en Lisboa en 1981.

Para que el consentimiento informado sea válido, se debe garantizar que éste sea libre, es decir, que no esté inducido por circunstancias externas al tratamiento mismo, sin presiones o coacciones; e informado, por cuanto el médico está en la obligación de suministrar a su paciente, a través de un lenguaje claro y comprensible y con la debida prudencia, la información relevante sobre los riesgos y beneficios objetivos de la terapia y las posibilidades de otros tratamientos, incluyendo los efectos de la ausencia de cualquier tratamiento, con el fin de que la persona pueda hacer una elección racional e informada sobre si acepta o no la intervención médica.

Entre más invasiva sea la intervención o cuando se tenga mayor compromiso de la integridad del paciente, más rigurosa será la información brindada por el médico; en estos casos el consentimiento debe ser cualificado, es decir, que exista un conocimiento profundo e integral sobre la naturaleza del procedimiento, efectos, riesgos, limitaciones y alternativas¹⁰.

“El consentimiento informado es un requisito necesario para la legitimidad constitucional de la práctica de procedimientos médicos, pues los profesionales de la salud no pueden decidir por sus pacientes”¹¹.

Es importante resaltar que el médico no intervendrá quirúrgicamente a menores de edad, a personas en estado de inconsciencia o mentalmente incapaces, sin la previa autorización de sus padres, tutores o allegados, a menos que la urgencia del caso exija una intervención inmediata¹².

1.3.1 Consentimiento informado en caso de menores

Cuando se requiere obtener muestras biológicas de pacientes para diagnóstico, confirmación, investigación, etc., es necesario tener claras las responsabilidades y obligaciones, especialmente en el caso de menores de edad, debido a que, por razón de su edad biológica, no tienen todavía plena capacidad de obrar por sí solos; en estos casos serán sus padres, tutores o allegados, los autorizados para tomar las decisiones al respecto.

La ley específica de cada país o el derecho indígena, en algunas comunidades, son los encargados de establecer la edad a partir de la cual una persona deja de ser menor de edad; es así como en algunos países occidentales, la mayoría de edad se alcanza a los 18 o 21 años, mientras

9. Palomer, Leonor. (2009) Consentimiento informado en odontología: Un análisis teórico práctico. Acta Bioética (on line). Vol 15, n.1 consultado el 2010-12-04, pp. 100-105.

10. Corte constitucional (2003). Consentimiento informado del paciente. Sentencia T-10251-03 República de Colombia: Corte Constitucional.

11. Op.cit

12. Congreso de Colombia (1981) De las relaciones del médico con el paciente. Capítulo I, Artículo 14. Ley 23 del 27 de febrero de 1981. Colombia: Congreso de Colombia.

que en algunas partes de África, la edad adulta se alcanza a los 13 años.

En Colombia se entiende por menor de edad a las personas menores de 18 años y se establecen dos grupos, teniendo en cuenta el rango de edad así: se entiende por niño o niña las personas entre los 0 y los 12 años y por adolescente las personas entre 12 y 18 años de edad; en el caso de los comunidades indígenas, la capacidad para el ejercicio de derechos, se regirá por sus propios sistemas normativos, siempre que estén en armonía con la constitución política¹³.

El Código Civil, Artículo 34, hace referencia a una división de los menores de 18 años, en infantes o niños (menores de 7 años), impúberes (7 a 12 años para las mujeres y 7 a 14 para los varones) y adultos menores (12 a 18 años para las mujeres y 14 a 18 para los varones), progresivamente la ley les reconoce mayor capacidad de autodeterminación a estos últimos y por lo tanto mayor autonomía en el ejercicio de derechos civiles.

En el caso de los menores de edad, la ley 23 del 27 de 1981, en el Artículo 14, señala que el médico no intervendrá quirúrgicamente a menores de edad, sin la previa autorización de sus padres, tutores o allegados, a menos que la urgencia del caso exija una intervención inmediata; para los profesionales de Bacteriología, el tema en particular se aborda en el Artículo 5° de la ley 1193 del 9 de mayo de 2008 "por la cual se modifica parcialmente la ley 841 del 7 de Octubre de 2003 y para este tema en particular en el literal b del artículo 24 del capítulo VIII de la ley 841 de 2003", afirma que "Cuando sea absolutamente necesario realizar una investigación con menores de edad y/o minusválidos mentales, siempre es necesario obtener el consentimiento voluntario informado del padre, la madre o tutor legal después de haberles explicado los fines de la investigación¹⁴.

En cuanto a la facultad de los padres de consentir intervenciones o tratamientos sobre sus hijos menores, la Corte Constitucional indica que no es absoluta, pues los menores pueden tomar decisiones sobre su salud de acuerdo con su nivel de desarrollo, como por ejemplo un menor adulto y en caso de emancipación del menor.

Para resolver las dificultades que puedan presentarse entre los principios de autonomía y el de beneficencia de los padres, se tienen tres criterios que pueden orientar la toma de decisiones en cada caso:

a) Urgencia e importancia del tratamiento para los intereses del menor.

b) La intensidad del impacto del tratamiento sobre la autonomía actual y futura del niño.

Para eso la Corte estableció la distinción entre intervenciones médicas ordinarias (que no afectan el curso cotidiano de la vida del paciente) e intervenciones extraordinarias donde es notorio el carácter invasivo y agobiante del tratamiento en el ámbito de la autonomía personal. Esto excluye obviamente una ponderación de los posibles efectos irreversibles de ciertas intervenciones médicas, por cuanto los tratamientos que tiene tal carácter predeterminan, en muchos aspectos, la vida futura del menor.

13. Congreso de Colombia (2006). Artículo 3°. Sujetos titulares de derechos. Capítulo I. Principios y definiciones. Ley 1098 del 8 de noviembre de 2006. "Código de la Infancia y la Adolescencia", Colombia: Congreso de Colombia

14. Congreso de Colombia (2008). Artículo 5° de la Ley No.1193 del 9 de mayo de 2008 "por la cual se modifica parcialmente la ley 841 del 7 de Octubre de 2003 y se dictan otras disposiciones. Colombia: Congreso de Colombia.

c) La edad del menor, ya que no se puede comparar la situación de un recién nacido con la de un adolescente que está a punto de llegar a la mayoría de edad¹⁵.

Finalmente, se debe considerar la ley 1098 de 2006 del Congreso de Colombia, por la cual se expide el código de la infancia y la adolescencia, que respecto al consentimiento informado indica “que se debe garantizar la actuación inmediata del personal médico y administrativo cuando un niño, niña o adolescente se encuentre hospitalizado o requiera tratamiento o intervención quirúrgica y existe peligro inminente para su vida; carezca de representante legal o éste se encuentre en situación que le impida dar su consentimiento de manera oportuna o no autorice por razones personales, culturales, de credo o sea negligente en atención al interés superior del niño, niña o adolescente o a la prevalencia de sus derechos¹⁶, primando así el derecho a la vida”.

1.3.2. Consentimiento informado en el laboratorio

En el laboratorio, al igual que en las otras disciplinas, también se deben tener en cuenta los principios éticos del consentimiento informado, que está fundamentado en la relación médico paciente, para lo cual el personal del laboratorio, está obligado a realizar un proceso personalizado con el paciente, brindándole información clara, suficiente, en términos que sean de su comprensión, verbal y escrita, que le permita participar en la toma de decisiones respecto al diagnóstico.

Para la mayoría de las pruebas de laboratorio podría plantearse que la información suministrada al paciente debe contener como mínimo los siguientes puntos:

Objetivo del análisis

Explicaciones de los posibles resultados y su significado

Molestias y riesgos derivados de su realización

Beneficios esperados

Garantías de confidencialidad de resultados

Otra información que pueda ser requerida, además de las recomendaciones para una obtención adecuada de la muestra.

Adicionalmente, se debe informar sobre el derecho de conocer sus resultados y el deber de recoger el resultado. Cuando un paciente adecuadamente informado acepta que se realice la obtención de la muestra u otro procedimiento del laboratorio, se entiende que ha dado el consentimiento informado.

En el caso de pacientes hospitalizados, se mantendrá un registro adecuado de la información, que debe formar parte de la documentación de la historia clínica. En el paciente ambulante, puede ser útil la información divulgativa como folletos u otros impresos.

Además de las pruebas habituales del laboratorio, que no requieren un consentimiento informado, sino información genérica adecuada y con la posibilidad de obtener información

15. Corte Constitucional. (1995). Consentimiento informado del paciente. Sentencia T-477-95. Colombia: Corte Constitucional.

16. Congreso de Colombia (2006). Artículo 46 literal 6. Obligaciones especiales del sistema de seguridad social en salud. Ley 1098 del 8 de noviembre de 2006. “Código de la Infancia y la Adolescencia”. Colombia.

adicional, existen pruebas o técnicas que requieren un consentimiento específico como las situaciones que se señalan a continuación:

Pruebas funcionales

Transfusiones: Donación, transfusión, autotransfusión.

Pruebas presuntiva y diagnóstica para infección por VIH

Estudios de salud realizados en el ámbito de la medicina del trabajo

Medición de sustancias ilegales o tóxicas como alcohol, drogas y otras, de las que puede derivarse una responsabilidad penal para el paciente (por ejemplo: alcoholemia)

Pruebas genéticas

Pruebas realizadas en investigación

Seroteca

Pruebas de paternidad

1.3.3 Consentimiento informado para VIH

Además de la legislación mencionada, hay una norma específica para el consentimiento informado por escrito para la realización de pruebas presuntiva y diagnóstica para infección por VIH, en donde una persona, luego de la consejería preprueba, autoriza que se le realice el examen diagnóstico de laboratorio para detectar la infección por VIH, cuyo resultado deberá consignarse en la historia clínica¹⁷.

Las consejerías pre y posprueba deben ser llevadas a cabo por personal entrenado y calificado para dar información, educación, apoyo psicosocial y para realizar actividades de asesoría a las personas con temor de estar infectadas con el VIH o de estar desarrollando el SIDA¹⁸.

1.3.4. Excepciones al consentimiento informado

En algunas circunstancias, los profesionales de la salud no están obligados a obtener el consentimiento informado del paciente, como se indica a continuación:

a) Atención de urgencias: para salvar la vida del paciente o para evitar daño grave, hasta superar la situación de urgencia; como ejemplo, se pueden citar las catástrofes, los accidentes y procesos agudos graves que puedan causar la muerte.

b) Pacientes con incapacidad para tomar decisiones, como es el caso de los menores de edad, las personas en estados de inconsciencia, personas con enfermedades psiquiátricas graves y que además no tengan familiares que los puedan representar en los términos establecidos por la ley.

c) En casos de peligro para la salud pública, el profesional de la salud tiene el deber de informar sobre las enfermedades que pongan en peligro la vida o la salud de otras personas, o de “notificación obligatoria”, aunque el paciente no consienta en ello; este caso también aplica, cuando la decisión del paciente de aceptar o no un procedimiento pueda afectar la vida o salud de un tercero o la comunidad y en este mismo sentido, se puede incluir la internación,

17. Ministerio de la Protección Social (2000). Anexo 3 Consentimiento informado. Guía de atención del VIH/SIDA. Resolución 00412 de 2000. Colombia. Ministerio de la Protección Social.

18. Op.cit

cuarentena, aislamiento social, hospitalización u otra medida de salud pública, aplicadas por la autoridad en salud, para prevenir, mitigar, controlar o eliminar la propagación de un evento que afecte o pueda afectar la salud de la población.

d)Exigencia legal o judicial, por orden de una autoridad competente para producir y obtener exclusivamente pruebas judiciales.

e)Renuncia del paciente a participar y ser informado dejando la decisión a los familiares o a los propios profesionales de la salud. Hay personas que por diferentes motivos no quieren o no desean que el profesional les dé información acerca de su enfermedad, evolución, tratamiento y cuidados, lo mismo sus familiares.

Cuando sea necesario aplicar el privilegio terapéutico, es decir, la retención temporal de información en aras de proteger el paciente; cuando la información que se le proporcione pueda ser negativa o contraproducente, el profesional de la salud puede omitir determinada información en beneficio del paciente¹⁹.

1.4. Recomendaciones generales

1.4.1. Obtención de especímenes y muestras

En este capítulo se hace énfasis en los aspectos que interfieren con la calidad de las muestras y no en las técnicas de extracción u obtención de ellas, que en algunos casos no son realizada por personal del laboratorio o enfermeras, sino por el médico o especialista quienes las obtienen, como es el caso de el líquido cefalorraquídeo, pleural, pericárdico, ascítico y sinovial, entre otros.

1.4.2. Suero

La muestra de elección para el diagnóstico serológico de las enfermedades infecciosas es el suero, que se obtiene al permitir la coagulación de la sangre total.

La coagulación normal y espontánea de la sangre ocurre entre 30 y 60 minutos a temperatura ambiente (22 a 25°C) y es más rápida cuando se obtiene en tubos de extracción que contienen un activador (5 - 15 minutos); puede ser más lenta en el caso de pacientes que reciben terapia con anticoagulantes (heparina, cumadín)²⁰.

Se debe permitir la coagulación completa de la sangre antes de la centrifugación; si no se hace de esta forma, la fibrina puede ocasionar interferencias en algunos instrumentos (lectura, aspiración o pipeteo de muestras), adicionalmente, se recomienda que el tubo este en posición vertical y bien tapado, para evitar la contaminación exógena y prevenir la evaporación o la posibilidad de producir derrames o aerosoles²¹.

Los tubos que se consiguen actualmente en el mercado prácticamente han eliminado la adhesión del coágulo a las paredes, sin embargo, en caso de presentarse, no se aconseja

19. Congreso de Colombia (1981) De la prescripción médica, la historia clínica, el secreto profesional y algunas conductas. Capítulo III, Ley 23 del 27 de febrero de 1981 Colombia. Congreso de Colombia.

20. Morán, Luis. (2001). Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Primera Edición. México: Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. Editorial Médica Panamericana.

21. Calam Roger, Besswman J, Ernst Dennis, Smith Susan, Szamosi Diane, Warunek David & Wiseman Joan. (2004) Procedures for the handling and processing of blood specimens. NCCLS document H18-A3 ; third edition. USA: NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087.

desprenderlo con aplicadores u otro dispositivo, ya que causa hemólisis; lo recomendable, es destapar con cuidado el tubo que contiene la muestra y volver a colocar el tapón, lo cual hace que se pierda el vacío y el coágulo se desprenda del tubo sin manipularlo u ocasionar daño sobre la muestra²².

Se debe verificar la vigencia de los tubos al vacío que se usarán para la obtención de las muestras, debido a que después de la fecha de caducidad pueden tener el vacío disminuido o presentar cambios en los aditivos²³.

El tiempo máximo permitido entre la obtención de la sangre y su separación para la obtención del suero es de 2 horas, a menos de haya una evidencia concluyente que indique que un mayor tiempo de contacto con las células no interfiere con los ensayos del laboratorio²⁴; lo ideal es emplear el menor tiempo posible para garantizar la estabilidad de las muestras.

Una vez que el suero ha sido removido o separado de las células rojas de la sangre, la muestra es estable a temperatura ambiente durante ocho horas y hasta 48 horas a 4°C. Después de 48 horas la muestra de suero debe ser congelada a -20°C²⁵ (Tabla 1).

Tabla 1. Condiciones de almacenamiento y conservación de las muestras durante el transporte	
Ambiente	20 a 25°C
Refrigeración	2 a 8 °C
Congelación	-20°C
Criopreservación	-80°C

1.4.3. Centrifugación

Siempre que se requiera centrifugar en el laboratorio se deben tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

a) Seleccionar la centrífuga adecuada: existe una amplia variedad de centrífugas, que según su diseño pueden alcanzar una mayor o menor velocidad; los tipos más usados en el laboratorio de salud pública, laboratorios clínicos y de investigación son la centrífuga de mesa, la ultracentrífuga, la centrífuga para microhematocrito (microcentrífuga) y la centrífuga de pie, (Tabla 2)

22. Op.cit

23. Op cit

24. Morán, Luis. (2001). Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Primera Edición. México: 25. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. Editorial Médica Panamericana.

25. NCCLS.

Tabla 2. Tipos de centrifugas mas usadas en el laboratorio ^{26 y 27}

Tipos de centrifugas	Velocidad	Uso
Microcentrifuga	11.000 a 15.000 rpm	Determina volumen de hematocrito
Ultracentrifuga	90.000 a 100.000 rpm	Biología molecular, bioquímica, separación, de quilomicrones en suero, fraccionar proteínas, entre otros
Centrifuga de cabeza horizontal	3.000 rpm	Separación de líquidos biológicos (sangre, orina), realización de pruebas, entre otros
Centrifuga de cubo pivotante oscilante	3.000 rpm	Separación de suero en tubos con gel de separación
Centrifuga de ángulo fijo	3000 a 7000 rpm	Separación de líquidos biológicos, (sangre, orina), realización de pruebas, entre otros

b) Utilizar el tiempo y la fuerza centrífuga relativa (FCR) adecuada al tipo de muestra o procedimiento: la velocidad de una centrifuga se expresa en revoluciones por minuto (RPM) y la fuerza centrífuga relativa (FCR) en gravedades.

Es importante revisar las recomendaciones de centrifugación en las muestras o procedimientos de laboratorio debido a que éstas pueden estar expresadas en rpm (velocidad) o gravedades (fuerza centrífuga relativa); ambas unidades pueden ser comparables si se aplica la siguiente fórmula:

Fórmula de conversión de rpm a fuerza centrífuga relativa (FCR)	
FCR=	$0,00001118 \times r \times N^2$
FCR=	Fuerza centrífuga relativa (gravedades)
r=	Radio de rotación (centímetros)
N=	Velocidad de rotación (rpm)

Otra manera de calcular la FCR a partir de la velocidad (rpm) o viceversa, es haciendo uso del nomograma del Comité Internacional Electrotécnico ²⁸, leyendo los puntos de intersección de la línea trazada entre las diferentes escalas, como se indica en el siguiente ejemplo: El radio de la centrifuga es 10 cm y la muestra debe ser centrifugada a 1.000 g, ¿qué rpm debo aplicar para obtener la FCR solicitada para la muestra?.

En este ejemplo, se ubica una regla sobre el nomograma y se une el punto que corresponde al radio de la centrifuga, en la escala de centímetros (10 cm), con el punto correspondiente a la

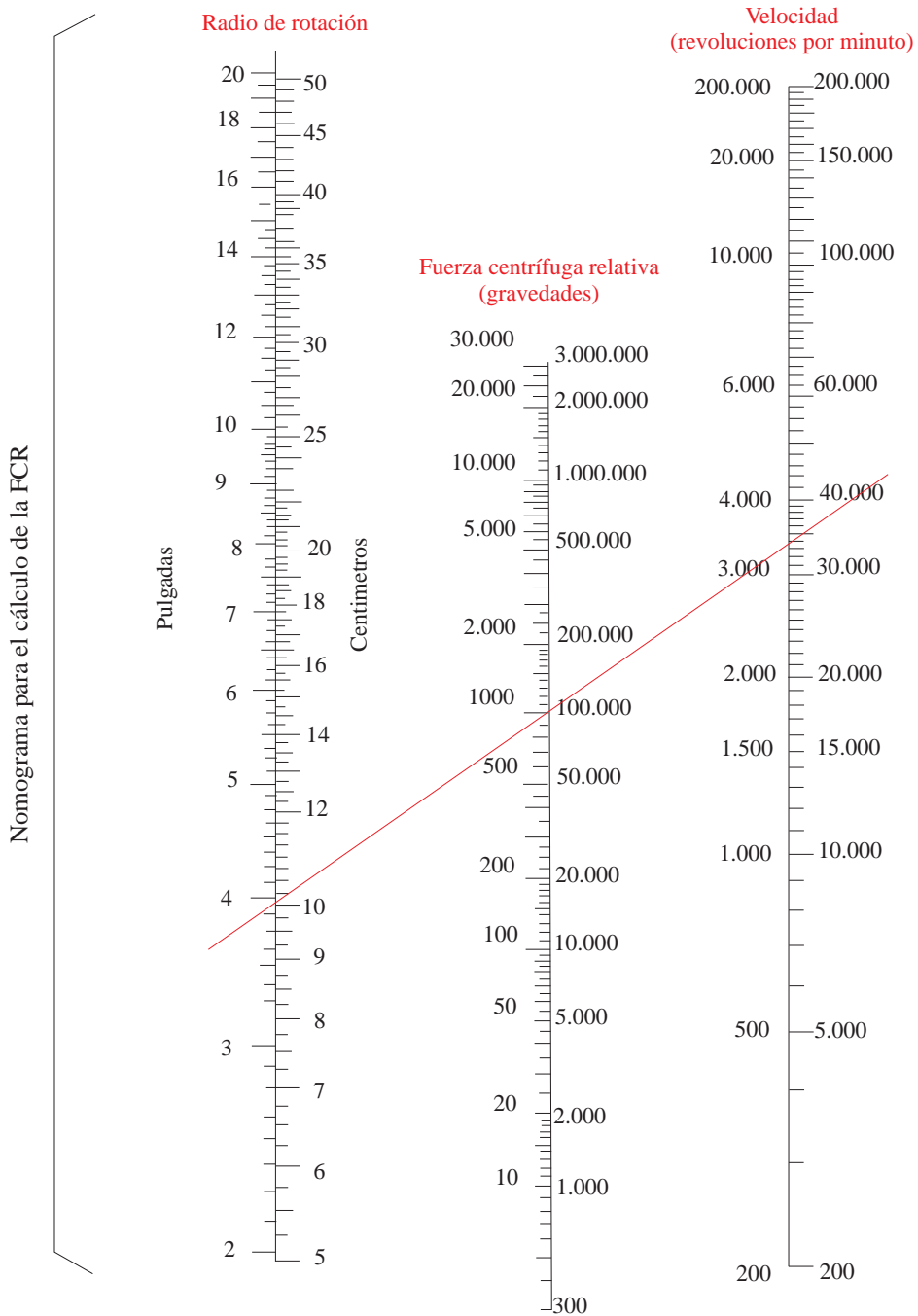
26. Organización Mundial de la Salud. 2008. Manual de Mantenimiento para Equipos de Laboratorio. Segunda edición. Washington, D.C, USA: Organización Mundial de la Salud.

27. Morán, Luis. (2001). Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Primera Edición. México: Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. Editorial Médica Panamericana.

28. Op.cit.

FCR (1.000 gravedades) y se lee el punto de intersección en la escala de rpm: 3.000 rpm, como se indica en el gráfico 1.

Nota: El radio de la centrífuga se obtiene del manual del equipo o puede ser medido directamente en la centrífuga.



1.4.4. Recomendaciones a la hora de centrifugar

- Use los elementos de protección personal indicados para el trabajo con este dispositivo (careta o monogafas, tapabocas, guantes y bata).
- Cargar o descargar el rotor dentro de una cabina de seguridad biológica, si se trabaja con microorganismos clasificados como bioriesgo de nivel II o superior²⁹.
- Usar tubos que toleren bajas temperaturas en caso de usar centrifugas refrigeradas, con el fin de evitar que éstos se rompan o fracturen.
- Centrifugar con los tubos tapados.
- Verificar el llenado de los tubos y usar tubos pareados para balancear la carga del rotor y así evitar vibraciones y accidentes derivados de la vibración.
- No volver a centrifugar después de la centrifugación inicial.
- Evitar el uso del freno de la centrifuga, ya que ocasiona que las células se vuelvan a mezclar con el suero o plasma.
- En caso de ruptura de tubos en la centrifuga, utilizar material adecuado para recoger los elementos cortopunzantes, que se deben eliminar en un recipiente rígido, luego se desinfecta con la solución indicada por el fabricante (no se recomienda el uso de hipoclorito, ya que causa corrosión de las partes metálicas del instrumento) y finalmente se lava el porta tubo con un detergente suave, diluido en una proporción 1:10 en agua, con un cepillo de textura suave, no metálico³⁰.
- Centrifugar a las rpm o gravedades indicadas para cada muestra o procedimiento, ver ejemplos en la tabla 3

Tabla 3. Ejemplos de tiempos e indicaciones para centrifugación	
Suero	10 minutos a 1.500 g
Espudo concentrado (para cultivo de micobacterias)	30 minutos a 3.500 g
Orina (para cultivo de micobacterias)	30 minutos a 3.500 g
Plasma (sangre con citrato, EDTA o heparina)	15 minutos 2.000 a 3000 g

1.4.5. Anticoagulantes

Son aditivos que se eligen por sus propiedades para asegurar que la cantidad a medir cambie lo menos posible antes del proceso analítico, al inhibir la coagulación sanguínea. La anticoagulación sanguínea se consigue mediante la unión de iones de calcio, como el caso del EDTA y citrato o mediante la actividad antitrombina de la heparina o la hirudina³¹.

29. Organización Mundial de la Salud. 2008. Manual de Mantenimiento para Equipos de Laboratorio. Segunda edición. Washington, D.C, USA: Organización Mundial de la Salud.

30. Op.cit.

31. Morán, Luis. (2001). Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Primera Edición. México: Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. Editorial Médica Panamericana

1.4.6. Tubos de extracción

Se prefiere el uso de tubos al vacío, por razones de seguridad para el personal, con el fin evitar la exposición accidental por inoculación, además de evitar la hemólisis y llenado incorrecto del tubo.

Debido a la variedad de presentaciones de tubos al vacío para la recolección de las muestras, en función de la presencia o no de aditivos y del análisis que se va a realizar, se ha establecido un código de colores regulado por la norma ISO 6710 para facilitar su identificación, ver en la tabla 4 ³².

Tabla 4. Presentación de tubos a vacío, aditivos y uso ^{33 y 34}		
Color del tapón	Aditivo y uso	Usos
Rojo	Sin anticoagulante	Para obtención de suero en técnicas inmunológicas como por ejemplo fijación de complemento, aglutinación, hemaglutinación, ELISAS o inmunoblots, entre otros. Bioquímica, Banco de sangre (Rh D, rastreo de Ac)
Lila o violeta	Con anticoagulante EDTA, EDTA (Na ₂) liofilizado, EDTA (k ₃) líquido	Hematología, identificación de hemoparasitos
Azul	Con anticoagulante citrato de sodio	Hematología
Verde	Con anticoagulante heparina sódica	Determinación de colinesterasa, cloruros, pH, trazas de metal
Verde/gris	Con anticoagulante litio y gel separador de plasma	Determinación de colinesterasa, cloruros
Rojo gris	Sin anticoagulante, con gel separador de suero	
Amarillo	Con ácido cítrico dextrosa	Inmunoematología, Genética (cariotipo), estudios de histocompatibilidad

32. Kaplan, Lawrence, Pesce Amadeo. (2001). Química Clínica Teoría, Análisis y Correlación. Tercera edición. USA. Pesce Kaplan Publishers Inc.

33. Op.cit

34. Magee, Leslie. (2005). Lab Notes. Preanalytical Variables in the Chemistry Laboratory Volume 15, No. 1 2005 www.bd.com/vacutainer/labnotes



2.1. Artrópodos vectores de enfermedades

Entre los artrópodos se encuentra un grupo grande y diverso de insectos asociados incriminados en la transmisión de enfermedades tropicales como leishmaniasis, dengue, fiebre amarilla, malaria, encefalitis equina venezolana y otros vectores como pitos y garrapatas respectivamente con la enfermedad de Chagas y rickettsiosis. Para enviar este material biológico al Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud se debe definir el estadio que se va a muestrear en formas inmaduras (huevos, larvas, ninfas, pupas) o formas adultas de los insectos o artrópodos.

2.2. Flebótomos

2.2.1. Métodos de recolección de flebótomos en el campo

Aspiración directa

Consiste en succionar aire sobre la superficie donde están reposando los flebótomos. Estos se pueden succionar con aspirador manual o eléctrico. Con la aspiración directa se pueden recolectar flebótomos en el intradomicilio en paredes y rincones de la vivienda, en el peridomicilio sobre cebo animal como vacas, cerdos, gallinas, equinos o paredes de cobertizos de estos animales, solares y en el extradomicilio en sitios de reposo, troncos y raíces tablares de árboles, rocas y cuevas de animales. Para realizar la aspiración directa se utiliza el aspirador manual o aspirador mecánico. Las trampas de luz como atrayente son las trampas CDC y la trampa Shannon. Existen trampas con atrayentes animales como la trampa Disney y la trampa de cono y trampas sin atrayentes como las trampas pegantes 25x25cm, la trampa Malaise y la trampa Damasceno.

Selección y empaque de flebótomos

Los flebótomos recolectados en el campo se deben empaquetar lo más pronto posible para evitar que se dañen. Para esto es necesario inmovilizarlos si permanecen vivos, utilizando químicos, frío o humo. Los químicos más usados son cloroformo, éter y trietilamina. Los recipientes (vasos, frascos y demás recolectores) utilizados para recolectar los flebótomos se introducen en una bolsa plástica gruesa que contiene un pedazo de algodón de 2 cm de diámetro previamente humedecido con unas pocas gotas de (1 a 2 ml) de la sustancia escogida.

Los recipientes se dejan de 10 a 20 minutos dependiendo de la cantidad de insectos recolectados. Para la selección y separación del material entomológico se transfiere cada recipiente a una bandeja con fondo blanco. Con ayuda de un pincel se separaran los insectos y con el par de pinzas de punta fina se toman los flebótomos de las alas para ser depositados en viales (frascos pequeños) de plástico o de vidrio en los que previamente se ha colocado alcohol al 70 %. Se recomienda empaquetar hasta 100 flebótomos por vial. Cada vial debe tener registrada la información en una etiqueta elaborada con papel bond blanco en el cual se registran los datos que se introduce en el vial con los insectos.

El tamaño del papel debe estar acorde con el tamaño del vial para que la información se pueda leer desde afuera. Los datos se deben escribir con lápiz negro o portaminas para evitar que se borren con el alcohol. Un código en letra mayúscula: las dos primeras letras con código corresponden al departamento, las dos siguientes al municipio y las siguientes a la vereda o barrio. A continuación de las letras se colocan los números que corresponden al consecutivo del muestreo.

Ejemplo: CUGILE-014 (Cundinamarca, Girardot, La estación, 014), método de muestreo utilizado (trampa CDC, Shannon, reposo, cebo animal), sitio de la recolección intradomicilio, peridomicilio, extradomicilio, horas de recolección, fecha de recolección, apellido e inicial del nombre del recolector, número de flebotomos.

2.2.2. Transporte de flebotomos

Luego de introducir el rótulo en el vial con los flebotomos, los viales se deben cubrir con papel parafinado (la tapa y la parte superior del vial), para evitar que el alcohol se riegue. Los viales se deben organizar en cajas con divisiones (colmenas) ubicándolos verticalmente para su traslado al laboratorio.

2.2.3. Envío de material de flebotomos para intento de aislamiento de parásitos del género Leishmania

La remisión de los insectos capturados vivos, se soplan con un aspirador de boca a una caja de Petri en la cual se ha depositado previamente la solución detergente al 2% en agua. Procurar no depositar muchos insectos a la vez. Los insectos embebidos por unos segundos en el detergente son transferidos cuidadosamente con pinzas entomológicas a los viales plásticos especiales, que soportan bajas temperaturas (Nunc) y que se han rotulado y llenado con la solución protectora de dimetil sulfoxido (DMSO) al 10 %.

Deposite aproximadamente 30 ejemplares por cada vial. Introducir en el termo con nitrógeno líquido los viales plásticos tapados, en el tubo protector cubierto. Colgar el tubo protector en la parte superior de la bombona y bajarlo lentamente por espacio de varios minutos de manera que cuando el tubo llegue al líquido hayan transcurrido aproximadamente 30 minutos (enfriamiento lento). El tubo protector se saca de la bombona y rápidamente se pasan los viales congelados al soporte metálico (escalera del termo) y se introduce en el nitrógeno líquido.

2.2.4. Envío de material vivo

Los flebotomos vivos con destino al laboratorio pueden ser enviados en jaulas pequeñas (hechas con soporte metálico con paredes de tela muselina); sobre el techo de la jaula se coloca algodón embebido en agua (teniendo la precaución de que no escurra), para proporcionarles humedad y agua. Las jaulas se colocan dentro de una nevera de icopor, la cual se sella y se abre

sólo al llegar al laboratorio. Si el lugar donde se van a transportar los insectos está a varias horas se puede colocar la jaula dentro de una bolsa plástica y de esta forma en la nevera de icopor. El material debe ir relacionado con todos los datos del lugar de captura.

2.3. Mosquitos de las tribus: *Cullicini*, *Anophellini*, *Sabethini*

2.3.1. Búsqueda y recolección de formas inmaduras

La búsqueda y recolección de formas inmaduras de mosquitos de las tribus *Cullicini*, *Anophellini*, *Sabethini* se realizan mediante la inspección y caracterización de criaderos.

Para la búsqueda de formas inmaduras se requiere de un cucharón blanco esmaltado o plástico con mango largo y una capacidad entre 100- 200 ml. Con este se toman muestras de agua donde se recolectan las larvas. El entomólogo inspeccionará hacia los bordes del criadero efectuando por lo menos 10 cucharonadas por metro cuadrado. Utilizando un gotero plástico de 4 mm de diámetro y con capacidad de 2-3 ml, selecciona cuidadosamente el material entomológico. Larvas de primero a tercer estadio se colocan con agua del mismo criadero en tubos de ensayo de 16x5, procurando no hacinarlas, mientras que larvas de cuarto estadio y pupas se disponen individualmente, siguiendo el mismo proceso.

Todos los tubos deben rotularse con el número del criadero y fecha, transportarse en gradilla debidamente tapados con tapones de corcho y dentro de nevera de icopor. Debe evitarse tapar los tubos con algodón por que las formas inmaduras quedan atrapadas en este y mueren.

A cada criadero se le asigna un número único, permanente y secuencial independientemente del tipo y características del mismo. Paralelamente a la inspección, se realiza un croquis a mano alzada donde se ubican los criaderos con respecto a la casa a la que correspondan, a puntos de referencia específicos para cada región y a los puntos cardinales correspondientes. Aunque un criadero identificado, sea temporal o posteriormente controlado (relleno, drenaje, etc.), el numero asignado es único y no podrá ser utilizado para identificar un nuevo criadero.

Las mediciones de temperatura y pH del agua deben efectuarse a diferentes puntos del criadero con o sin vegetación, tanto en áreas totalmente sombreadas como expuestas al sol, con el propósito de tener una aproximación más adecuada de estas características. Deben recolectarse formas inmaduras de diferentes sitios de criaderos, procurando tomar por lo menos una muestra cucharonada que contenga larvas de anofelinos. Es importante también recolectar larvas de otros culícidos con el propósito de definir la fauna asociada con los mosquitos de las tribus *Cullicini*, *Anophellini*, *Sabethini*.

2.3.2. Empaque y transporte de material entomológico de campo

Una vez finalizada la inspección de criaderos en la zona, las gradillas con los tubos que contiene el material entomológico deben ser colocadas en nevera de icopor, asegurándose que cada uno esté debidamente tapado con corcho y manteniendo siempre la posición vertical.

Adicionalmente, debe colocarse agua de los criaderos para mantener las formas inmaduras en condiciones de laboratorio. La nevera de icopor debe ser transportada, nunca como equipaje de vehículo

2.3.3. *Envío de formas o estadios inmaduros (larvas y pupas)*

Los materiales a utilizar son: agujas de disección finas, viales plásticos, tubos de vidrio o plástico, cámpulas (de las que se utilizan con anestésico de odontología), alcohol etílico al 70%, goteros, algodón, pinzas fuertes, tijeras, papel para rótulos, lápiz, cucharón esmaltado, bandejas plásticas o esmaltadas.

Para la remisión se utiliza un doble sistema de empaque: el primer sistema consiste en matar las larvas en agua caliente (aproximadamente a 60°C) y luego, muy cuidadosamente con una aguja se las transfiere a cámpulas (tubos de vidrio o plástico de los utilizados para envasar anestesia en odontología), con alcohol al 70%. Este sistema se debe utilizar siempre que se vaya a realizar montaje permanente del espécimen, puesto que se evita encogimiento y distorsión de la larva, como también el oscurecimiento de la misma.

En el segundo sistema, se colocan los ejemplares directamente en alcohol al 70% de la siguiente manera: se llena una cámpula hasta el tope con alcohol al 70%; con un gotero se extraen las larvas del recipiente (cucharón, bandeja, etc.) y se colocan en la mano izquierda eliminándose el exceso de agua, de tal manera que sólo queden las larvas sobre la palma de la mano.

Seguidamente se toma la cámpula con la mano derecha y con movimientos casi simultáneos de las dos manos se van introduciendo las larvas en las cámpulas. En un trozo de papel pequeño se rotula usando lápiz con los datos de localidad, fecha, colector, tipo de depósito, dirección, barrio, etc., y se introduce dentro de la cámpula. Luego se coloca el tapón de caucho de la cámpula y como se dificulta para que selle por el contenido de alcohol, se introduce lateralmente una aguja que permite la salida del exceso de alcohol para quedar completamente sellado el tubo y sin burbujas. Aparte se llena una hoja con los datos de registro que incluyen: localidad, fecha de recolección, número de formas inmaduras y tipo de criadero.

En el lado de localidad se debe indicar el nombre de la finca o predio con su dirección, vereda, corregimiento o inspección, municipio y departamento, nombre del recolector e institución a la cual pertenece.

2.3.4. *Recolección de formas adultas*

Dependiendo de los objetivos del estudio pueden ser capturados con los siguientes métodos: captura con cebo animal, búsqueda en abrigo animal, búsqueda en reposo y mediante el uso trampas de Luz.

2.3.5. Empaque y transporte de material entomológico de campo

Finalizada la captura de mosquitos, los vasos colectores debidamente rotulados se colocan dentro de una nevera de icopor, cerciorándose de que cada uno lleve en su parte superior un trozo de algodón empapado en solución azucarada y procurando mantenerlo en posición vertical. Puede incluirse un paño de gaza humedecida con agua para mantener al interior de la nevera la humedad relativa constante. La nevera de icopor debe ser transportada manualmente, nunca como equipaje de vehículo. Una vez en el laboratorio los mosquitos deben ser individualizados protegiéndolos del alcance de los depredadores.

2.3.6. Envío de mosquitos adultos

Materiales: cloroformo o éter, pinzas entomológicas finas, cajitas plásticas o metálicas, algodón, papel toalla o facial, rótulos, esparadrapo, aspirador de boca, mariposero, jaulas Gerberg (metálicas), viales plásticos, azúcar, gasa, vasos de icopor, corchos, tela de tul, métodos de captura, cebo animal (trampa Magoon, trampa Mitchell), reposo, abrigo animal, trampa de luz (CDC, Shannon).

Remisión: una vez recolectados los mosquitos adultos, se matan con vapores de cloroformo, éter o en frío. Los ejemplares muertos se colocan, utilizando una pinza entomológica fina, en cajitas plásticas pequeñas, metálicas o de cartón, que deberán ser preparadas de la siguiente manera: en el fondo (si existen las facilidades) se coloca naftalina pulverizada o una capa de naftalina derretida; sobre ésta se coloca un pedazo de algodón no muy ancho y sobre éste un rodete de papel toalla o papel facial de seda. Seguidamente se colocan los mosquitos, 6 a 10 ejemplares, procurando que no se maltraten, no se le caigan patas, alas, y que no se presente mucha descamación, cubriéndolos con un nuevo rodete de papel (toalla o facial) sobre el cual se coloca otra capa de algodón y por último, la tapa de la caja, que debe quedar bien cerrada.

Para una mayor seguridad, a los bordes de la tapa se les puede colocar esparadrapo para un mejor sellamiento de la misma. Cada caja debe ir debidamente rotulada con los datos de recolección, fecha, departamento, municipio, localidad, nombre del recolector, número de recolección, hora y lugar de la captura, etc. Se puede utilizar una hoja adicional de registro para completar la información, la cual debe incluir datos, tales como: temperatura, humedad, pluviosidad y coordenadas del lugar de recolección.

2.3.7. Envío de adultos para intento de aislamiento de virus

Se debe contar con el siguiente material: cloroformo o éter, viales plásticos o de vidrio resistentes al frío, nitrógeno líquido o hielo seco y pinzas finas entomológicas. Para la remisión, los mosquitos capturados son anestesiados usando frío (en nevera o hielo seco), e inmediatamente introducidos en viales resistentes al frío y debidamente rotulados. Los viales se colocan en hielo seco o nitrógeno líquido y se transportan al laboratorio de entomología en donde se conservan en un congelador a bajas temperaturas (-20 a -70°C o nitrógeno líquido).

El número de insectos que se colocan en cada tubo varía de acuerdo con el tamaño de los mosquitos y la capacidad del tubo, pero en todo caso es muy importante que no queden hacinados dentro del recipiente, pues podrían perder estructuras que hagan difícil o imposible su identificación. Es vital que los mosquitos, para intento de aislamiento de virus, permanezcan siempre a bajas temperaturas. El material enviado debe venir con todos los datos correspondientes a la captura.

2.3.8. Envío de material vivo

Formas Inmaduras

Para su envío, el material vivo al laboratorio se puede empacar en tubos de ensayo de 10 a 15 cm de longitud de boca angosta (1 a 1 ½ cm), con un máximo de 5 larvas y con agua preferiblemente del criadero. En los tubos en los cuales se empacan pupas (máximo 3), se colocará en la boca de los mismos un pedazo de algodón para evitar el escape de adultos cuando emerjan. Para su transporte se colocarán los tubos en gradillas, teniendo cuidado que queden fijos es decir sin movimiento puesto que las larvas se maltratan; debe evitarse que sobre el material transportado caigan directamente los rayos del sol y en lo posible el colector debe llevar en sus manos la gradilla para evitar mortalidad del material. Debe incluirse hoja de registro con datos sobre caracterización de criaderos.

Formas adultas

Los adultos pueden ser enviados vivos al laboratorio en una jaula metálica, colocada dentro de una nevera de icopor; es importante proporcionar agua y humedad a los insectos, mediante una pequeña toalla hecha de algodón envuelto en gasa humedecida, que se coloca sobre la superficie de la jaula. Cuando se empacan los ejemplares para su envío, la nevera de icopor se debe sellar herméticamente y sólo se abrirá en el lugar de su destino. El material remitido debe tener su hoja de registro con todos los datos sobre la captura, fecha, lugar, método, etc.

2.4. Triatominos

2.4.1. Recolección en campo

Una recomendación fundamental para la manipulación de triatominos: es indispensable utilizar pinzas y guantes para evitar una probable infección con trypanosomas. Los insectos recolectados con trampas Noireau, trampa Angulo o en reposo deben tratar de conservarse vivos. Si fueron recolectados con trampa se deberán despegar con cuidado de la cinta evitando se pierdan partes o se mueran. El recolector debe recolectar los triatominos con pinzas y guantes y deben ser empacados en frascos para transporte de triatominos. Se pueden utilizar frascos plásticos de boca ancha, en cuyo interior deben llevar suficiente papel doblado en forma de acordeón que llegue hasta la parte superior del frasco y al cual previamente se le han hecho algunos orificios para que los insectos puedan circular dentro del recipiente y adherirse

fácilmente a la superficie. Luego el frasco se cierra con una tela, o muselina que se sujeta con una banda de caucho. Se debe utilizar un recipiente diferente por vivienda y sitio de captura o trampa, anotando en el rótulo toda la información sobre la procedencia y condiciones de la captura.

2.4.2. Selección de ninfas y adultos

Los materiales requeridos para este procedimiento son frascos de plástico o tarugos de guadua o bambú para transporte de triatominos, trampas para recolección de triatominos (Shannon, Noireau, Angulo, etc.) y cebo atrayente, papel bond, bandas de caucho, pinzas entomológicas, tijeras, algodón, red de tul entomológica, cajas de Petri para empaque de formas adultas, lámparas, comida, lápiz y cinta adhesiva.

Para la remisión: en caso de mantenerlos vivos en el campo, se preservarán en número no mayor de 10 triatominos en frascos medianos de vidrio o tarugos de guadua o bambú, los cuales tienen un pedazo de papel dispuesto en forma de acordeón (abanico) en su interior y se tapan con tela sujeta con una banda de caucho. Si se decide matarlos en el campo, se utilizarán vapores de cloroformo; una vez muertos, se preservarán en cajas pequeñas, plásticas o de cartón previamente preparadas. Todas las cajas o frascos deben venir debidamente rotulados. Se puede utilizar una hoja adicional con todos los datos de captura. Cada recipiente debe estar marcado con el respectivo rótulo con la información: lugar de captura: departamento, municipio y vereda o localidad, tipo de colecta: captura directa en reposo o trampa (Angulo, Noireau, Shannon u otro), sitio: intra, peri o extradomicilio (fuera del área donde la familia realiza las actividades), fecha de recolección, nombre de la persona que realizó la captura y cargo.

Ejemplo 1

Departamento: Santander
Municipio: Girón
Vereda: Pajares
Vivienda de Orlando Medina
Intradomicilio
Fecha: 10/07/2010
Recolector: Tania Tibaduiza

Ejemplo 2

Departamento: Santander
Municipio: Girón
Vereda: Pajares
Trampa Angulo
Entradomicilio: N 70°04'11,5";
W 73°09'20,1"
783 msnm
Fecha: 10/07/2010
Recolector: Tania Tibaduiza

En la libreta de campo se debe llevar registro de los frascos con ejemplares recolectados. Para el envío es necesario diligenciar y enviar con la muestra el Formato de Remisión de Muestras Enviadas por Unidades de Entomología Departamentales al Laboratorio de Entomología.

El transporte debe ser el adecuado para tratar de asegurar que los insectos lleguen vivos hasta el laboratorio de entomología. Los frascos con triatominos vivos se transportan en neveras de icopor que lleven un trozo de gasa o papel húmedo en el fondo y un tipo de material que evite el contacto directo entre los recipientes (cartón, láminas de icopor, papel higiénico, gasa, etc.) para evitar que se golpeen en el transporte.

En caso de que los insectos se recojan muertos deben transportarse en seco utilizando cajas entomológicas o cajas para muestra de materia fecal, teniendo en cuenta no colocar muchos insectos por caja para evitar que se estropeen unos especímenes con otros y pierdan estructuras. Posteriormente el material se traslada hasta el laboratorio de Entomología de la Secretaría Departamental de Salud y de ahí al Instituto Nacional de Salud para la identificación taxonómica y diagnóstico parasitológico de *Trypanosoma cruzi*.

2.4.3. Envío de adultos vivos para intento de aislamiento de parásitos del género *Trypanosoma*

Los pitos (ninfas o adultos) pueden ser enviados vivos en vasos de plástico o vasos de icopor, sin humedad, cuya boca debe ser cubierta por un trozo de gasa doble (o con un trozo de media de nylon de mujer), amarrado con dos bandas de caucho. Dentro del frasco debe colocarse una hoja de papel doblada en forma de abanico (acordeón), para que el insecto pueda asirse y en caso dado ovopositar.

2.5. Garrapatas

2.5.1. Recolección de garrapatas en el campo

Los materiales para realizar la recolección son: overoles de color claro con manga larga, frascos plásticos herméticos, alcohol al 70%, pinzas de punta fina, bayetillas blancas, cinta adhesiva de doble faz, hielo seco, tela blanca de 1m x 1m con pliegue en un extremo, palo, cuerda. Existen varias técnicas de recolección de garrapatas, uno de ellos es el examen de los hospederos naturales y la recolección directa de los ectoparásitos.

Otros métodos incluyen aquellos de búsqueda activa de las garrapatas de vida libre en su ambiente natural, el método de arrastre y la colocación de trampas de atracción de estos vectores. Cada uno de ellos tiene una eficiencia diferente para cada uno de los estadios, y debe ser usado con base al interés de la recolección en cada caso, de la siguiente manera: recolección directa sobre hospederos, método de arrastre y uso de trampa de Co₂. Se debe evitar estresar a la garrapata con exceso de manipulación o aplastamiento. En ningún caso se recomienda matar a la garrapata mientras se encuentre adherida a la piel humana (mediante uso de petróleo, aceite o calor), porque esto favorece la transmisión de los gérmenes que porte.

2.5.2. Procedimiento para recolección directa sobre hospederos

- a) Identifique los posibles hospederos en el área de interés.
- b) Inmovilice al animal, para evitar accidentes de mordeduras o patadas.
- c) Examine en búsqueda de evidencia de infestación por garrapatas. Preste especial atención al área interior de las orejas, entrepierna, punta de la cola y entre los dedos.
- d) Una vez ubicada la garrapata, deslice el dedo por la parte inferior de la garrapata y colóquela de manera perpendicular a la piel del hospedero.
- e) Tome de la base y hale de manera regular hasta desprender la garrapata. Es importante que la garrapata salga con las porciones bucales intactas, ya que son indispensables en el proceso de la identificación taxonómica.
- f) Una vez desprendida coloque a la garrapata en un frasco plástico adecuado para su transporte. El frasco puede estar seco o con alcohol al 70% dependiendo del propósito de la recolección (lea el protocolo de mantenimiento y transporte de garrapatas hacia el laboratorio).
- g) Coloque los frascos en un envase apropiado para su transporte.
- h) Examine su ropa en búsqueda de garrapatas adheridas a la superficie.
- i) Lávese las manos.

2.5.3. Procedimiento para el método de arrastre

- a) Arme el dispositivo deslizando el palo dentro del pliegue de la tela (a manera de cortina), y asegure la cuerda en los extremos del palo, como muestra la figura:
- b) Desplácese sobre el terreno donde se desea capturar las garrapatas arrastrando el dispositivo detrás de él.
- c) Cada 20-30 m examine la cara inferior de la tela en búsqueda de garrapatas adherida a la superficie.
- d) Coloque las garrapatas en un frasco plástico adecuado para su transporte. El frasco puede estar seco o con alcohol al 70%, dependiendo del propósito de la recolección (lea el protocolo de mantenimiento y transporte de garrapatas hacia el laboratorio).
- e) Coloque los frascos en un envase apropiado para su transporte.
- f) Examine su ropa en búsqueda de garrapatas adheridas a la superficie.
- g) Lávese las manos.

2.5.4. Procedimiento para el uso de trampa de CO₂

- a) Coloque la cinta adhesiva de doble faz en los extremos de las bayetillas, dejando sin descubrir la cara superior de la cinta.
- b) Ubique la trampa en un lugar cercano a donde descansan los animales (debajo de árboles, a la orilla de los ríos o fuentes de agua).
- c) Coloque un trozo de hielo seco (alrededor de media libra) en el centro de la trampa. Retírese.
- d) Regrese después de 1h a revisar las trampas. Las garrapatas atraídas por el CO₂ deben estar adheridas a la cinta adhesiva, sobre la tela, alrededor de la trampa o debajo de esta.

e) Regrese nuevamente cada hora hasta que el hielo seco se haya evaporado por completo.

f) Coloque las garrapatas en un frasco plástico adecuado para su transporte. El frasco puede estar seco o con alcohol al 70%, dependiendo del propósito de la recolección (lea el protocolo de mantenimiento y transporte de garrapatas hacia el laboratorio).

g) Coloque los frascos en un envase apropiado para su transporte.

h) Examine su ropa en búsqueda de garrapatas adheridas a la superficie.

i) Lávese las manos.

2.5.5. Envío de material de garrapatas al laboratorio

Los materiales que se deben utilizar son: frascos plásticos herméticos, papel toalla, nevera de icopor, clavo y alcohol al 70%.

El transporte adecuado de las muestras hacia el laboratorio asegura la supervivencia de las garrapatas y el éxito de los resultados en el procesamiento posterior. El método de transporte de las garrapatas depende del propósito y del lugar de la recolección. Si se desea material para el aislamiento de las rickettsias, entonces se debe tratar de mantener a las garrapatas vivas hasta su llegada al laboratorio, donde serán procesadas.

Si el objetivo de la recolección es la detección de ADN rickettsial mediante PCR, entonces las garrapatas recolectadas pueden ser almacenadas y transportadas en frascos con alcohol al 70%. Las condiciones adecuadas de transporte de garrapatas vivas dependen de los requerimientos vitales de las garrapatas, tales como temperatura, humedad relativa, posición y oxigenación.

2.5.6. Envío de garrapatas en alcohol

a) Deposite las garrapatas en frascos plásticos herméticos que contengan alcohol al 70%.

b) Transporte el frasco debidamente rotulado, evitando que se derrame el alcohol.

2.5.7. Envío de garrapatas vivas

a) Deposite Las garrapatas en frascos plásticos herméticos a los cuales se les ha colocado en su interior un trozo de papel doblado en forma de acordeón (esto favorece el posicionamiento de las garrapatas e impide que se asfixien).

b) Coloque las tapas del frasco en posición, cuidando de perforar agujeros de aireación con el clavo, y colocando un trozo de papel toalla entre el frasco y la tapa. El propósito del papel toalla es permitir el intercambio gaseoso, evitar el escape de las garrapatas por los orificios de la tapa, y atraer humedad del ambiente para mantener un nivel óptimo dentro del frasco.

c) Coloque un poco de papel toalla humedecido en el fondo de una nevera de icopor. Acomodar los frascos dentro de la nevera, cuidando que los orificios queden libres de obstrucciones. Cerrar la nevera para mantener la humedad.

- d) Mantenga la nevera en la sombra para evitar el sobrecalentamiento.
- e) Lleve las muestras lo más pronto posible al laboratorio.

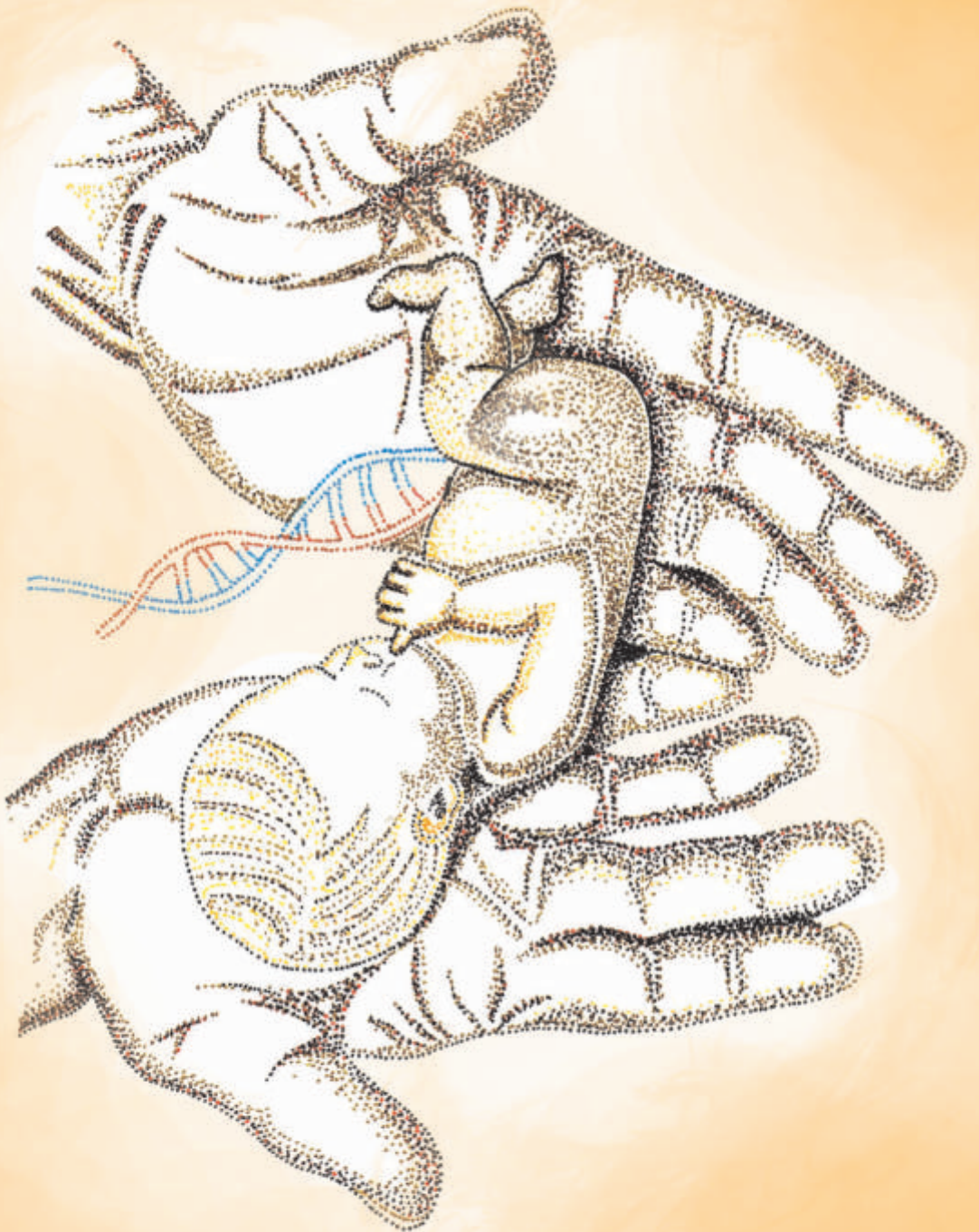
2.5.8. Control de calidad

Si son recolectadas y transportadas en las condiciones descritas, un mínimo de 80% de las garrapatas deben permanecer vivas hasta su llegada al laboratorio.

2.5.9. Extracción de hemolinfa a partir de garrapatas vivas

La obtención de la hemolinfa a partir de garrapatas vivas permite realizar pruebas preliminares de detección de rickettsias antes del procesamiento final de las muestras, ahorrando recursos. Los materiales que se usan son: alcohol al 70%, pinzas de punta fina, tijeras de punta fina, cajas de Petri, papel absorbente, láminas portaobjeto limpias y lápiz con punta de diamante. El procedimiento a seguir es el siguiente:

- a) Marque las láminas portaobjeto con la información necesaria para la identificación. Utilizando el lápiz de diamante, trace los círculos donde irán colocadas las gotas de hemolinfa, utilizando la siguiente gráfica como guía:
 - b) Limpie bien la lámina con alcohol por ambos lados.
 - c) Tome la garrapata viva utilizando las pinzas, de manera que quede con las patas a los costados de la pinza. Oprima suavemente a la garrapata para inmovilizarla, con cuidado de no lastimarla.
 - d) Sumerja la garrapata en el alcohol por 5-10 seg. No se debe dejar demasiado tiempo pues la garrapata podría asfixiarse.
 - e) Sáquela del alcohol y séquela en el papel absorbente.
 - f) Desinfecte las tijeras sumergiéndolas en alcohol, y luego séquelas con papel absorbente.
 - g) Utilizando las tijeras, corte la porción distal de la primera pata derecha y espere unos segundos. Una gota de hemolinfa deberá ser evidente en el extremo de la pata cortada.
 - h) Con cuidado de que el cuerpo de la garrapata no toque la superficie de la lámina, coloque la gota en el círculo correspondiente.
 - i) Continúe con el protocolo de corte de garrapatas para procesamientos.



3.1. Muestras de sangre para TSH neonatal

3.1.1. TSH neonatal en sangre seca

La recolección de la muestra de sangre seca aplica en cualquier método cuantitativo, el papel debe reunir características específicas (papel de filtro estandarizado S&S 903), que debe garantizar la capacidad de absorción, homogeneidad y el volumen de retención. El papel filtro se fija a la ficha de registro, éste contiene círculos pre impresos, en los que se coloca la muestra. Las áreas dentro de los círculos del papel filtro no se deben tocar en ningún momento ni con los guantes, porque se contaminan las muestras y se pueden alterar los resultados.

3.1.2. Ficha de registro de datos

Esta ficha lleva el papel estandarizado para la toma de muestra. En ella se consignan los datos mínimos requeridos para el tamizaje:

Número consecutivo de ficha de tamizaje (pre impreso): N° _____
Institución _____ Municipio _____
Nombre del paciente _____ Fecha de nacimiento ___/___/___/
Nombre de la madre _____
Dirección _____ Tel-cel _____
Fecha de nacimiento ___/___/___/ Peso al nacer _____ Género (sexo) _F_/_M_
Prematuridad Gemelaridad _SI_/_NO_/ _____
Tipo de muestra: 1. cordón () 2. talón ()
Fecha y hora de toma de la muestra ___/___/___/ ___:___

La información de la ficha debe llenarse sobre una superficie limpia y seca con letra clara y tinta indeleble.

3.1.3. Muestra de sangre de cordón umbilical en sala de partos

Es la muestra de elección para tamizaje neonatal de hipotiroidismo congénito, contemplado así en la reglamentación colombiana y cuyo fin es dar una cobertura al 100% de los recién nacidos tamizados.

3.1.3.1 Materiales y equipo

Dos pinzas Rochester, una jeringa hipodérmica desechable con aguja desmontable calibre 22 x 32, guantes estériles, cinta o liga para el cordón umbilical, ficha de identificación con papel filtro, libro de control de toma de muestras en sala de partos, guardián para desecho de material corto – punzante.

3.1.3.2. Procedimiento

La obtención de la muestra debe realizarse durante los primeros 20 minutos después del nacimiento.

Se realiza un asa con el cordón umbilical, pinzándolo de tres a cinco centímetros por arriba de la ligadura. Luego cortar el cordón entre la ligadura y la porción pinzada. No se debe limpiar el cordón con yodo o cualquier producto que lo contenga; se recomienda tener a la mano una gasa para fijar el cordón en el momento de obtener la muestra y con la jeringa hipodérmica extraer de 0,5 a 1,0 ml de sangre, desmontar la aguja y desecharla.

Tomar la jeringa estéril, presionar en forma ligera con el pulgar y depositar una gota en cada círculo de la tarjeta en forma horizontal. Es importante que las gotas de sangre impregnen la parte posterior de la tarjeta de papel del filtro y una vez llenos los círculos, dejar secar las muestras a temperatura ambiente por tres horas. No se deben dejar cerca de sitios que emitan calor, no exponer a luz solar directa (las proteínas se desnaturalizan y se fijan al papel filtro), no permitir que se toque unas con otras para evitar la contaminación.

Durante el procedimiento de toma de muestra deben seguirse las precauciones universales para manipulación de material de riesgo biológico. La persona que toma la muestra validará en ese momento la calidad de la muestra, por medio de la tarjeta o ficha guía que se entrega junto con el manual para tamizaje del hipotiroidismo congénito. Este manual se puede consultar en la página web del INS, entrando al sitio de genética.

Cuando las muestras estén completamente secas guardar las tarjetas (nunca frente a frente) para garantizar que no coincidan las muestras de sangre de una con la otra o separarlas una de la otra utilizando una hoja de papel blanco y seco dentro de un sobre de papel en un lugar seco y fresco alejado de la humedad hasta el envío. Refrigerar de 2 - 8 °C, protegiéndolo de la humedad, colocándolas en sobre de papel y en bolsas plásticas de cierre hermético con bolsa desecante hasta el momento del envío al laboratorio de procesamiento, como se muestra en la imagen 3.

3.1.4. Muestra de sangre de talón

La muestra debe tomarse a las 48 horas siguientes al nacimiento y hasta el 7° día cuando no se ha podido tomar en sangre de cordón por alguna circunstancia especial. Tenga en cuenta los siguientes aspectos:

3.1.4.1. Material y equipo

Papel de filtro estandarizado S & S 903, ficha de datos, lanceta estéril, guantes estériles, alcohol al 70%, gasa o algodón, ficha de identificación con papel filtro, libro de control de toma de muestras y guardián para desecho de material corto – punzante.

3.1.4.2. Procedimiento

Los sitios ideales y recomendados internacionalmente para la obtención de la muestra son las áreas laterales mediales de la superficie plantar del talón del neonato. No se debe realizar la punción en sitios previamente puncionados, áreas edematosas o inflamadas, tampoco en el área central del arco del pie debido a que se podrían afectar nervios, tendones o cartílagos o en los dedos de las manos porque son demasiado pequeños y la cercanía al hueso hace peligrosa la punción.

Realizar la punción en un sólo movimiento continuo con lanceta estéril de 2,0 a 2,4 mm de profundidad para no lastimar el hueso del bebé. Eliminar la primera gota de sangre limpiando con una gasa o algodón seco.

Dejar formar la segunda gota de sangre grande presionando y soltando suavemente el sitio de punción. Luego de formada la gota grande, tocar por capilaridad el papel filtro, lo más cerca posible del centro del círculo hasta que absorba y cubra el área. No presionar el papel filtro contra el sitio de punción. Se debe tener paciencia, debido a que en algunos bebés el proceso es lento. La gota debe ser lo suficientemente grande para llenar el círculo en un sólo paso.

No se debe aplicar más de una gota en el mismo círculo porque puede saturarse o producir concentraciones de sangre no uniformes. La sangre debe aplicarse en un sólo lado del papel y examinarse por ambos lados para asegurar que la sangre penetró y saturó el papel; finalmente se debe verificar la calidad de la muestra, como lo indica la guía para ésta muestra y la de sangre de cordón.

3.1.5. Muestra de suero para TSH ó T4.

Para la obtención de suero, se debe seguir las recomendaciones del presente manual.

3.1.6. Envío de muestras secas en papel filtro

- La tarjeta con la muestra seca debe ser empacada en un sobre de papel, que a su vez se embala en un sobre impermeable de cierre hermético con el desecante, que se usa para eliminar la humedad y por lo tanto evitar el deterioro de la muestra.

- Las fichas que acompañan las muestras deben estar completamente diligenciadas.

- Las muestras deben ser de buena la calidad.

- El sobre debe tener los números de las muestras que están en el interior.

- Al enviar varias tarjetas en el mismo sobre, los números de identificación de los pacientes deben estar en el sobre.

- Las muestras de sangre seca no tienen ningún riesgo biológico, a menos que exista un riesgo identificado, como en el caso de niños portadores de VIH.

Por lo tanto, las muestras para tamizaje neonatal pueden ser transportadas por correo sin expectativas de exposición ocupacional a sangre u otro material infeccioso, exceptuando el caso señalado específicamente.

Las tarjetas con las muestras en el papel filtro deben llevar su papel de cubierta, el cual se cierra y sella en un sobre resistente, permeable al aire y resistente al agua.
El sobre debe ser marcado con todos los datos antes de colocar las muestras en su interior.

Los datos del remitente, destinatario, deben ser claros y legibles.

Antes de realizar el envío verifique los siguientes puntos:

- a. Calidad de las gotas de sangre (muestras no validas y sus causas).
- b. Ficha completamente diligenciada.
- c. Correspondencia entre las muestras enviadas y el formato de remisión de muestras.
- d. Las muestras de suero para TSH y T4 deben ser enviadas en triple empaque debidamente identificadas, como se indica en la sección de transporte de muestras del presente manual.

3.2. Muestras de sangre periférica para cariotipo

Esta muestra puede ser tomada con jeringa heparinizada (preferiblemente con liquemine) o con tubo al vacío con tapón verde (anticoagulante heparina) y obtener 3 ml de la muestra y mezclarla suavemente durante un minuto.

Identificar la muestra, colocando la información del paciente que se indica a continuación:

Institución _____ Municipio _____
Nombre del paciente _____ Fecha de nacimiento __/__/__/
Dirección _____ Tel-cel _____
Fecha y hora de toma de la muestra __/__/__/ __: __
Tipo de muestra : 1. sangre () 2. venosa ()

Conservar la muestra refrigerada de 3 a 6°C hasta el momento de la siembra o procesamiento en laboratorio de genética.

Para el envío se debe asegurar que la llegada al laboratorio sea dentro de las 24 horas siguientes a la obtención de la muestra.

Como información anexa a la muestra, se debe adjuntar copia de la historia clínica, remisión del médico, donde se especifican los posibles análisis y bandeo o solicitud de confirmación y complementación diagnóstica para un caso identificado en el programa de tamizaje neonatal de hipotiroidismo congénito.

3.3. Muestras de tejido, vellosidades coriales, tumores sólidos, restos ovulares, mola hidatidiforme y líquido amniótico para cariotipo

Las muestras de vellosidades coriales, tumores sólidos, restos ovulares y mola hidatidiforme, deben ser obtenidas en condiciones de asepsia y colocadas en un recipiente estéril que contenga medio de cultivo MEM, RPMI 1640 o solución salina estéril. Estas muestras se deben refrigerar de 3 a 6°C, no se deben congelar, ni conservar en formol.

La muestra de líquido amniótico debe ser tomada por el médico ginecologista en condiciones de asepsia, en jeringa estéril, colocando el capuchón de la jeringa sellada con esparadrapo o cinta de enmascarar, se debe proteger de la luz envolviéndola en papel de aluminio y se debe refrigerar, no congelar.

Conservar la muestra en condiciones de refrigeración hasta el momento de la siembra o hasta que se envíe al laboratorio donde se realizará el análisis.

Para el proceso de envío, se debe asegurar la llegada de la muestra al laboratorio dentro de las 24 horas siguientes a la obtención de la misma.

Identificar las muestras con la información que se señala a continuación:

Institución _____ Municipio _____

Nombre del paciente _____ Fecha de nacimiento __/__/__

Dirección _____ Tel-cel _____

Fecha y hora de obtención de la muestra __/__/__/ __: __

Tipo de muestra:

1. líquido amniótico () 2. vellosidades coriales ()
3. tumores sólidos () 4. restos ovulares () 5. molas hidatidiformes ()

Como documentos, se anexa la información mencionada en el literal anterior.

4. Micobacterias

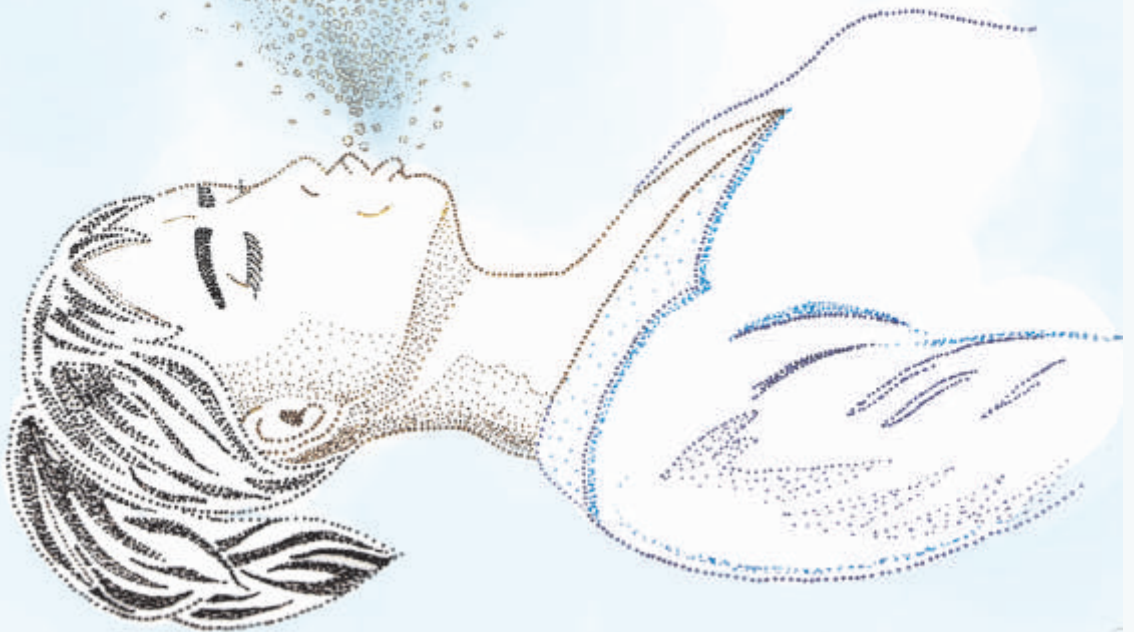
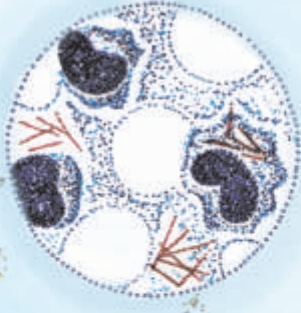


Tabla 5. Recolección y envío de muestras y aislamientos al Grupo de Micobacterias

Tipo de muestra cultivo o material	Análisis a realizar	Tiempo Horas	Temperatura		Recomendaciones para el envío
			Ambiente	Refrigerar	
Líquido pleural, pericárdico, sinovial y ascítico	Determinación de adenosina deaminasa	24		X	Tubo estéril tapa rosca con oxalato de sodio o citrato de sodio (1 mg/ml) Formato único*
Líquido cefalorraquídeo	Cultivo y baciloscopia	24		X	
Sangre (capa glóbulos blancos)		24		X	Tubo estéril (tubo heparinizado) Formato único*
Materia fecal	Cultivo y baciloscopia	2		X	Frasco limpio Formato único*
Biopsias		24		X	Frasco limpio con solución salina o agua destilada estéril Formato único*
Secreciones	Cultivo y baciloscopia	24		X	Tubo estéril tapa rosca Formato único*
Orina	Cultivo	24		X	Frasco limpio Formato único*

Tabla 5. Recolección y envío de muestras y aislamientos al Grupo de Micobacterias

Tipo de muestra cultivo o material	Análisis a realizar	Tiempo Horas	Temperatura		Recomendaciones para el envío
			Ambiente	Refrigerar	
Cultivos	Identificación de micobacterias	24	X		Formato único*
	Prueba de susceptibilidad del <i>M. tuberculosis</i> a los medicamentos	24	X		Formato único*
	Evaluación externa del desempeño indirecta a las pruebas de susceptibilidad del <i>M. tuberculosis</i> a los medicamentos	24	X		Formato de la EECI pruebas de susceptibilidad a los medicamentos (REG-R02002-1011)
Medios de cultivo	Evaluación externa del desempeño indirecta	72		X	No aplica
Baciloscopias	Evaluación externa del desempeño directa o indirecta	No aplica	X		Formato EEDD baciloscopia de tuberculosis y lepra (REG-R02002-1004 y REG-R02002-1006 formato EEDI) baciloscopia de tuberculosis y lepra (REG-R022002-1020 y REG-R02002-1022)

*Formato único de diagnóstico, identificación y pruebas de susceptibilidad (Consultar página web INS: www.ins.gov.co)



Pruebas que se realizan en el Grupo de Microbiología	
Laboratorio de Bacteriología	Laboratorio de Micología
Identificación, confirmación caracterización fenotípica y genotípica de aislamientos bacterianos	Identificación de aislamientos de hongos causantes de micosis sistémica
<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Streptococcus Beta hemolíticos, Grupo B</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Shigella sp.</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Campylobacter spp.</i> <i>Escherichia coli O157: H7</i> Otras bacterias entéricas <i>Neisseria gonorrhoeae</i> Microorganismos no fermentadores <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Streptococcus Beta hemolíticos, Grupo A</i> <i>Actinomyces</i> <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Candida sp.</i> <i>Cryptococcus sp.</i> Otros hongos aislados de micosis sistémicas
	***Pruebas inmunológicas para el diagnóstico de Paracoccidiodomicosis Histoplasmosis Criptococosis Candidiasis y coccidiodomicosis (por solicitud especial) Aspergilosis
Pruebas para el diagnóstico de tos ferina	

***Las pruebas que se realizan para el diagnóstico de estas entidades son: la inmunodifusión y la fijación de complemento para determinar anticuerpos y prueba de aglutinación de partículas de látex para determinar antígeno circulante de *Cryptococcus* y *Aspergillus*.

5.1 Envío de aislamientos

5.1.1. Microorganismos aislados a partir de líquido cefalorraquídeo o hemocultivos

5.1.1.1 Bacterias

Streptococcus pneumoniae
Haemophilus influenzae
Neisseria meningitidis
Streptococcus Beta hemolíticos, Grupo B
Listeria monocytogenes
Otros patógenos bacterianos

Medio de transporte

Amies con carbón activado, este medio de transporte es una modificación del medio de Stuart, útil especialmente para el envío de patógenos de difícil crecimiento o lábiles como son *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae*

Amies o Stuart, útil para el envío de aislamientos Gram positivos de fácil crecimiento

Condiciones del envío: temperatura ambiente entre 18 y 25°C

Tiempo máximo para ser recibido en el INS después de recogido el aislamiento: 24 horas.

Procedimiento: a partir de un cultivo puro de 24 horas de incubación, se siguen las siguientes indicaciones:

- Recoger todo el crecimiento con el escobillón que trae el medio de transporte.
- Colocar el escobillón en el medio de transporte
- Identificar el medio de transporte con los siguientes datos: nombre del paciente y fecha de recogida del aislamiento y
- Enviar al laboratorio de referencia con la hoja de remisión (Consultar pagina web INS:

www.ins.gov.co).

5.1.1.2 Hongos

Candida sp.

Cryptococcus sp.

Otros hongos aislados de micosis sistémicas

Medio de transporte: Agar glucosado de Sabouraud en tubo inclinado.

Condiciones del envío: temperatura ambiente entre 18 y 25°C

Tiempo máximo para ser recibido en el INS después de recogido el aislamiento: 24 horas.

Procedimiento: a partir de un cultivo puro de 24 horas de incubación

- Recoger todo el crecimiento con el escobillón que trae el medio de transporte.
- Colocar el escobillón en el medio de transporte
- Identificar el medio de transporte con los siguientes datos: nombre del paciente y fecha de recogida del aislamiento y
- Enviar al laboratorio de referencia con la hoja de remisión (Consultar pagina web INS:

www.ins.gov.co)

Todos los aislamientos de hongos que sean remitidos al laboratorio de referencia deben tener un rótulo que indique que el paquete debe ser abierto en cámara de bioseguridad.

5.1.2 Aislamientos de bacterias entéricas

Salmonella spp.

Shigella sp.

Vibrio cholerae

Campylobacter spp.

Escherichia coli O157:H7

Otras bacterias entericas

Medio de transporte:

Cary Blair, para el envío de muestras de materia fecal y aislamientos de microorganismos Gram negativos enteropatógenos

Condiciones del envío: temperatura ambiente entre los 18 y 25°C

Tiempo máximo para recibirlo en el INS después de recogido el aislamiento: 24 horas.

Procedimiento: a partir de un cultivo puro de 24 horas de incubación

- Recoger todo el crecimiento con el escobillón que trae el medio de transporte.
- Colocar el escobillón en el medio de transporte
- Identificar el medio de transporte con los siguientes datos: nombre del paciente, edad, sexo y fecha de recogida del aislamiento y
- Enviar al laboratorio de referencia con la hoja de remisión (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)

5.1.3 Aislamientos a partir de muestras uretrales o cervicales

5.1.3.1 Bacterias

Neisseria gonorrhoeae

Medios de transporte: Amies con carbón activado

Condiciones del envío: temperatura ambiente entre los 18 y 25°C

Tiempo máximo para recibirlo en el INS después de recogido el aislamiento: 24 horas.

Procedimiento: a partir de un cultivo puro de 24 horas de incubación

- Recoger todo el crecimiento con el escobillón que trae el medio de transporte.
- Colocar el escobillón en el medio de transporte
- Identificar el medio de transporte con la siguiente información: nombre del paciente, edad, sexo y fecha de recogida del aislamiento y enviar al laboratorio de referencia con la hoja de remisión (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)

5.1.4 Aislamientos obtenidos de otras muestras

5.1.4.1 Bacterias Gram positivas

Staphylococcus aureus

Staphylococcus spp.

Streptococcus Beta hemolíticos, Grupo A

Actinomices

Corynebacterium diphtheriae

Otras bacterias Gram positivas

Medio de transporte:

-*Amies con carbón activado*, el cual es una modificación del medio de Stuart útil especialmente para el envío de patógenos de difícil crecimiento o lábiles.

-*Amies o Stuart*, útil para el envío de aislamientos Gram positivos de fácil crecimiento

Condiciones del envío: temperatura ambiente entre los 18 y 25°C

Tiempo máximo para ser recibido en el INS después de recogido el aislamiento:

24 horas.

Procedimiento: a partir de un cultivo puro de 24 horas de incubación

- Recoger todo el crecimiento con el escobillón que trae el medio de transporte.
- Colocar el escobillón en el medio de transporte
- Identificar el medio de transporte con la siguiente información: nombre del paciente, edad, sexo y fecha de recogida del aislamiento y
- Enviar al laboratorio de referencia con la hoja de remisión (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)

5.1.4.1 Bacterias Gram negativas

Psedomonas aeruginosa

Pseudomonas spp.

Acinetobacter baumannii.
Klebsiella pneumoniae
Burkholderia cepacia
Brananella catharralis
Serratia marcesens

Otras bacterias gram negativas no fermentadoras

Medios de transporte: Cary- Blair

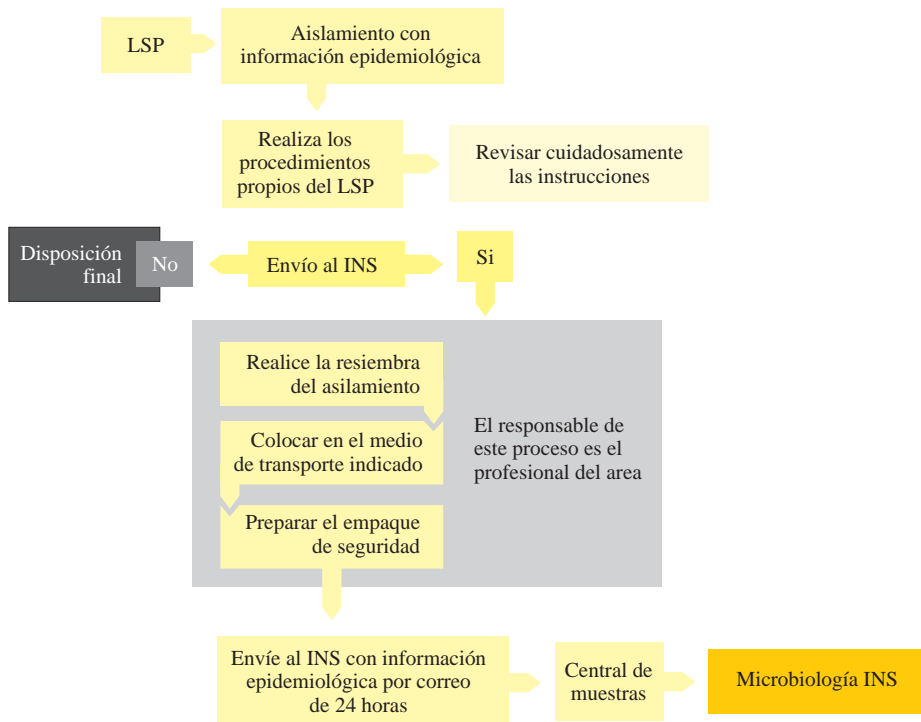
Condiciones del envío: temperatura ambiente entre 18 y 25°C

Tiempo máximo para recibirlo en el INS después de recogido el aislamiento: 24 horas.

Procedimiento: a partir de un cultivo puro de 24 horas de incubación

- Recoger todo el crecimiento con el escobillón que trae el medio de transporte.
- Colocar el escobillón en el medio de transporte
- Identificar el medio de transporte con la siguiente información: nombre del paciente, edad, sexo y fecha de recogida del aislamiento y
- Enviar al laboratorio de referencia con la hoja de remisión (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)

Diagrama de flujo para el aislamientos de bacterias y hongos



5.2 Envío de muestras para diagnóstico

5.2.1 Bacterias

5.2.1.1 *Bordetella pertussis*

La recomendación internacional para el diagnóstico de la tos ferina (*Bordetella pertussis*), es el uso de tres técnicas: cultivo, inmunofluorescencia directa (IFD) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Muestra

- Para el diagnóstico en pacientes con sospecha de tos ferina se debe tomar aspirado nasofaríngeo con sonda estéril.
- Para el estudio de contactos o trabajo de campo se debe tomar frotis nasofaríngeo con escobillón flexible.

Envío de la muestra: tener presente las siguientes indicaciones.

Aspirado nasofaríngeo

- Para el cultivo, coloque 5 gotas del aspirado sobre la superficie del medio de transporte Regan Lowe.
- Para la IFD, haga dos extendidos delgados en el centro de la lámina de 1,5 cm de diámetro.
- Para la PCR envíe el aspirado restante en un tubo estéril tapa rosca.
- Marque los tubos y las láminas (nombre, edad, sexo y la fecha de la toma de la muestra) y remítalas inmediatamente, junto con la ficha epidemiológica completamente diligenciada (código INS 800) y el resumen de la historia clínica del paciente al Laboratorio de Referencia.

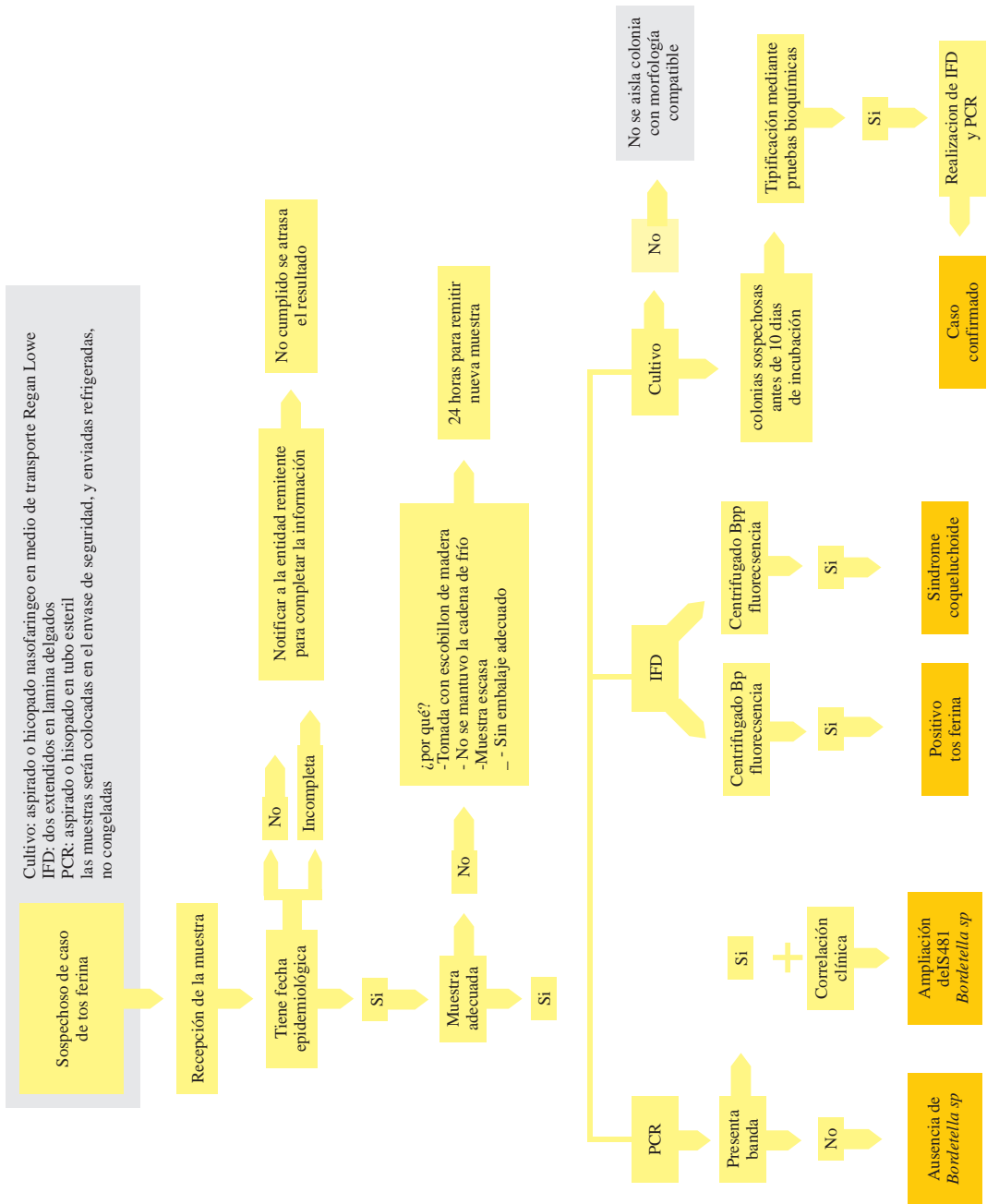
Seguir indicaciones del Manual (capítulo 10) sobre transporte de muestras y enviar en refrigeración (4 a 8°C). Se anexa diagrama de flujo.

Hisopado nasofaríngeo

Tome la muestra introduciendo el escobillón por la fosa nasal hasta la nasofaringe.

- Para el cultivo introduzca y deje el escobillón en el medio de transporte Regan Lowe.
- Para la IFD y la PCR recolecte la muestra con otro escobillón, haga dos extendidos delgados en el centro de la lámina, déjelos secar y fíjelos con etanol al 95% y envíe el escobillón en un tubo estéril tapa rosca.
- Marque los tubos y las láminas (nombre, edad, Sexo y la fecha de la toma de la muestra) y remítalas inmediatamente, junto con la ficha epidemiológica completamente diligenciada (código INS 800) y el resumen de la historia clínica del paciente al Laboratorio de

Referencia. Aplicar los lineamientos de bioseguridad de la IATA, enviar en refrigeración (4 a 8°C). Se anexa diagrama de flujograma.



5.2.1.1 *Leptospira*

Muestra requerida: Suero; al recoger la muestra el paciente debe estar en completo ayuno.

La obtención de la muestra estará a cargo del profesional responsable, en este caso del bacteriólogo o el auxiliar del laboratorio.

Condiciones de la muestra: el suero no debe mostrar indicios de hemólisis, ni debe estar lipémico, con un volumen de 2 ml, estas muestras deben ser pareadas (diagnóstico). La toma de la primera muestra debe ser dentro de los primeros cinco días de iniciados los síntomas y la segunda muestra se debe realizar de 10 - 15 días después de tomar la primera muestra.

Conservación de la muestra: se debe enviar de inmediato la muestra en un tubo estéril, tapa rosca y sellado con cinta o parafilm®, en triple empaque protegiéndolo del calor y mantenerlo refrigerado entre 4°C a 8°C y debidamente marcadas (nombre, edad, sexo y la fecha de la toma de la muestra), con resumen de historia clínica (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)).

5.2.1.3 *Rickettsia*

Muestra requerida: Suero; al recoger la muestra, el paciente debe estar en completo ayuno.

·La obtención de la muestra estará a cargo del profesional responsable, en este caso del bacteriólogo o el auxiliar del laboratorio.

·*Condiciones de la muestra:* el suero no debe mostrar indicios de hemólisis, ni debe estar lipémico, con un volumen de 2 ml, estas muestras deben ser pareadas (diagnóstico). La toma de la primera muestra debe ser dentro de los primeros cinco días de iniciados los síntomas y la segunda muestra se debe realizar de 10 - 15 días después de tomar la primera muestra.

·*Conservación:* se debe enviar de inmediato la muestra en un tubo estéril, tapa rosca y sellado con cinta o parafilm, en triple empaque protegiéndolo del calor y mantenerlo refrigerado entre 4°C a 8°C y debidamente marcados (nombre, edad, sexo y la fecha de la toma de la muestra), con resumen de historia clínica (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)).

5.2.1.4 *Hongos*

Serología para hongos (*Histoplasma, Paracoccidioides*)

Muestra requerida: suero; al recoger la muestra el paciente debe estar en ayunas. La obtención de la muestra estará a cargo del profesional responsable, en este caso del bacteriólogo

o el auxiliar del laboratorio.

Condiciones de la muestra: el suero no debe mostrar indicios de hemolisis, ni debe estar lipémico, con un volumen de 2 ml.

Conservación: se debe enviar de inmediato la muestra en un tubo estéril, tapa rosca y sellado con cinta o parafilm®, en triple empaque protegiéndolo del calor y mantenerlo refrigerado entre 4°C a 8°C y debidamente marcadas (nombre, edad, sexo y la fecha de la toma de la muestra), con resumen de historia clínica.

Látex para Cryptococcus y Aspergillus

Muestra requerida: suero; al recoger la muestra el paciente debe estar en ayunas.

La obtención de la muestra estará a cargo del profesional responsable, en este caso del bacteriólogo o el auxiliar del laboratorio.

Condiciones de la muestra: el suero no debe mostrar indicios de hemolisis, ni debe estar lipémico, con un volumen de 2 ml.

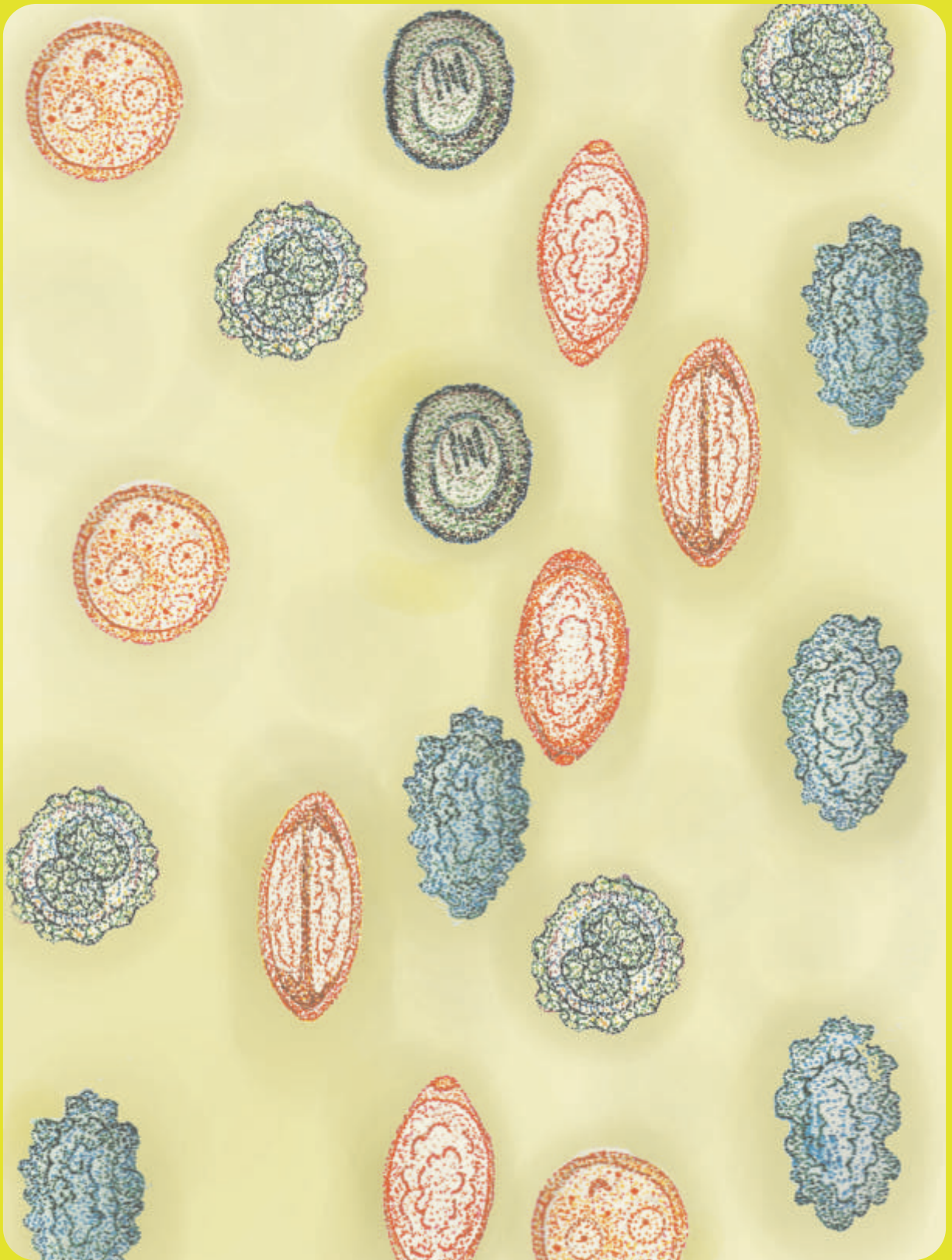
Conservación: se debe enviar las muestras en un tubo estéril, en triple empaque y debe conservarse de 4°C a 8°C y debidamente marcados (nombre, edad, sexo y la fecha de la toma de la muestra), con resumen de historia clínica (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co).

Muestra requerida: LCR

La obtención de la muestra es responsabilidad exclusiva del médico quien la tomará bajo rigurosas condiciones de asepsia.

Condiciones de la muestra: el líquido cefalorraquídeo debe estar libre de hemolisis, con un volumen 3 ml.

Conservación: se debe enviar de inmediato la muestra en un tubo estéril, tapa rosca y sellado con cinta y parafilm® en triple empaque, protegiéndolo del calor y mantenerlo a temperatura ambiente, debidamente marcados (nombre, edad, sexo y la fecha de la toma de la muestra), con resumen de historia clínica (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)).



El Grupo de Parasitología de la Subdirección Red Nacional de Laboratorios trabaja de manera exclusiva con muestras de pacientes.

Muestras requeridas en el Grupo de Parasitología	
Examen a realizar	Tipo de muestra
Determinación de anticuerpos IoG o IoM para toxoplasmosis por IFI o ELISA	Suero
Determinación de anticuerpos IoG para leishmaniasis mucocutánea o visceral por IFI	Suero
Determinación de anticuerpos IoG para leishmaniasis mucocutánea o visceral por IFI	Suero ó muestra de sangre desecada en papel de filtro
Determinación de anticuerpos IoG para cisticercosis por ELISA	Suero ó líquido cefalorraquideo
Determinación de anticuerpos IoG para toxocariasis por ELISA	Suero
Determinación de anticuerpos IoG para Absceso hepático amibiano por ELISA	Suero
Identificación de hemoparásitos referencia o contrarreferencia	Sangre total con anti coagulante EDTA Laminas con frotis de sangre periférica o gota gruesa Preparación en lamina de la capa leucolaquetaria obtenida a partir del microhematocrito (Chagas agudo)
Examen directo para leishmaniasis cutánea, para leishmaniasis vical, referencia o contrarreferencia	Laminas fijadas sin colorear Laminas coloreadas
Identificación de parásitos intestinales o parásitos oportunistas, referencia o contrarreferencia	Muestras de materia fecal Muestras de materia fecal preservadas Laminas fijadas sin colorear Laminas coloreadas
Cultivo para leishmaniasis	Tubos con medio NNN modificado sembrado Muestras de tejido
Cultivo para tripanosomiasis	Muestras de sangre total con anticoagulante
Evaluación externa indirecta del desempeño (EEID)	Laminas coloreadas de examen directo para leishmaniasis Laminas coloreadas con gota gruesa para malaria

6.1 Suero

Además de las recomendaciones señaladas al inicio del manual, se deben seguir las siguientes instrucciones para las muestras enviadas a este grupo:

Cualquier muestra para determinación de anticuerpos debe ser separada antes de ser embalada para el envío.

Las muestras deben enviarse en el menor tiempo posible al INS.

Volumen de la muestra: la cantidad mínima de suero a enviar por paciente, para cualquier determinación de anticuerpos al Grupo de Parasitología debe ser 0,5 ml.

Aptitud de la muestra: no son aptas para la determinación de anticuerpos muestras de un volumen inferior a 0,5 ml; muestras no refrigeradas; muestras de sangre en tubo seco no centrifugadas; muestras de plasma (provenientes de muestras de sangre obtenidas en tubos con anticoagulante) exceptuando muestras para ser procesadas por la técnica de ELISA. Los sueros hemolizados son procesados pero su condición se especifica en las observaciones del informe de resultados.

Envase de la muestra: la muestra debe ser envasada en viales plásticos o tubos limpios herméticamente cerrados, en lo posible sellados con papel parafinado o cinta en la tapa.

Identificación de la muestra: el recipiente que contiene el suero debe rotularse con nombre o código de identificación, fecha de recolección, examen solicitado.

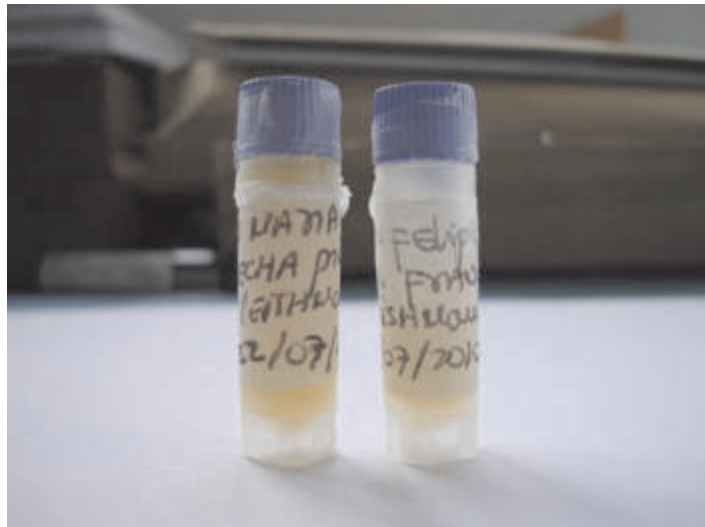


Figura 2. Envase e identificación muestra de suero

6.2. Líquido cefalorraquídeo

La obtención de esta muestra debe efectuarse en un hospital por personal médico entrenado que deberá seguir en forma rigurosa las condiciones de asepsia.

La muestra obtenida se debe recolectar en un frasco limpio, estéril, herméticamente cerrado, al cual se le debe garantizar la cadena de frío: refrigeración de 4° a 8°C, durante el tiempo de transporte y evitar cambios de temperatura que contribuyan a la degradación de las proteínas (anticuerpos).

También es importante la posición de la muestra al momento de hacer el embalaje, para evitar derrames y su pérdida.

La muestra debe enviarse en el menor tiempo posible al INS.

Volumen de la muestra: la cantidad mínima de LCR a enviar por paciente, para cualquier determinación de anticuerpos al Grupo de Parasitología, debe ser de 0,5 ml.

Aptitud de la muestra: no son aptas para la determinación de anticuerpos muestras de un volumen inferior a 0,5 ml; muestras no refrigeradas. Los LCR contaminados con sangre o con cualquier apariencia diferente son procesados pero su condición se especifica en las observaciones del informe de resultados.

Envase de la muestra: la muestra debe ser envasada en tubos limpios herméticamente cerrados, en lo posible sellados con papel parafinado o cinta en la tapa.

Identificación de la muestra: el recipiente que contiene el LCR debe rotularse con nombre o código de identificación, fecha de recolección, examen solicitado.

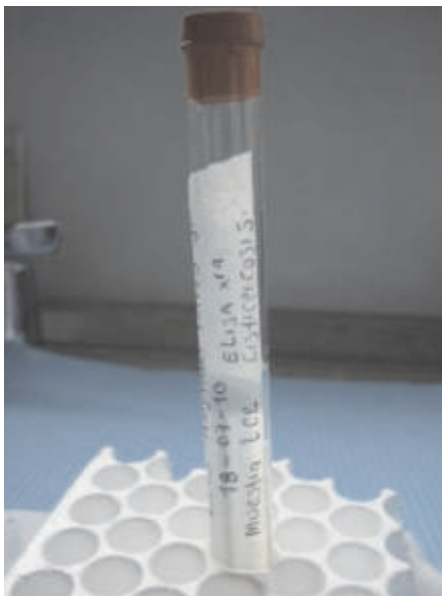


Figura 3. Envase e identificación de la muestra de LCR

6.3. Sangre desecada en papel de filtro.

Puede tomarse de dos formas:

6.3.1. *Por punción digital con lanceta*, llenando directamente el círculo demarcado en el papel filtro, teniendo en cuenta que se impregnen los dos lados del papel (anverso y reverso). Es importante tener en cuenta que se debe descartar la primera gota de sangre.

6.3.2. *Obtenida por punción digital ó punción venosa*, llenando 2 tubos capilares heparinizados por cada paciente, posteriormente vaciar su contenido por capilaridad sobre el círculo demarcado en el papel filtro, teniendo en cuenta que se impregnen los dos lados del papel (anverso y reverso).

Cantidad de muestra: deben tomarse como mínimo dos muestras por paciente, las cuales deben ser secadas a temperatura ambiente y protegidas de la luz solar.

Aptitud de la muestra: no son aptas para la determinación de anticuerpos muestras obtenidas en un papel de filtro diferente a Whatman No.3 o muestras tomadas de forma inadecuada como se indica en la figura 4.

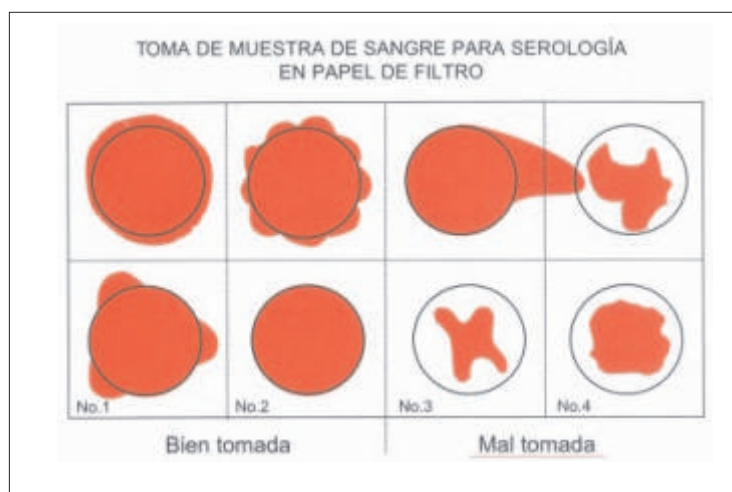


Figura 4. Recolección de muestra de sangre para serología en papel de filtro

La importancia de la impregnación por ambos lados y de la totalidad del área del círculo radica en que de ella se toma una porción con unas dimensiones establecidas para obtener la dilución, que ya se encuentra estandarizada y es la óptima para la realización del ensayo.

Envase de la muestra: almacenar dentro de bolsas herméticas plásticas a -20°C y protegidas de la luz solar, hasta el momento de su procesamiento.

Identificación de la muestra: los papeles de filtro deben rotularse con nombre o código de identificación, fecha de recolección, examen solicitado.



Figura 5. Envase e identificación de la muestra de LCR

6.4 Sangre con anticoagulante EDTA

Se obtiene de una muestra total de sangre en un tubo con anticoagulante EDTA (tubo tapa morada), sin centrifugar y teniendo en cuenta que en paciente al que se le sospecha malaria no es necesario que presente el pico febril en el momento de la toma de la muestra, debido a que la esquizogonía tisular se puede presentar cada tercer o cuarto día dependiendo de la especie parasitaria y que no se tiene ninguna indicación de ayuno de toma de medicamentos.

Marcar y rotular el recipiente hermético, con nombre o código de identificación, fecha y hora de recolección, examen solicitado.

A la muestra obtenida se le debe mantener a temperatura ambiente y el tiempo de transporte al INS debe ser:

- Menor a 24 horas para diagnóstico de malaria.
- Inmediato para el diagnóstico de enfermedad de Chagas en su forma aguda debido a que se necesita la visualización directa del parásito y su viabilidad in vitro es muy corta. La sensibilidad del ensayo aumenta cuando el tiempo de envío es menor.

También es importante al momento de hacer el embalaje de la muestra la posición para evitar derrames y su pérdida.

Volumen de la muestra: la cantidad mínima de muestra a enviar por paciente depende del tamaño del tubo a utilizar manteniendo la relación 1 a 9 con el anticoagulante.

Aptitud de la muestra: no son aptas para la determinación de hemoparásitos las muestras refrigeradas y recolectadas en un tiempo mayor a los especificados.

Envase de la muestra: la muestra debe ser remitida en el mismo tubo de su recolección asegurándose que quede herméticamente cerrada y en lo posible sellar con papel parafinado o cinta en la tapa.

Identificación de la muestra: el recipiente que contiene la muestra debe rotularse con nombre o código de identificación, fecha y hora de recolección, examen solicitado.

6.5 Láminas de gota gruesa y extendido de sangre periférica.

Se debe recordar que para los pacientes con síntomas de malaria no es necesario que presenten el pico febril en el momento de la toma de la muestra, debido a que la esquizogonía tisular se puede presentar cada tercer o cuarto día dependiendo de la especie parasitaria.

A continuación se describe el procedimiento para la realización de las láminas de gota gruesa:

·*Marcar tres láminas con los datos completos del paciente*, dos para gota gruesa y una para el extendido de sangre periférica. La marcación consta del nombre del paciente, la fecha.

La identificación se hace con lápiz en el borde esmerilado de la lámina o con un marcador de punta delgada y cinta de enmascarar.

Con las manos enguantadas, se procede a tomar la muestra de sangre por punción venosa o por punción capilar del dedo medio de la mano no dominante de los pacientes así: se realiza la limpieza con alcohol antiséptico y algodón (figura 6). Las zonas de punción pueden ser: el dedo índice o el dedo medio del paciente. En el caso de niños, se puede tomar la muestra del talón, del dedo gordo del pie o del lóbulo de la oreja. Cuando los pacientes presentan mucha callosidad en los dedos se puede puncionar el lóbulo de la oreja. Para el diagnóstico de Chagas agudo puede haber circulación del parásito a nivel capilar, pero se recomienda realizar la gota gruesa de la punción venosa.



Figura 6. Sitio de punción para toma de la muestra

Después de secar la zona, con una torunda de algodón seco, se debe puncionar con una lanceta estéril desechable en el borde lateral del dedo entre la yema y la uña



Figura 7. Punción capilar

·Después de limpiar la primera gota de sangre con algodón seco, presionar el dedo y colocar la siguiente gota a 1 cm. de la identificación de la lámina; este procedimiento se debe realizar de manera delicada colocando la lámina por encima de la gota de sangre y evitando tocar la incisión hecha en el dedo del paciente. Luego, se presiona nuevamente el dedo para la obtención de una segunda gota, la cual se debe colocar de la misma forma que la anterior a 0,5 cm de la primera gota.

La gota gruesa se realiza utilizando el borde de otro portaobjeto (lámina extensora) y se extiende la sangre realizando el menor número de movimientos sobre la muestras para evitar dañar la morfología del parásito.



Figura 8.
Elaboración
de la
gota gruesa

La forma más sencilla de realizarlo es colocar una gota de sangre hacia la parte inferior de la lámina, con la ayuda de la lámina extensora dividir la gota en la mitad, dejar fluir la sangre por capilaridad en la lámina que dividió la gota y darle un ancho de 1 cm, extender la muestra suavemente hasta alcanzar una altura de 1 cm (figura 9).

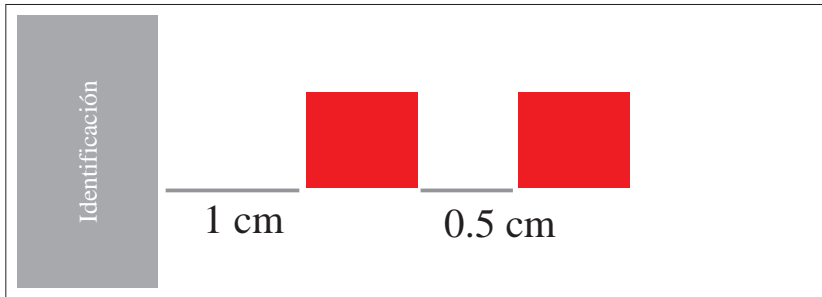


Figura 9.
Elaboración
de la
gota gruesa

También obtendrá el mismo resultado si se extienden las gotas realizando movimientos a manera de N (figura 10).

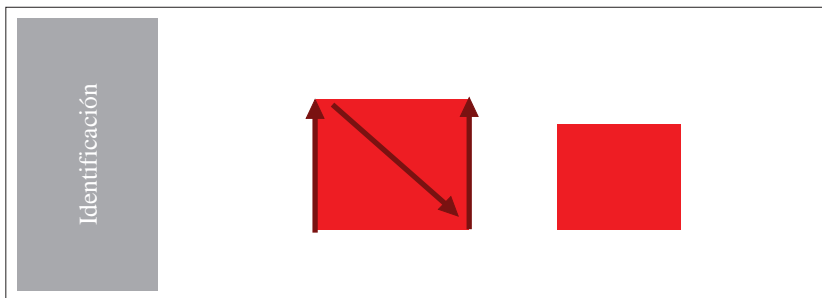


Figura 10.
Elaboración
de la
gota gruesa
con
movimientos
en N

·Tomar la siguiente lámina para efectuar el mismo procedimiento y quedar con otra muestra en caso de que ocurra algún accidente con la primera lámina.

- *Deje secar la muestra a temperatura ambiente* en una superficie plana, protegida del polvo y de los insectos. Evitar la sobre exposición de la muestra a los rayos solares ya que la sangre se puede fijar.

- *Para evitar la contaminación con sangre de otros pacientes*, está indicado limpiar con alcohol la lámina extensora. Se recomienda secar perfectamente los restos de alcohol antes de realizar la siguiente toma de muestra ya que el alcohol también fija la sangre.

Nota: cuando se trabaja a partir de sangre anticoagulada es importante tener presente que la muestra tiende a desprenderse con facilidad si la misma no ha sido secada adecuadamente, para lo cual se sugiere introducir la muestra un minuto en la incubadora y proceder a secar muy bien antes de realizar el procedimiento de coloración.



Figura 11. Gota gruesa

Procedimiento para la realización del extendido de sangre periférica:

·*La muestra requerida* para realizar el extendido de sangre periférica es sangre total, la cual puede ser obtenida por punción venosa y recolectada en tubo con EDTA o a partir de punción capilar del dedo medio de la mano no dominante del paciente.

·*Marcar la lámina* de la misma manera descrita para la gota gruesa.

·*Después de haber tomado la gota gruesa*, presionar el dedo del paciente y colocar una nueva gota de sangre de manera delicada debajo de la identificación de la lámina; se debe evitar que la lámina toque el dedo del paciente.

· *Para realizar el extendido* colocar uno de los extremos de la lámina extensora en contacto con la gota de sangre. Dejar extender por capilaridad la sangre a lo largo del borde del portaobjetos, y con una inclinación de 30 a 40 grados realizar el frotis a lo largo de la lámina. El extendido debe tener cabeza, cuerpo y cola para que permita confirmar el diagnóstico de especie (Figura 12).

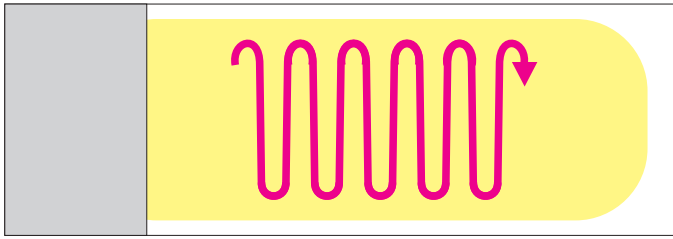


Figura 12. Extendido de sangre periférica

Cuando la gota gruesa no va a ser coloreada inmediatamente y se va a remitir al INS, se puede conservar precoloreada, pero el tiempo de llegada no puede ser mayor a 1 día, ésta debe estar a temperatura ambiente y protegida del calor o de los rayos directos del sol, ya que la hemoglobina tiende a fijarse en la lámina evitando hacer un correcto diagnóstico.

Cuando se van a enviar las muestras coloreadas y que ya han sido observadas con aceite de inmersión, debe dejar escurrir el aceite de manera vertical sobre una toalla de papel absorbente. Si después de 2 horas observa exceso de aceite, puede colocar la lámina (por el lado de la muestra) sobre un papel absorbente suave evitando restregar la muestra contra el papel, después puede retirar la lámina de manera delicada. El exceso de aceite se retira de manera definitiva sumergiendo la lámina en xilol por 2 segundos y se deja escurrir en un soporte. Como alternativa se puede preservar la muestra con polímeros como la citorresina o el entellan® (medio de inclusión rápida para microscopía), los cuales se adicionan sobre la muestras y sobre este líquido se coloca una laminilla perfectamente desengrasada para evitar la formación de burbujas. Finalmente se deja secar completamente.

Aptitud de la muestra: no son muestras aptas láminas rotas, sin colorear pero no precoloreadas y las no conservadas en lugares frescos y libres de humedad. Láminas con una coloración no adecuada se leerán pero su condición se especifica en las observaciones del informe de resultados.

Envase de la muestra: tanto de gotas gruesas o extendidos coloreados se deben usar lamineros, empaques similares o envolver cuidadosamente en forma individual las láminas con varias capas de papel absorbente separándolas con la ayuda de bajalenguas y cinta, que las protejan, separen y garanticen un ambiente fresco y libre de humedad para evitar la contaminación de las muestras con hongos.

Identificación de la muestra: la marcación consta del nombre del paciente, la fecha. La identificación se hace con lápiz en el borde esmerilado de la lámina o con un marcador de punta delgada y cinta de enmascarar. En caso de ser láminas para EEID se deberá especificar el código o número de identificación de la lámina y el período al cual corresponde.

Documentos para el envío de muestras: las láminas deben ser enviadas al INS con la ficha clínico epidemiológica de muestras del Grupo de Parasitología RNL (Consultar pagina web

INS: www.ins.gov.co); en casos excepcionales las muestras deben ser remitidas como mínimo con un resumen de historia clínica del paciente. Cuando se trata de láminas para la EEID deben estar acompañadas del formato resultado EEID Programa Malaria(Consultar página web INS: www.ins.gov.co)

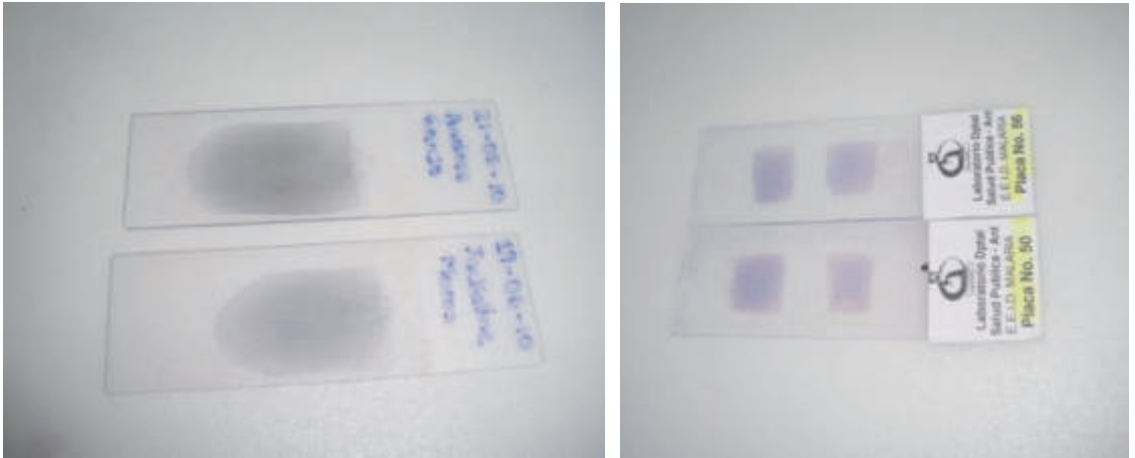


Figura 13. Identificación de láminas de gota gruesa y extendido de sangre periférica

6.6 Preparado en láminas obtenidas a partir de la capa leucoplaquetaria obtenida por microhematocrito

Esta preparación es útil para el diagnóstico de Chagas agudo y puede ser remitida al INS.

Se debe llenar un capilar de microhematocrito con anticoagulante, posteriormente centrifugar de 8000 a 12000 rpm. Una vez listo y observada la fase leucocitaria directamente en el capilar en busca de la presencia de tripomastigotes, se puede romper el capilar en la fase leucoplaquetaria con un lápiz de punta diamante y verter el contenido en una lámina para observar el contenido de la lámina entre lámina y laminilla directamente en el microscopio. Una vez seca protegida del polvo y de los insectos, evitado la sobre exposición de la muestra a los rayos solares, se puede proceder a su coloración con cualquier coloración de Romanosky.

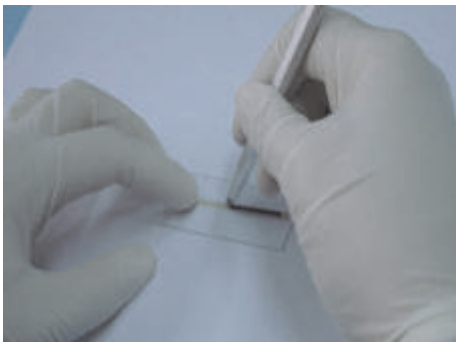


Figura 14 Preparación en láminas obtenidas de la capa leucoplaquetaria del microhematocrito

Cuando la lámina no se va enviar coloreada, se puede conservar precoloreada pero el tiempo de llegada no puede ser mayor a 1 día, a temperatura ambiente y protegida del calor o de los rayos directos del sol.

Cuando se van a enviar las muestras coloreadas y que ya han sido observadas con aceite de inmersión, se debe dejar escurrir el aceite de manera vertical sobre una toalla de papel absorbente o se debe retirar el aceite con xilol, como se describió en el apartado de gota gruesa.

Aptitud de la muestra: no son muestras aptas láminas rotas, sin colorear pero no precoloreadas y las no conservadas en lugares frescos y libres de humedad. Láminas con una coloración no adecuada se leerán pero su condición se especifica en las observaciones del informe de resultados.

Envase de la muestra: se deben usar lamineros, empaques similares o envolver cuidadosamente en forma individual las láminas con varias capas de papel absorbente separándolas con la ayuda de bajalenguas y cinta, que las protejan, separen y garanticen un ambiente fresco y libre de humedad para evitar la contaminación de las muestras con hongos.

Identificación de la muestra: la marcación consta del nombre del paciente, la fecha. La identificación se hace con lápiz en el borde esmerilado de la lámina o con un marcador de punta delgada y cinta de enmascarar.

6.7 Láminas de examen directo para leishmaniasis

6.7.1 Leishmaniasis cutánea: se debe realizar a pacientes que cumplan con alguno de los siguientes criterios: lesiones cutáneas abiertas (úlceras francas, vegetante o ectimatoidea), lesiones cerradas (pápulas, nódulos, placas infiltradas, costrosas, indoloras) localizadas en cualquier parte del cuerpo, lesiones verrugosas.

A continuación se describe el procedimiento para la toma de un examen directo para leishmaniasis cutánea por raspado o incisión del borde activo de la lesión.

Para un resultado óptimo se debe asegurar la adecuada limpieza de la lesión con solución salina (0,85%), agua destilada o jabón quirúrgico, nunca realizar con soluciones coloreadas tipo yodo, así como asegurar que el paciente no se ha aplicado ningún tipo de crema o ungüento en la lesión.

Con las manos enguantadas realice limpieza del sitio de la lesión utilizando gasa impregnada en agua, solución salina o jabón quirúrgico, evitando que queden trazas de detergente que pueden alterar el resultado. Si hay costra remuévala cuidadosamente.

Raspado del borde activo de la lesión: sobre la cara interna del borde de la úlcera realice un raspado con el borde romo de una lanceta o de una hoja de bisturí. Hágalo de manera tal que no

sangre mucho, presionando el sitio de la lesión hasta hacer isquemia.

Incisión del borde activo de la lesión: previa infiltración con una pequeña cantidad de xilocaína (0.1 a 0,2 ml), sobre el borde activo de la lesión realice una pequeña incisión con la hoja de bisturí de 3 a 6 mm de longitud por 1 a 3 mm de profundidad. La isquemia se debe lograr haciendo presión en pinza con los dedos, también puede ayudarse con una gasa estéril.

Con el borde romo de la hoja del bisturí levante la piel de la parte superior de la incisión y raspe el tejido del interior de la incisión desde la profundidad hacia la superficie.



Figura 15. Raspado del borde activo de la lesión

El material obtenido ya sea por raspado o incisión del borde activo de la lesión, se extiende en forma suave sobre una lámina portaobjetos nueva, previamente limpiada, desengrasada y debidamente rotulada con el nombre del paciente o código de identificación, identificación de la lesión (aplica cuando el paciente presenta más de una) y fecha.

Figura 16. Diagrama realización de raspado borde activo de la lesión (examen directo)



·Tome otras dos muestras (para un total de tres láminas) de la misma manera, colocando tres muestras por lámina portaobjetos, por cada una de las lesiones que se estudian del paciente.

·Deje secar las muestras a temperatura ambiente y en un lugar seco, teniendo las precauciones necesarias en climas cálidos y húmedos.

·Fijar con metanol y dejar secar.

·Colorear con cualquier coloración de Romanosky con el tiempo previamente estandarizado.

Cuando el paciente presenta una lesión cerrada o cuando por tres ocasiones, las tres láminas obtenidas por raspado o incisión del borde activo de la lesión han salido con resultado negativo pero persiste la sospecha de leishmaniasis, se puede realizar un aspirado con aguja fina o BACAF (biopsia por aspiración con aguja fina):

- Con manos enguantadas realice limpieza del sitio de la lesión utilizando gasa impregnada en agua destilada, solución salina o jabón quirúrgico, evitando que queden trazas de detergente que pueden alterar el resultado.

- Coloque en la jeringa de tuberculina 0,1 ml de gentamicina.

- Realice una punción en el borde de la lesión con la jeringa y realice movimientos de rotación que favorezcan el desplazamiento del material a través de la jeringa; si no se obtiene material aspire suavemente con el émbolo.

- Una vez obtenido el material coloque una gota sobre láminas portaobjetos nuevas, desengrasadas y debidamente rotulada con el nombre del paciente o código de identificación, identificación de la lesión (aplica cuando el paciente presenta más de una) y fecha. Deslice el material con el fin de hacer tres pequeños y delgados extendidos por lámina.

- Repita el procedimiento con el material restante en dos láminas más, para un total de tres láminas.

- Cuando se hayan secado se continúa el proceso de fijación y coloración en la forma antes descrita.

Las láminas pueden ser enviadas al INS sin colorear siempre y cuando se hayan fijado previamente de una manera adecuada.

6.7.2 *Leishmaniasis visceral*

Siempre se debe realizar la confirmación parasitológica en todo paciente procedente de área endémica con antecedentes epidemiológicos y cuadro clínico característico.

En general, el extendido del aspirado de médula ósea, de bazo o de hígado, son suficientes para confirmar el diagnóstico. Por ello, no es necesario realizar estudio histopatológico. La patología de la leishmaniasis visceral se caracteriza porque el hígado presenta hipertrofia e hiperplasia de las células de Kupffer, y granulomas en los espacios porta, constituidos por macrófagos que contienen amastigotes y por abundantes plasmocitos. En el bazo se observa hiperplasia de los folículos linfoides, congestión severa de los sinusoides y frecuentes macrófagos con amastigotes. En la médula ósea, se reporta celularidad disminuida y la presencia de amastigotes fagocitados por macrofagos.

Cualquiera de los aspirados mencionados debe realizarse únicamente por personal médico debidamente entrenado y en un medio hospitalario bajo condiciones de rigurosa asepsia.

Extender 0.2 ml del material en varias láminas porta-objeto y dejar secar a temperatura ambiente.

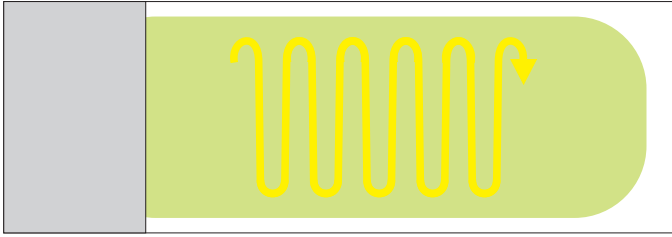


Figura 17. Diagrama de la realización de frotis para examen directo Leishmaniasis visceral

Aptitud de la muestra: no son muestras aptas láminas rotas, láminas con muestras no fijadas y las no conservadas en lugares frescos y libres de humedad. Láminas con una coloración no adecuada se leerán pero su condición se especifica en las observaciones del informe de resultados.

Envase de la muestra: se deben usar lamineros, empaques similares o envolver cuidadosamente en forma individual las láminas con varias capas de papel absorbente separándolas con la ayuda de bajalenguas y cinta, que las protejan, separen y garanticen un ambiente fresco y libre de humedad para evitar el crecimiento de hongos en las muestras.

Identificación de la muestra: la marcación consta del nombre del paciente o código de identificación, identificación de la lesión (aplica cuando el paciente presenta más de una) y fecha. La identificación se hace con lápiz en el borde esmerilado de la lámina o con un marcador de punta delgada y cinta de enmascarar. En caso de ser láminas para EEID se deberá especificar el código o número de identificación de la lámina y el período al cual corresponde.

Figura 18. Ejemplo de embalaje de láminas



Documentos para el envío de muestras: las láminas deben ser enviadas al INS con la ficha clinicoepidemiológica de muestras del Grupo de Parasitología RNL (Anexo 12); en casos excepcionales las muestras deben ser remitidas como mínimo con un resumen de historia clínica del paciente. Cuando se trata de láminas para la EEID deben estar acompañadas del formato Resultados EEID Leishmaniasis.

6.7.3 Cultivos para leishmaniasis

Los cultivos son un método de diagnóstico de elección; son más útiles para investigaciones.

· Marcar previamente los tubos de medio de cultivo NNN modificado con los siguientes datos: Nombre completo del paciente y fecha.

· Seleccionar la lesión más reciente o de menor tiempo de evolución.

· Con las manos enguantadas realizar la limpieza, en especial la zona de los bordes, utilizando gasa impregnada en alcohol o solución salina isotónica estéril, jabón quirúrgico.

Lavar los posibles residuos de jabón con el agua destilada estéril. Si hay costra remuévala cuidadosamente.

· Colocar en las jeringas de tuberculina 0,1 ml de gentamicina 100µg/ml

· Realizar una punción en el borde de la lesión con la jeringa formando un ángulo de 45° y realizar movimientos de rotación que favorezcan el desplazamiento del material a través de la jeringa; si no se obtiene material aspire suavemente con el émbolo, (se debe obtener la linfa, la cual se evidencia al obtener líquido tisular). Se debe evitar al máximo obtener muestra sanguínea ya que dificulta la visualización del parásito, además de no ser la muestra apropiada para este procedimiento.

· Repetir el procedimiento dos veces más.

· Una vez terminado el procedimiento de la toma de aspirado, asegurarse de tener un área de esterilidad.

· Cerca al mechero, destapar un tubo de medio NNN modificado, colocar la tapa hacia arriba y flamear la boca del tubo, depositando de manera suave todo el material obtenido, desplazando el émbolo tres veces.

· Flamear la boca del tubo y la tapa, tapar y dejar el tubo en la gradilla.

Las muestras para los cultivos también se pueden obtener de biopsias de las lesiones, en ese caso se debe macerar la muestra bajo condiciones de esterilidad y luego colocarlas en el tubo con el medio NNN modificado.

Aptitud de la muestra: no son muestras aptas medios de cultivo no conservados a temperatura ambiente. Aclaración: los tubos con medio de cultivo de NNN modificado deber conservarse en refrigeración (4 a 6°C) solo antes de ser sembrados.

Los medios de cultivo deben ser enviados al INS lo más pronto posible para poder brindar al parásito todas las condiciones necesarias para su crecimiento.

Envase de la muestra: cuando se esté interesado en realizar un cultivo para leishmaniasis es necesario solicitar con anterioridad los tubos al INS, los cuales deben ser conservados en cadena de frío antes de ser sembrados. Son estos tubos los mismos remitidos al INS, una vez sembrados, verificando que están herméticamente cerrados y en lo posible sellados en la tapa con papel parafinado o cinta, a temperatura ambiente dentro de un envase de almacenamiento secundario que garantice su protección.

Identificación de la muestra: La marcación consta del nombre del paciente o código de identificación, identificación de la lesión (aplica cuando el paciente presenta más de una) y fecha. La identificación se hace con un marcador de punta delgada y cinta de enmascarar.



Figura 19. Medio de cultivo NNN para aislamiento de cepas de *Leishmania*

6.8 Muestras para cultivo de *Trypanosoma cruzi*

La muestra ideal para el cultivo de *T.cruzi* es la muestra de sangre anticoagulada con citrato de sodio, pero se puede realizar con sangre con cualquier anticoagulante. Ver muestra de sangre con anticoagulante EDTA.

6.9 Identificación de parásitos intestinales

Para la identificación de parásitos intestinales la muestra ideal es la materia fecal a la que se le realizan los siguientes procedimientos:

6.9.1 Examen macroscópico

Mediante este procedimiento observamos la consistencia, el color, olor y descripción física (donde observamos si hay sangre, moco o proglótides).

6.9.2 Examen microscópico

La muestra se monta directamente con lugol y solución salina para la observación de parásitos; también se realiza este procedimiento para las muestras procesadas por el método de concentración.

Es necesario emplear un recipiente limpio, de boca ancha, preferiblemente hermético, con el fin de conservar la humedad. Evitar el uso de recipientes de vidrio, metal o de aquellos que hayan estado almacenando sustancias como cremas, mentoles u otros, porque pueden alterar la identificación parasitaria. Es importante evitar la contaminación con agua corriente o con orina, ya que destruyen los trofozoítos.

Si la solicitud del médico corresponde a muestras seriadas, estas se deben de recolectar de ser posible día de por medio en un periodo no mayor de 10 días para completar la serie de tres muestras.

Las muestras de materia fecal a analizar deben ser recientes y en una buena cantidad, de 3 - 6 gramos.

Cuando la materia fecal tiene aspecto líquido o semilíquido, se recomienda recolectar aproximadamente 5 ml o el equivalente al volumen de una cucharada sopera. Remitir la materia fecal recién emitida al laboratorio clínico lo más rápido posible, preferiblemente dentro de los primeros treinta (30) minutos siguientes a la toma de la muestra.

La muestra debe ser recolectada antes del uso de medicamentos antiparasitarios ò de 2 a 5 días después de su administración.

Las muestras deben ser mantenidas en un lugar seco y sombreado, pero en lo posible refrigeradas (4 - 6°C).

Se deben considerar los siguientes tiempos y condiciones para el envío de muestras de materia fecal al INS:

- Menor a 24 horas: refrigeración

- Mayor a 24 horas: preservar en formol al 10%, MIF (Mertiolate - Iodo - Formol), fijador de Shaudinn, alcohol polivinílico (APV).

Los preservantes mantienen intactas las estructuras parasitarias para su posterior análisis, trabajo docente o confirmación diagnóstica. La proporción de uso debe ser en lo posible una (1) parte de heces por cada tres (3) partes de fijador (aproximadamente el volumen final no debe exceder la mitad del volumen del fijador). No debe estar mezclado con orina u otro líquido.

Se puede hacer la elección dependiendo de la forma parasitaria que se va a buscar:

Preservante	Forma parasitaria
Formol al 10%	Quistes-huevos-larvas
Solución de MIF (mertiolate-iodo-formol)	Quistes-huevos-larvas
Fijador de Shaudinn	Quistes-trofozoitos
Alcohol polivinilico (APV)	Quistes-trofozoitos

Ventajas y desventajas de los preservantes:

Preservante	Ventajas	Desventajas
Formol al 10%	<p>Fijador de uso múltiple, fácil preparación Vida útil larga</p> <p>Buena preservación de la morfología de huevos de helmintos, larvas, quistes de protozoarios y/o quistes de coccidios</p> <p>Conveniente para procedimientos UV de fluorescencia</p> <p>Conveniente para coloraciones como ZN y cromotrope</p> <p>Compatible con los kits de inmunoensayo</p>	<p>No conveniente para coloración tricrómica</p> <p>Preservación inadecuada de la morfología de los trofozoitos</p> <p>Puede interferir con PCR</p>
Solución de MIF (mertiolate-iodo- formol)	<p>los componentes fijan y colorean</p> <p>Fácil preparación</p> <p>Vida útil larga</p> <p>Útil para las encuestas en campo</p> <p>Conveniente para procedimientos de concentración</p>	<p>No conveniente para coloración tricrómica</p> <p>Preservación inadecuada de la morfología de los trofozoitos</p> <p>Yodo: interfiere con coloraciones y fluorescencia</p> <p>Yodo: puede causar distorsión de protozoos</p>
PVA (alcohol polivinílico)	<p>Buena preservación de la morfología de trofozoitos y quistes</p> <p>Se obtienen buenas preparaciones permanentes coloreadas con tricrómica (la solución preserva organismos y hace que se adhieran a las láminas)</p> <p>Muestras estables por muchos meses</p>	<p>Inadecuada preservación de morfología de huevos de helmintos, larvas, coccidios, y microsporidias</p> <p>Contiene cloruro de mercurio</p> <p>No conveniente para métodos de concentración</p> <p>No se puede usar para técnicas de inmunoensayo</p> <p>No conveniente para coloraciones de ZN y cromotrope</p>
Fijador de Shaudinn	<p>Buena preservación de la morfología de trofozoitos y quistes</p> <p>Fácil elaboración de preparados permanentes</p>	<p>Poco conveniente para procedimientos de concentración</p> <p>Contiene cloruro de mercurio</p> <p>Inadecuada preservación de la morfología de huevos de helmintos, larvas, coccidios y microsporidias</p> <p>Adherencia pobre de especímenes líquidos o mucoides a las láminas</p>

Aptitud de la muestra: son consideradas como no aptas las muestras mezcladas con orina, agua y tierra, las muestras no mantenidas en cadena de frío, muestras expuestas al aire, muestras recolectadas en recipientes sin tapa.

Envase de la muestra: se deben recolectar en un lugar seco y limpio, en un recipiente o contenedor de boca ancha, con tapa de rosca, limpio, seco a prueba de derrames.

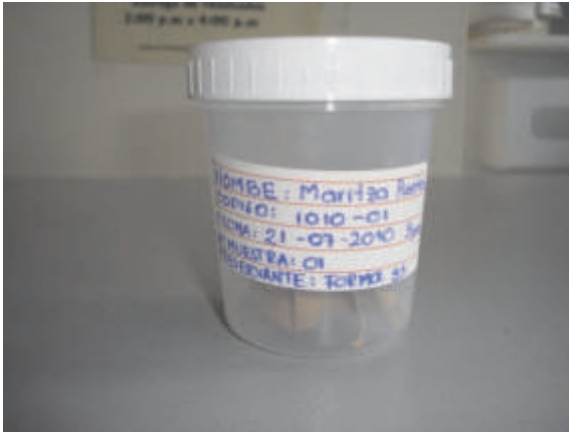


Figura 20. Muestra de materia fecal



El grupo de patología se encarga de procesar muestras de origen humano y de otras especies, obtenidos a través de biopsia, material quirúrgico o autopsia, con el fin de realizar diagnósticos que conduzcan a un tratamiento o a la toma de acciones de prevención y control de enfermedades de interés en salud pública, y definidos por el Ministerio de la Protección Social; de igual manera, en cumplimiento de los Decretos 2323 y 3518 de 2006, y del código sanitario nacional - ley 9ª de 1979; estudia los siguientes eventos:

- Fiebre amarilla
- Hepatitis fulminante
- Dengue hemorrágico
- Encefalitis virales: rabia
- Micobacterias: lepra, tuberculosis pulmonar y extrapulmonar
- Leishmaniasis cutánea, mucocutánea y visceral
- Estudio de autopsia en casos de mortalidad por malaria complicada
- Estudio de autopsia en casos de enfermedad de Chagas en fase aguda
- Agentes causantes de eventos pandémicos, particularmente influenza
- Posibles eventos relacionados con el uso de biológicos para la prevención y control de eventos de interés público - ESAVI.

La solicitud de estudios de anatomía patológica debe ir acompañada de la información suficiente para garantizar la elaboración de registros completos y facilitar la realización de una correlación clinicopatológica adecuada. Esta solicitud debe incluir siempre los siguientes datos:

- Nombre del paciente.
- Fecha de envío de la muestra.
- Edad y sexo.
- Tipo de muestra y procedimiento realizado.
- Procedencia (nombre de la institución remitente con dirección y teléfono) y nombre legible del médico remitente.
- Resumen de historia clínica y tiempo de evolución.
- Resultado de estudios paraclínicos de laboratorio o radiología pertinentes.
- Impresiones diagnósticas clínicas.
- Tipo de fijador o medio de transporte en el que se envía la muestra

Algunas situaciones clínicas ameritan el envío de datos más específicos (ficha epidemiológica); tal es el caso de la solicitud de estudio histopatológico para lepra, fiebre amarilla, dengue, leishmaniasis, rabia, hepatitis, y otras entidades.

7.1 Manejo inicial de muestras para estudios histopatológicos

Las muestras de tejido como biopsias o especímenes quirúrgicos deben ser manejadas cuidadosamente, con el fin de evitar la ocurrencia de artificios que interfieran en el análisis microscópico; para ello deben tomarse en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Deben evitarse las maniobras de pinzamiento que determinan la aparición de artificios morfológicos por compresión, que dificultan el estudio microscópico
- Las muestras para estudio de microscopía óptica convencionales deben ser colocadas inmediatamente después de su obtención en la solución fijadora con el fin de evitar la aparición de cambios por autólisis que dificultan el estudio. La proporción adecuada para una óptima preservación tisular es de 10 volúmenes de fijador por volumen de tejido (10:1).

7.2 Fijadores para estudios histopatológicos de rutina

Las soluciones fijadoras tienen como finalidad estabilizar la estructura de los tejidos para garantizar su adecuado estudio morfológico. El más utilizado en histopatología, es el formol tamponado neutro al 10% (pH 7.2 – 7.4) que permite garantizar una preservación morfológica y antigénica satisfactorias.

Se prepara a partir de presentaciones comerciales de formol (formalina) cuya concentración corresponde a una solución de formol al 37% o 40%.

Preparación:

Formalina (formol 37%-40 %)	100 ml
Fosfato monobásico de sodio	4,0 g
Fosfato bibásico de sodio (anhidro)	6.5 g
Agua destilada	900 ml

7.3 Recipientes para envío de muestras

La selección de los recipientes para envío de muestras para estudios histopatológicos debe hacerse siguiendo las siguientes recomendaciones:

- Pueden utilizarse recipientes de plástico translúcido o de color blanco, con boca ancha para facilitar la posterior extracción de las muestras.
- Se recomienda utilizar tapas de plástico o de caucho que cierre herméticamente.
- Las muestras deben ser debidamente identificadas con rótulos adhesivos en los que consten los siguientes datos: Fecha, nombre del paciente, institución remitente, número de historia clínica, población de origen y el tipo de espécimen enviado.

7.4 Muestras en fresco

El envío de muestras en fresco para aislamiento microbiológico se remite al respectivo laboratorio (Microbiología, Virología, Parasitología) de acuerdo con los requerimientos que garanticen la preservación de los especímenes, refrigeradas (hielo), en sistemas de triple embalaje.

Para muestras pequeñas el tejido puede colocarse en un recipiente de vidrio o plástico con solución salina; para muestras de mayor tamaño el tejido debe envolverse en gasas empapadas en solución salina y colocadas en bolsa plástica (ver anexo – empaque y transporte de muestras procedimiento integral para gestión de una muestra posiblemente contaminada con microorganismos peligrosos).

7.5 Especímenes de autopsia

Las muestras de tejido de autopsia deben ser representativas de todos los órganos, los fragmentos de tejidos no deben tener un espesor mayor de 1 cm para garantizar su adecuada fijación. Todas las muestras se pueden colocar en el mismo recipiente con formol tamponado neutro para su estudio histopatológico.

En caso de requerir estudios microbiológicos, cultivos, aislamiento viral, serología, etc., las muestras como punción-aspirado, fragmento de órgano o contenido de una cavidad deben tomarse y remitirse en condiciones apropiadas que impidan la contaminación del material y del personal que realiza el procedimiento (ver anexo sobre empaque y transporte de muestras procedimiento integral para gestión de una muestra posiblemente contaminada con microorganismos peligrosos).

Los especímenes de autopsia deben incluir resumen completo de la historia clínica, la descripción externa del cuerpo y de las cavidades craneal, torácica, abdominal y pélvica, así como una descripción detallada del aspecto de los órganos y de ser posible fotografías de los órganos lesionados.

7.6 Técnica de viscerotomía: en caso de muerte probable por fiebre amarilla (Decreto 1693 de 1979):

La viscerotomía o “biopsia hepática postmortem” es un procedimiento mediante el cual se extrae del cadáver un fragmento de hígado para estudio microscópico. Es una alternativa de la autopsia, pero si esta se puede realizar es el procedimiento recomendado.

La toma de la muestra se debe realizar lo más cerca posible después de la muerte, preferiblemente dentro de las primeras 8 horas. Pasadas 12 o más horas se hace más difícil la realización del diagnóstico.

Técnica:

Para hacer la toma de las muestras se debe disponer de los siguientes elementos:

- Cuchillo pequeño cortante, bisturí o cuchillas de bisturí
- Frasco con formol al 10% para fijar el tejido hepático obtenido
- Seda y aguja de sutura para cerrar la incisión practicada o algodón para taponar la incisión
- Jabón y agua para bañarse las manos

- Guantes quirúrgicos
- Contenedores para desechos biológicos

Procedimiento:

a) Realice la viscerotomía sin la presencia de familiares del difunto.

Localice el reborde costal inferior derecho

b) Practique una incisión de unos 7 cm de larga, paralela a este reborde y que interese la piel, el tejido celular subcutáneo, el músculo y el peritoneo, es decir, que llegue hasta la cavidad peritoneal.

c) Localice e identifique el hígado. Corte un fragmento de tejido de 2 x 1 cm, extráigalo e introdúzcalo en el frasco con el fijador (formol tamponado neutro al 10%).

d) Cierre la herida mediante sutura o con un tapón de algodón

e) Deseche la cuchilla utilizada y lávese las manos con agua y jabón.



8.1 Muestras de sangre / suero

8.1.1 Análisis de metales

Muestra y alcance del ensayo

Muestras de sangre total/suero de origen humano, destinadas al análisis de metales (Al, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Hg, Na, Ni, Pb, Se, Te, o Zn) mediante espectrofotometría de absorción atómica para la atención de emergencias, servicios de diagnóstico o proyectos de investigación.

Envase y preservante

Para el análisis de trazas de los diferentes metales se deben utilizar rigurosamente los tubos que se especifican a continuación:

Metal(es)	Anticoagulante	Tubo
Aluminio	Heparina (de litio o sodio)	Plástico, Corning® (verde)
Calcio, magnesio	Heparina (de litio o sodio)	Plástico, Corning® (verde)
Sodio	Heparina de litio	Verde
Potasio	Heparina de litio	Verde
Litio	Heparina sódica o EDTA	Verde/violeta
Cd, Cu, Fe, Mn, Hg, Ni, Pb, Se, Te, Zn	EDTA* o Heparina	Violeta/ verde

EDTA (ácido etilen-diamino-tetra-acético). Las sales de sodio y potasio de este ácido se comportan como poderosos anticoagulantes y son la elección para el trabajo de rutina en hematología (se utiliza al 10%). Utilizar 0.05ml por cada 3ml de muestra de sangre.

8.1.2 Análisis de plaguicidas (*Inhibición de acetilcolinesterasa*)

Muestra y alcance del ensayo

Muestras de sangre total de origen humano para evaluar la actividad de acetilcolinesterasa en personas con riesgo de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos (AChE).

Envase y preservante

Usar preferiblemente tubos al vacío tipo Vacutainer® o equivalente, con heparina de litio o de sodio como anticoagulante (Tubo verde). También se puede utilizar una jeringa desechable previamente impregnada con heparina de sodio o litio (5000 UI/ml).

Condiciones para toma y envío

Si las muestras no pueden ser remitidas al laboratorio el mismo día de la toma, deben mantenerse refrigeradas (4°C aproximadamente) hasta el momento del envío. No congelarlas para evitar la hemólisis de los glóbulos rojos. Enviarlas considerando que el análisis debe realizarse dentro de las 24 horas a partir de su toma.

Documentos para el envío de muestras

Cuando las muestras corresponden a un caso de intoxicación, enviar un resumen de historia clínica que incluya: edad, sexo, signos y síntomas, tiempo transcurrido entre ingestión o exposición al tóxico (plaguicidas organofosforados y carbamatos) y la aparición de los primeros síntomas, nombre de las sustancias sospechosas, diagnóstico de impresión y tratamiento efectuado hasta la toma de muestra de sangre.

8.1.3 Análisis de genotoxicidad

Muestra y alcance del ensayo

Muestras de sangre total de origen humano para evaluar el potencial genotóxico de sustancias químicas por medio del Ensayo del Cometa y la Prueba de Micro núcleos.

Envase y preservante

Tubo al vacío con heparina 0,1%, para toma de 5 ml de sangre total. Todo envase o material en contacto con la muestra debe estar en condiciones de esterilidad. Se recomienda recolectar la muestra mediante técnica cerrada, usando tubos al vacío con heparina de litio o de sodio como anticoagulante. También se puede utilizar una jeringa desechable, previamente impregnada con heparina de sodio o litio (5000 UI/ml); basta con humedecer las paredes y el émbolo de la jeringa y desechar luego el excedente del anticoagulante.

Condiciones para toma y envío

El paciente no requiere estar en ayunas. Las muestras deben ser refrigeradas inmediatamente hasta su procesamiento. El análisis se debe realizar dentro de las 24 horas a partir de la toma de la muestra. La muestra no debe ser expuesta al aire, ni a la luz solar, no se debe dejar en contacto directo con el hielo, ni ser golpeada y evitar al máximo su agitación.

8.2 Orina

8.2.1 Análisis de metales

Muestra y alcance del ensayo

Muestra de orina de 24 horas, destinada para el análisis de As, Cd, Hg, Tl, o Pb, mediante espectrofotometría de absorción atómica para la atención de emergencias, servicios de diagnóstico o proyectos de investigación.

Envase y preservante

Para el análisis de As, Hg, Na, Tl, Pb, utilizar frascos de vidrio plástico con boca ancha y tapa de rosca con capacidad de 2.5 L. Para análisis de Cd, utilizar frascos de plástico con las demás características mencionadas arriba. Mantener refrigerada la muestra durante la recolección y transporte al laboratorio. No se requiere la adición de ningún preservante.

Lavar previamente el recipiente con detergente y agua destilada, purgar con HNO₃ 1:1 y enjuagar finalmente con agua desionizada.

Identificación de la muestra

Adherir un rótulo que incluya el nombre del paciente, fecha, hora de inicio y fin de la recolección y el (los) metal(s) a determinar.

Bioseguridad

El arsénico, el mercurio y el talio son altamente tóxicos, por lo que se debe evitar la inhalación de vapores y el contacto con manos y cara; en estos casos se requiere el uso de los elementos de protección indicados cuando manipule los recipientes con las muestras.

Elementos de protección personal

Utilizar guantes de látex, careta para vapores inorgánicos y bata de laboratorio.

Personal que recolecta la muestra

Las muestras deben ser obtenidas por el paciente bajo indicaciones dadas por el personal clínico competente de las Secretarías de Salud o del laboratorio de Salud Ambiental. Adicionalmente, el profesional que tome las muestras debe diligenciar junto con el paciente la “Encuesta de exposición a metales”.

Condiciones para toma y envío

Recomendar al paciente ingerir poco líquido el día anterior a la recolección de la orina. Dar instrucciones claras para que la muestra sea obtenida en condiciones de asepsia.

Es recomendable y práctico iniciar la recolección programada en las primeras horas de la mañana (7 - 8 a.m.)

Descartar la primera micción y anotar la hora en una etiqueta en el recipiente, junto con el nombre del paciente, el análisis solicitado, y la hora en que debe terminar la recolección (24 h después).

Después de esta evacuación, recolectar en el recipiente toda la orina excretada durante las siguientes 24 horas, incluyendo la primera micción de la mañana siguiente, que debe ser lo más cercana posible al término del período de recolección y se anota la hora.

Es importante disponer de suficientes recipientes con los preservativos indicados (cuando se requieran) y refrigerar cada muestra a 2-6°C tan pronto se obtenga.

La orina de 24 horas garantiza que la variación fisiológica no va a sesgar el resultado. La orina de una micción no es aconsejable por ser poco representativa.

Conservar la muestra refrigerada durante el tiempo de la recolección y transporte al laboratorio. Tapar herméticamente.

8.2.2 Análisis de no metales

Análisis de flúor

Muestra y alcance del ensayo

Muestra de orina de 24 horas, destinada únicamente para el análisis de flúor mediante la técnica de Electrodo de Ion Específico; para la atención de emergencias, servicios de diagnóstico o proyectos de investigación.

Envase y preservante

Utilizar frasco de plástico con boca ancha y tapa de rosca con capacidad de 2.5 L.

Adicionar aproximadamente 0.2 g de EDTA o 0.2 g de timol al frasco lavado previamente, (como se indico en el literal 8.2.1.2).

NOTA: Las demás condiciones son idénticas a las aplicadas para las muestras destinadas al análisis de metales en orina de la sección inmediatamente anterior.

8.3 Pelo/uñas (Metales)

Muestra y alcance del ensayo

Muestra de pelo/uñas de origen humano, destinada únicamente para el análisis de mercurio (Hg), arsénico (As) o plomo (Pb), mediante espectrofotometría de absorción atómica para la atención de emergencias, servicios de diagnóstico o proyectos de investigación.

Envase de la muestra

Para pelo, utilizar preferiblemente hoja de papel o cartón y sobre de papel. Para uñas, usar una bolsa plástica desinfectada con hipoclorito de sodio al 5%.

Identificación de la muestra

Para pelo, escribir en el mismo papel el nombre del paciente, la fecha en que se tomó la muestra y el número de segmentos que deben analizarse, según el caso.

Personal que recolecta la muestra

Las muestras deben ser obtenidas por personal debidamente entrenado en esta operación. Diligenciar junto con el paciente la “Encuesta de Exposición a Metales”.

Obtención y cantidad de muestra

Pelo

Se han tomado en consideración los procedimientos y recomendaciones elaborados por la Agencia Internacional de la Energía Atómica y otras instituciones.

Para la toma de muestras se requiere de un área de trabajo limpia y libre de fuentes de contaminación.

El instrumental de corte como las tijeras y el bisturí debe ser de plástico o de cuarzo, o en su defecto, de grado quirúrgico.

La región más recomendada del cuero cabelludo es la occipital y dentro de ella, el vértex posterior.

El peso de muestra requerido para la determinación de metales oscila entre 0,5 y 1,0 g en función del elemento que se va a determinar y del procedimiento analítico que será utilizado. Usualmente es suficiente 0,5 g de muestra. Antes de proceder a la toma de la muestra, se debe limpiar la tijera con acetona para eliminar todo vestigio de grasa y polvo que pudiera quedar en sus superficies de corte. De igual forma, el personal que tomará la muestra debe lavarse las manos antes de proceder a la colección o usar guantes adecuados. Evitar la utilización de talco en la preservación de éstos.

Repartir uniformemente toda la región occipital, tomar muestras de pelo en 20 ó 10 lugares diferentes mediante cortes lo más cerca posible del cuero cabelludo; se debe recoger en cada sitio de 5 a 10 hebras de pelo, respectivamente. De esta forma, al final del muestreo se contará con no menos de 100 hebras de pelo.

Colocar cada grupo de hebras de pelo tomadas en los diferentes sitios sobre una hoja de papel blanco, fijarla con una cinta adhesiva y señalar la parte de la muestra más cercana al cuero

cabelludo con “extremo proximal”.

Embalaje y remisión de la muestra: para pelo, doblar la hoja, guardarla dentro de un sobre, cerrar herméticamente y rotular. Para uñas, enviar en sobre cerrado herméticamente.

Aptitud de la muestra: además de lo estipulado en 8.3.3, la muestra será rechazada cuando no se haya identificado el extremo proximal del mechón de cabello.

8.4 Agua/sedimento

8.4.1 Metales

Muestra y alcance del ensayo

Muestras de agua tratada /cruda destinadas para el análisis de Ag, As, Ca, Cd, Cu, Cr, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, o Zn, o solución final para diálisis, exclusivamente para determinación de Al, mediante espectrofotometría de absorción atómica para la atención de emergencias, servicios de diagnóstico o proyectos de investigación.

Envase y preservante

Para análisis de aluminio, usar exclusivamente tubos de plástico (poliestireno cristalino Falcon®); para los demás metales mencionados, utilizar botella de plástico o vidrio de 1 litro, con tapa rosca de cierre hermético, previamente lavados. Se debe preservar con HNO₃ hasta pH < 2, como se indica más adelante.

Lavar previamente el material sumergiéndolo en detergente neutro por 2 horas aproximadamente, enjuagar con agua destilada, sumergirlo luego en ácido nítrico al 10 % durante 3 horas y finalmente enjuagar varias veces con agua desionizada.

Identificación de la muestra

Marque cada una de las muestras indicando fecha, punto de toma, hora y tipo de fuente. Diligencie seguidamente la “Información sobre la muestra de agua para análisis”(Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)

Bioseguridad

Evite el contacto con la piel, cara y ojos y la inhalación de vapores cuando manipule muestras de agua destinadas al análisis de mercurio, arsénico, manganeso, cadmio o plomo. Utilizar los elementos de protección adecuados.

Elementos de protección personal

Utilizar guantes de Nitrilo, bata de laboratorio y careta con filtro para vapores inorgánicos al manipular el ácido nítrico o las muestras acidificadas.

Personal que recolecta la muestra

La muestra debe ser tomada por un técnico de saneamiento o por quien tenga la competencia

técnica requerida.

Obtención y volumen de la muestra

Seleccionar el punto de toma de acuerdo con el caso y asegurarse que sea el más representativo del lugar (mangueras, grifos, salida de tanques de almacenamiento, salida del pozo o directamente de la fuente: nacedero, quebrada, otros).

Cuando se trate de un grifo, abra la salida del agua y deje que fluya durante 10 segundos aproximadamente.

En caso de agua para diálisis, se debe desconectar la línea que lleva al dializador y dejar correr el agua o solución final de diálisis también por 10 segundos.

Enjuagar 2 o 3 veces el frasco o tubo plástico con la misma calidad de agua que se va a coleccionar.

Para la determinación de aluminio, llenar el tubo con agua (ya sea de la red de distribución o de la línea del dializador) hasta 2/3 partes de su capacidad, teniendo especial cuidado de no contaminar la tapa, adicionar 30 uL de ácido nítrico concentrado y tapar herméticamente. Si lo estima necesario, puede cubrir la tapa con papel “parafilm” o similar. Para los demás metales, recoger un volumen de 500 ml e inmediatamente adicionar ácido nítrico concentrado (HNO₃) hasta pH <2. Usualmente son suficientes 1.5 ml de ácido por litro de muestra para una preservación a corto plazo. Utilizar preferiblemente ácido nítrico para análisis de trazas de metales. Para muestras turbias o con sedimentos, filtrar previamente antes de acidificar, tapar inmediatamente y asegurar un cierre hermético. Mantener hasta la fecha de envío a 4°C (no congelar).

Embalaje y remisión de la muestra

Entregar o enviar la muestra, teniendo en cuenta que no deben pasar más de 48 horas entre la recolección y la llegada al laboratorio. Cuando el lugar de la toma sea muy apartado, la muestra se debe mantener refrigerada todo el tiempo hasta su llegada al laboratorio, sin que transcurran más de tres días.

8.4.2 No metales

8.4.2.1 Análisis de flúor

Muestra y alcance del ensayo

Muestra de agua cruda / tratada destinada únicamente para el análisis de flúor mediante la técnica de Electrodo de Ion Específico; para la atención de emergencias, servicios de diagnóstico o proyectos de investigación.

Envase y preservante

Utilizar botella de plástico de 1 litro, con tapa rosca de cierre hermético, previamente lavada.

Para agua tratada con cloro, adicionar solución de arsenito de sodio al 0,5 - 5%; una gota de esta solución por cada 0.1 mg de cloro residual presente. No exceder la aplicación. El agua cruda no requiere preservante.

Mantener refrigeradas las muestras todo el tiempo

Lavar previamente el material sumergiéndolo en detergente neutro por 2 horas aproximadamente, enjuagar con agua destilada, sumergirlo luego en ácido nítrico al 10 % durante 3 horas y finalmente enjuagar varias veces con agua desionizada.

Identificación de la muestra

Marque cada una de las muestras indicando fecha, punto de toma, hora y tipo de fuente. Diligencie seguidamente la “Información sobre la muestra de agua para análisis” (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)

Personal que recolecta la muestra

La muestra debe ser tomada por un técnico de saneamiento o por quien tenga la competencia técnica requerida.

Obtención y volumen de la muestra: seleccionar el punto de toma de acuerdo con el caso y asegurarse que sea el más representativo del lugar (mangueras, grifos, salida de tanques de almacenamiento, salida de pozo o directamente de la fuente: nacedero, quebrada, otros).

Cuando se trate de un grifo, abra la salida del agua y deje que fluya durante 10 segundos aproximadamente.

Enjuagar 2 o 3 veces el frasco con la misma calidad de agua que se va a colectar.

Tomar 50 ml de muestra cada media hora hasta completar 300 ml, anotar la temperatura final del agua. Mantener hasta la fecha de envío a 4°C (no congelar).

8.4.2.2 Análisis de cianuro

Muestra y alcance del ensayo

Muestras de agua tratada /cruda destinadas exclusivamente para determinación del ion cianuro, mediante detección colorimétrica específica, para la atención de emergencias, servicios de diagnóstico o proyectos de investigación.

Envase y preservante

Utilizar un recipiente plástico de 500 ml recubierto con papel de aluminio. Como preservante se debe agregar NaOH en lentejas hasta obtener un pH mayor de 12.

Lavar previamente el material sumergiéndolo en detergente neutro por 2 horas aproximadamente, enjuagar con agua destilada, sumergirlo luego en ácido nítrico al 10 % durante 3 horas y finalmente enjuagar varias veces con agua desionizada.

Identificación de la muestra

Marque cada una de las muestras indicando fecha, punto de toma, hora y tipo de fuente. Diligencie seguidamente la “Información sobre muestra ambiental para análisis” (Consultar pagina web INS: www.ins.gov.co)

Bioseguridad

Las muestras contaminadas con cianuro son muy reactivas y potencialmente tóxicas. Por esta razón el muestreo debe realizarse empleando medidas de bioseguridad mínimas para evitar su contacto con la piel o con los ojos.

Evite el contacto con la piel, cara y ojos y la inhalación de vapores cuando manipule las muestras de agua.

Elementos de protección personal

Usar guantes de nitrilo y elementos para la protección facial y respiratoria apropiados, tales como careta con filtro para vapores inorgánicos y, si es posible, el equipo completo recomendado para la manipulación segura de muestras contaminadas con cianuro.

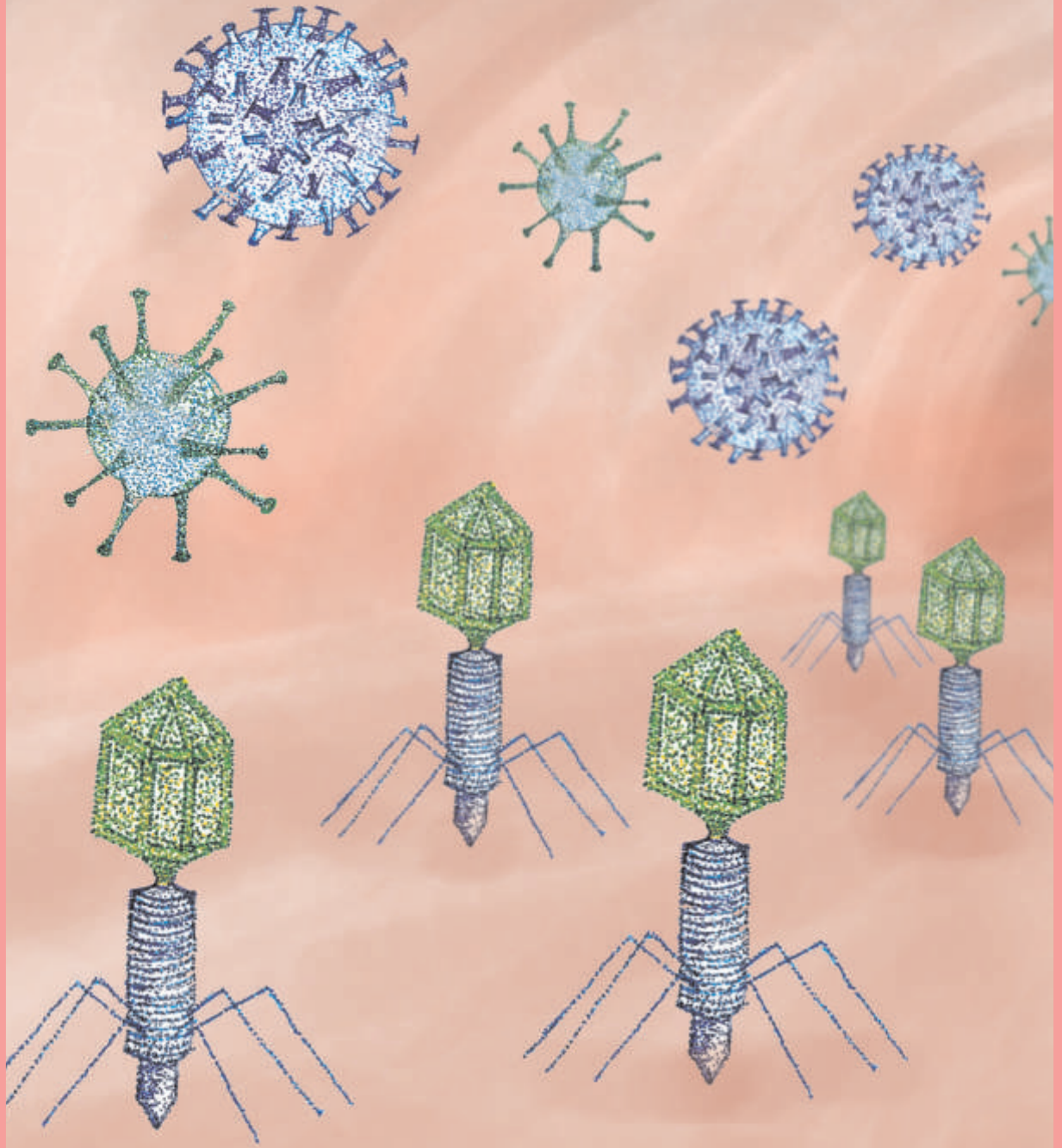
Personal que recolecta la muestra

La muestra debe ser tomada por un técnico de saneamiento o por quien tenga la competencia técnica requerida.

Obtención y volumen de la muestra: seguir el mismo procedimiento general usado para la determinación de metales en agua.

Tomar un volumen de 500 ml, añadir rápidamente el preservante, tapar herméticamente sin que quede cámara de aire y conservar a una temperatura de 6 - 8 °C. Si la muestra contiene sólidos, estos podrían reaccionar con el ión cianuro, por lo que se recomienda eliminar primero el sólido por decantación y luego si adicionar el preservante (no es conveniente filtrar porque la concentración del ión cianuro puede disminuir).

Embalaje y remisión de la muestra: debido a la inestabilidad del cianuro en agua es necesario tomar la muestra, preservarla, refrigerarla y enviarla lo más rápidamente posible para su análisis, cuidando de que no transcurra un tiempo superior a 18 horas entre la recolección y su recepción en el laboratorio en horas laborables.



El diagnóstico en virología médica exige la integración científica de elementos clínicos y epidemiológicos que acompañan cualquier enfermedad infecciosa con los datos de laboratorio clínico y microbiológico. El diagnóstico virológico puede realizarse por detección e identificación directa del agente o por la detección de la respuesta específica del huésped a la invasión viral. La recolección de las muestras debe garantizar ser representativa del proceso patológico en cuestión en el momento preciso en que se puedan detectar los elementos que se pretenden encontrar.

El requisito de contar con muestras que exhiban características determinadas para la ejecución de los ensayos de laboratorio, hace indispensable definir claramente los lineamientos específicos para las actividades de recolección y conservación durante el transporte de las mismas a las instalaciones de los laboratorios del Grupo Virología-SRNL del Instituto Nacional de Salud.

9.1 Polio /enterovirus

9.1.1 Parálisis flácida aguda y meningitis/meningoencefalitis aséptica.

La causa más frecuente de Parálisis Flácida Aguda – PFA en niños menores de 15 años es la infección con poliovirus salvaje o con poliovirus derivado de vacuna VOP (VDPD) como resultado de la lesión selectiva de las motoneuronas de los cuernos anteriores de la médula espinal y de otros núcleos motores del tronco cerebral. Otros enterovirus no polio (algunos coxsackievirus, echovirus y enterovirus 71) pueden también causar cuadros clínicamente indistinguibles de las causadas por virus polio. La poliomielitis es un evento en erradicación, notificable desde caso probable. Se debe sospechar en todos los casos de parálisis flácida aguda en menores de 15 años sin otra enfermedad de base que lo explique.

Su diagnóstico incluye las siguientes pruebas:

- Aislamiento viral: Se realiza en células RD y L20B.
- Serotipificación: Con anticuerpos específicos anti-polio 1,2 y 3.
- Genotipificación: Mediante RT-PCR y rRT-PCR.

9.1.2 Meningitis por Enterovirus no polio (ENP).

Algunos enterovirus pueden ser responsables, además de PFA, de meningitis, miocarditis, pleurodinia, conjuntivitis, entre otros.

9.1.3 Detección de anticuerpos anti-polio:

Indicado solo en estudios epidemiológicos, no tiene valor diagnóstico.

Muestras para el laboratorio: deben ser enviadas tan pronto sean recolectadas y acompañadas de la ficha de notificación epidemiológica y de un resumen de historia clínica.

Tipo de Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es enviado	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Materia fecal (5 gr) Para PFA y meningitis	Hasta 2 semanas después del inicio de los síntomas	4°C	4°C Envase plástico limpio cierre hermético, tapa de rosca.
LCR (mínimo 2 ml) Para meningitis	Hasta 5 días luego del inicio de síntomas	4°C	4°C Envase estéril con cierre hermético.
Aspirado bronquial, líquido pericardico	Hasta 5 días luego del inicio de síntomas	4°C	4°C Envase estéril con cierre hermético.

Informe de resultados: 14 días luego de la recepción de la muestra en el INS.

Riesgo Biológico Nivel 2.

9.2 Virus entéricos

9.2.1 Enfermedad Diarreica Aguda –EDA

La enfermedad diarreica aguda puede ser causada por agentes infecciosos como bacterias, parásitos y virus.

Los principales virus causantes de gastroenteritis son:

9.2.1.1 Rotavirus del grupo A: dentro de los agentes virales, el rotavirus es el más importante en términos de morbilidad y mortalidad infantil, especialmente en menores de dos años. Además de su detección es importante la identificación de los serotipos/genotipos circulantes en el país.

9.2.1.2 Norovirus, Adenovirus y Astrovirus: estos virus son también responsables de cuadros de EDA en niños y adultos jóvenes susceptibles. El Norovirus es el virus más importante en brotes de ETA (enfermedad transmitida por alimentos).

Tipo de muestra: materia fecal, sin preservantes, procedentes de pacientes humanos con enfermedad diarreica aguda (EDA) o enfermedad transmitida por alimentos (ETA).

Obtención de la muestra: las muestras de materia fecal deberán ser recolectadas dentro de los 3 primeros días luego del inicio de los síntomas. La conservación y el transporte de las muestras requiere temperatura de refrigeración (4° – 8°C). Si se requiere conservación por más de 24 horas antes de ser enviada al laboratorio, deberá congelarse a -20°C.

Volumen de la muestra: en general para la detección de estos virus se requieren 5 - 10 gramos o 5 - 10 ml de materia fecal.

Aptitud de la muestra: las muestras no identificadas en su envase primario con los datos requeridos (nombre del paciente, número de documento de identificación, edad y sexo, tipo de examen solicitado, tipo muestra y fecha de recolección) o cuya información no coincida con la consignada en la documentación adjunta, o que no están acompañadas por una carta de remisión, ficha de notificación del evento o vengan en cantidad menor a 5 gramo o a 1 ml serán rechazadas por no cumplir con las especificaciones requeridas.

Envase de la muestra: las muestras deberán ser recolectadas en envases plásticos, estériles de boca ancha y cierre hermético. Los envases primarios para el LCR deberán ser estériles, herméticos pero de boca angosta para evitar derrames y pérdidas de material.

Identificación de la muestra: las muestras deberán ser identificadas en forma clara, en tinta indeleble, en su envase primario con los siguientes datos: nombre del paciente, número de documento de identificación, edad y sexo, tipo de examen solicitado, tipo muestra y fecha de recolección.

Transporte de las muestras y bioseguridad: las muestras deberán ser transportadas siguiendo las regulaciones nacionales para el transporte por vía aérea de la Aeronáutica Civil y para el transporte por tierra, del decreto 1609 de 2002 del Ministerio de Transporte para el transporte terrestre de mercancías peligrosas que incluye el transporte de muestras biológicas clasificadas en categoría B, clase 6.2 y transportadas bajo el número UN 3373 e indicaciones de embalaje PI650, para ampliar información al respecto, se puede consultar el capítulo X del presente manual. Una vez las muestras lleguen al laboratorio, deberán ser manipuladas bajo cabina de seguridad biológica tipo 2.

Equipo de protección personal: la recolección y manipulación de estas muestras requiere de guantes, bata de laboratorio y tapabocas. Si se llegasen a presentar salpicaduras o derrames de muestras, deberán descontaminarse todas las superficies expuestas con hipoclorito de sodio en solución de 5000 ppm (0,5% o dilución 1/10 de producto comercial en agua destilada) dejando actuar el reactivo sobre las superficies por un tiempo mínimo de 15 minutos.

Personal para la recolección de las muestras: para la recolección de las muestras de materia fecal no hay especificaciones.

Documento para el envío de muestras al INS: toda muestra biológica debe venir acompañada de la ficha de notificación del evento, solicitud de examen o carta de remisión de la muestra.

Su diagnóstico incluye las siguientes pruebas:

- a. Detección de antígeno en materia fecal mediante una técnica de ELISA tipo Sándwich.
- b. Prueba rápida cromatográfica

Informe de resultados: 1 -2 días
Riesgo Biológico Nivel 2.

9.2.1.3 Identificación de genotipos G y P de rotavirus: La identificación de genotipos de rotavirus se realiza al 50% de las muestras de rotavirus positivas mediante RT-PCR semianidada y/o secuenciación de genes VP4 y VP7.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es enviado	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Materia fecal, mínimo 5 ml o 5 gr	Primeros 4 días de la gastroenteritis	4°C	4°C Envase plástico cierre hermético, tapa de rosca.

Informe de resultados: 14 días
Riesgo Biológico Nivel 2.

9.3 Virus entéricos en agua de consumo humano

Tipo de muestra: agua utilizada para el consumo humano sospechosa de ser vehículo de transmisión de virus entéricos y asociada a brote de EDA/ ETA o hepatitis A y E.

Obtención de la muestra: seleccione el o los punto(s) de toma de acuerdo con su necesidad y tratando de que sea(n) el(los) más representativo(s) del lugar (mangueras, grifos, salida de tanques de almacenamiento, salida de pozo o directamente de la fuente: nacedero, quebrada, otros). Cuando se trate de grifo, abra la salida del agua y deje que fluya durante 5 minutos aproximadamente para recolectar el agua de interés y no aquella que pudiera estar retenida. Destape el garrafón sin soltar la tapa de la mano para evitar contaminación, haga un enjuague previo, con la muestra a recolectar, envase la muestra rápidamente llenando el volumen correspondiente indicado en el garrafón (tratando de dejar entre un 3 a 5% de aire disponible), tape inmediatamente comprobando que esté bien cerrado y amarre una cubierta de papel sobre la tapa.

Volumen de la muestra: en general se requieren de 10 a 20 L de agua.

Aptitud de la muestra: las muestras no identificadas en su envase primario con los datos requeridos (punto de toma, hora y tipo de fuente, tipo de examen solicitado, tipo muestra y fecha de recolección) o cuya información no coincida con la consignada en la documentación adjunta, o que no están acompañadas por una carta de remisión, ficha de notificación del evento o vengán en cantidad menor a 10 L serán rechazadas por no cumplir con las especificaciones requeridas.

Envase de la muestra: garrafón en polipropileno boca ancha y tapa de rosca con capacidad de 20 litros o 2 garrafones de 10 litros, los garrafones deben ser esterilizados a 121°C,

15 libras de presión por 20 minutos.

Identificación de la muestra: identifique cada una de las muestras claramente con tinta indeleble, indicando fecha, punto de toma, hora y tipo de fuente. Diligencie seguidamente el formato de recolección de muestras para análisis de virus entéricos, la muestra debe ser almacenada en refrigeración (4° a 8°C).

Bioseguridad: una vez recolectadas las muestras podrán ser manipuladas bajo condiciones de bioseguridad tipo 1.

Equipo de protección personal: la recolección y manipulación de estas muestras requiere de guantes y bata de laboratorio más por protección las ropas del operario al desplazarse a los puntos de muestreo que por riesgo biológico de las muestras.

Personal para la recolección de las muestras: para la recolección de las muestras de agua no hay especificaciones, aunque se recomienda la participación de un ingeniero sanitario.

Documento para el envío de muestras al INS: toda muestra biológica debe venir acompañada de la ficha de notificación del evento, solicitud de examen o carta de remisión de la muestra.

9.4 Arbovirus

9.4.1 Dengue

Evento de control nacional. Produce el dengue clásico, la forma hemorrágica y el síndrome de choque. Los resultados de laboratorio no tienen valor para el manejo del caso agudo no complicado. El virus se distribuye en prácticamente todo el territorio nacional.

9.4.1.1 Pruebas virológicas:

a. Aislamiento viral: A partir de suero. Realizado en células AAC6/36 o VERO. Su evaluación se hace a través de Inmunofluorescencia Indirecta -IFI.

b. RT-PCR: Detecta el genoma viral en suero y en diferentes tejidos (diagnóstico post-mortem).

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es enviado	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero Tejidos	Primeros 5 días Tejido fresco	-20°C	4°C en solución salina 4°C

Informe de resultados: 20 días para Aislamiento viral y 5 días para RT-PCR

9.4.1.2 Pruebas serológicas:

a. Detección de anticuerpos IgM: Se realiza a través de un ELISA de captura comercial (PanBio) o por la técnica de Ultra Micro Elisa (Tecnosuma). Un resultado positivo se puede inferir como infección reciente o fase aguda de la enfermedad.

b. Inhibición de hemoaglutinación: Detecta IgM o IgG de forma inespecífica. Para comparar los títulos de muestras tomadas en diferentes tiempos se deben correr en paralelo dos muestras: aguda y convaleciente. El resultado se informa en 5 días.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es enviado	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero	Después del 5 día de inicio de síntomas	4°C	4°C Envase plástico cierre hermético
Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es enviado	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero	Después del 5 día de inicio de síntomas	4°C	4°C Envase plástico cierre hermético

9.4.2 Fiebre amarilla

Evento de notificación inmediata. Se sospecha cuando el individuo proviene o ha visitado zonas endémicas de fiebre amarilla sin haber recibido vacuna y además presenta fiebre, malestar general e ictericia (este último después del 5o. día de aparición de los síntomas). El diagnóstico se establece por:

9.4.2.1 Pruebas virológicas:

a. Aislamiento viral: A partir de suero. Realizado en células A6C6/36 o VERO. Su evaluación se hace a través de Inmunofluorescencia Indirecta -IFI.

b. RT-PCR: Detecta el genoma viral en suero y en diferentes tejidos.

Informe de resultados: 20 días para Aislamiento viral y 5 días para RT-PCR

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es enviado	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero Tejido Fresco (solución salina)	Fase aguda y convaleciente Postmortem	-20°C -20 °C	4°C Envase plástico cierre hermético En solución salina 4°C

9.4.2.2 Pruebas serológicas:

a. Detección de anticuerpos IgM: se realiza usando un ELISA de captura con antígeno preparado en el INS.

Muestra	Tiempo de recolección	de	Temperatura de conservación mientras es	de	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero	Después del 5 día de inicio de síntomas		4°C		4°C Envase plástico cierre hermético, tapa de rosca.

Informe de resultados: 5 días.

b. Inhibición de hemoaglutinación: detecta IgM o IgG de forma inespecífica. Para comparar los títulos de muestras tomadas en diferentes tiempos se deben correr en paralelo dos muestras: aguda y convaleciente.

Muestra	Tiempo de recolección	de	Temperatura de conservación mientras es	de	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero	Fase aguda y convaleciente		4°C		4°C Envase plástico cierre hermético.

Informe de resultados en 5 días.

Riesgo Biológico Nivel 2-3.

9.5 Encefalitis equinas (Venezolana, del Este y del Oeste).

Estos Alfa virus pueden ocasionar brotes de encefalitis de magnitud y mortalidad variable en equinos y humanos. Su estudio se realiza con propósitos, epidemiológicos, de diagnóstico e investigación. El diagnóstico se establece por:

a. Aislamiento viral: Se realiza en el período agudo de la infección y el sustrato utilizado son células Vero, obtenidas a partir de riñón de Mono Verde Africano.

Muestra	Tiempo de recolección	de	Temperatura de conservación mientras es enviado	de	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero (de humano o equino)	Primeros 3 días		4°C		Envío <24hrs a 4°C Envío >24 hrs. -20°C
Órganos tales como encéfalo, bazo, páncreas, ganglios linfáticos, de humano ó equino fallecido	Lo más pronto posible después del fallecimiento		4°C		Envío <24hrs a 4°C Envío >24 hrs. -20°C

b. Inmunofluorescencia Indirecta: Mediante el uso de anticuerpos monoclonales se logra la identificación del virus aislado, hasta subtipo.

c. Amplificación, genotipificación y filogenia: Se hace por RT-PCR y secuenciación genómica

d. Identificación de anticuerpos: Se realiza a través de técnicas de inhibición de la hemoaglutinación, ELISA para anticuerpos IgM y por Neutralización.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación es enviado	Temperatura y condiciones de envió al laboratorio del INS
Suero agudo para Ig M	5 a 15 días pos infección	4°C	4°C Envase plástico cierre hermético
Suero convaleciente para Ig G	> 15 días	4°C	4°C Envase plástico cierre hermético

Informe de resultados: Depende del tipo de examen: hasta 28 días.

Riesgo Biológico Nivel 3

9.6 Exantémicas virales

El laboratorio apoya la vigilancia epidemiológica de sarampión, rubéola y síndrome de rubéola congénita - SRC, enmarcada en el plan de eliminación de estas enfermedades, por lo cual la confirmación de los casos tiene importancia en salud pública inmediata. Estos casos se deben notificar desde sospechosos, y se requiere ejercer todas las medidas de control de manera inmediata, incluyendo la toma de las muestras para su confirmación o descarte.

9.6.1 Sarampión

Este virus causa una enfermedad caracterizada por fiebre, erupción maculopapular y tos, coriza o conjuntivitis. Solo en raras ocasiones puede generar complicaciones como otitis, neumonía o encefalitis. El virus es altamente contagioso.

Las técnicas diagnósticas utilizadas son:

a. Detección de anticuerpos: A través de pruebas de ELISA. Se detecta principalmente IgM. También se hace detección de IgG en sueros pareados para evidenciar seroconversión.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero	Al primer contacto con el organismo de salud, hasta 30 días después del inicio de erupción	4°C	4°C En tubos o viales adecuados para transporte, hermético.
Suero 2ª muestra	12 a 15 días después de la primera muestra. Se requiere siempre que la primera muestra sea Positiva o Dudosa; o cuando la primera es negativa y el caso sigue siendo sospechoso.	4°C	4°C En tubos o viales adecuados para transporte, hermético.

Informe de resultados: máximo 4 días después de la recepción de la muestra para IgM, y 10 días para IgG.

b. Aislamiento viral: Se realiza en células B95 o VERO. Este suele ser difícil por cuanto la aparición del exantema implica usualmente formación de anticuerpos, de allí que el tiempo oportuno para la toma de la muestra para aislamiento sea tan corto. La muestra para aislamiento no reemplaza la muestra de suero para detección de anticuerpos.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es enviado	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Hisopado nasal o faringeo / Orina	Primeros 5 días después del inicio de la erupción	4°C	4°C El sedimento de la orina y el producto del hisopado (el escobillón se retira) deben estar en medio de transporte viral

c. Titulación de anticuerpos neutralizantes: Se utilizan las mismas muestras de suero que se describen anteriormente para la detección de anticuerpos. Se realiza esta prueba en casos especiales con fuerte sospecha de infección reciente por sarampión, ya que esta prueba permite detectar anticuerpos mucho más específicos que los detectados en las pruebas de ELISA. Se realiza la titulación mediante Neutralización del virus en cultivo celular.

d. RT-PCR: se realiza a partir de aislamientos virales positivos, para confirmar la presencia de virus Sarampión.

El protocolo de vigilancia del evento puede ser consultado en: Eventos en Eliminación en la página web del INS, con la siguiente ruta electrónica: www.ins.gov.co/vcsp/protocolos

Riesgo Biológico Nivel 2

9.6.2 Rubéola

Este virus causa una enfermedad febril exantemática caracterizada por la aparición de adenopatías, que puede ir acompañada también de tos, coriza o conjuntivitis. Muchas

infecciones pueden cursar asintomáticas o con sintomatología inespecífica.

Este virus también tiene importancia como causante del síndrome de rubéola congénita, causado por la infección de una mujer en gestación que transmite el virus al feto, causando anomalías de diferentes tipos y grados de severidad dependiendo de la edad gestacional en que se presente la infección.

Las técnicas diagnósticas utilizadas son:

a. Detección de anticuerpos para casos sospechosos de Rubéola: A través de pruebas de ELISA. Se detecta principalmente IgM. También se hace detección de IgG en sueros pareados para evidenciar seroconversión.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero	Al primer contacto con el organismo de salud, hasta 30 días después del inicio de erupción	4°C	4°C En tubos o viales adecuados para transporte, hermético.
Suero 2ª muestra	12 a 15 días después de la primera muestra. Se requiere siempre que la primera muestra sea Positiva o Dudosa; o cuando la primera es negativa y el caso sigue siendo sospechoso.	4°C	4°C En tubos o viales adecuados para transporte, hermético.

Informe de resultados: máximo 4 días después de la recepción de la muestra para IgM, y 10 días para IgG.

b. Detección de anticuerpos para casos sospechosos de SRC: A través de pruebas de ELISA. Se detecta principalmente IgM. También se hace detección de IgG en sueros pareados para evidenciar si hay aumento en el título de anticuerpos.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Suero	Al primer contacto con el organismo de salud.	4°C	4°C En tubos o viales adecuados para transporte, hermético.
Suero 2ª muestra	1 mes después de la primera muestra. Se requiere siempre que la primera muestra sea Positiva o Dudosa. Es posible que se necesite una tercera muestra.	4°C	4°C En tubos o viales adecuados para transporte, hermético.

Informe de resultados: máximo 4 días después de la recepción de la muestra para IgM, y 10 días para IgG.

c. Aislamiento viral e Inmunofluorescencia: El aislamiento se realiza en células VERO. En los casos de Rubéola suele ser difícil por cuanto la aparición del exantema implica usualmente formación de anticuerpos, de allí que el tiempo oportuno para la toma de la muestra para aislamiento sea tan corto. La muestra para aislamiento no reemplaza la muestra de suero para detección de anticuerpos. En los casos de SRC los niños excretan el virus durante varios meses, así que es más probable lograr el aislamiento.

La inmunofluorescencia permite detectar el virus de Rubéola después de realizar el aislamiento en células.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es enviado	Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Hisopado nasal o faringeo / Orina	Casos sospechosos de Rubéola: Primeros 5 días después del inicio de la erupción Casos de SRC: en el momento de captación del caso.	4°C	4°C El sedimento de la orina y el producto del hisopado (el escobillón se retira) deben estar en medio de transporte viral

Informe de resultados: máximo 14 días después de la recepción de la muestra
Riesgo Biológico Nivel 2

d. RT-PCR: se realiza a partir de aislamientos virales positivos, para confirmar la presencia de virus Rubéola.

9.7 Virus de inmunodeficiencia humano (VIH)

El VIH es responsable del Síndrome de Inmunodeficiencia Humano (SIDA). La infección por VIH puede ser detectada por realización de pruebas voluntarias, por detección accidental por banco de sangre o por tamizaje a mujeres embarazadas. El diagnóstico se hace a través de la detección de anticuerpos.

ELISA: es una prueba cualitativa o semicuantitativa que permite la detección de anticuerpos, en promedio 3 semanas después de adquirida la infección. Detecta HIV-1 y HIV-2. Pacientes en estadios terminales pueden dar falsos negativos. Para reportarse como positiva requiere la confirmación por Western blot. Requiere de consejería apropiada.

Muestra	Tiempo de recolección de	Temperatura de conservación de	Temperatura y condiciones de envío al Laboratorio del INS
Plasma, Suero o (sangre total para prueba rápida)	Desde el inicio de los síntomas o con pruebas de tamizaje reactivas.	Primera semana a 4°C Más de una semana congelación (-20°C).	Refrigeración y envase con cierre hermético. Adjuntar historia clínica y resultados previos reactivos por ELISA.

Informe de resultados en 15 días hábiles (3 semanas)

Prueba de confirmación

a. Western Blot: Técnica confirmatoria que se basa en la búsqueda de anticuerpos contra bandas de proteínas recombinantes de VIH. Solo se realiza a muestras con dos resultados de ELISA reactivos. Los resultados indeterminados por Western Blot requieren un estudio posterior entre 3 y 6 meses según la evaluación clínica y factores de riesgo del paciente. Requiere, como en la prueba anterior, de consejería apropiada al paciente.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras se envía	Temperatura y condiciones de envío
Suero, plasma o sangre total	Tres meses después de sospecharse infección con el virus	4°C	4°C Envase plástico, selle hermético

Informe de resultados en 15 días hábiles (3 semanas)

Riesgo Biológico Nivel 2

9.8 Rabia

Virus responsable de encefalitis rábica, asociada a la mordedura de animales infectados (perros, gatos, vampiros, etc.). Las muestras de especies ganaderas y silvestres se envían al Instituto Colombiano Agropecuario -ICA (Tel 3686827/30).

Diagnóstico: el diagnóstico en muestras humanas y pequeñas mascotas (perros, gatos, hámster, etc.) se realiza en el Instituto Nacional de Salud - INS, por detección de antígeno en tejido encefálico por técnicas de inmunofluorescencia directa y prueba biológica por inoculación en ratón.

Muestra	Tiempo de recolección de	Temperatura de conservación mientras es remitido	Temperatura y condiciones de envío
Cerebro	Lo más pronto después de fallecer	4°C	La muestra debe ser embalada en triple empaque a 4°C en nevera de icopor sellada y debidamente marcada.

9.8.1 *Titulación de Anticuerpos*: indicado para personas o animales vacunados en los cuales se quiere investigar la concentración de anticuerpos antirrábicos neutralizantes. Se realiza por técnicas de ELISA. Esta prueba no se utiliza para diagnosticar infección rábica, por lo tanto no tiene utilidad clínica en el paciente sospechoso de encefalitis rábica.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es remitido	Temperatura y condiciones de envío
Suero	En cualquier momento	4°C	La muestra debe ser embalada en triple empaque a 4°C en nevera de icopor sellada y debidamente marcada.

Informe de resultado en: 12- 15 días.

9.8.2 *Tipificación viral*: Tiene como objetivo determinar las variantes antigénicas y genéticas de los virus que circulan en país como sistema de vigilancia. Se realiza por técnicas de biología molecular (tipificación genética) y por técnicas serológicas con anticuerpos monoclonales (tipificación antigénica).

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación mientras es remitido	Temperatura y condiciones de envío
Cerebro	Lo más pronto después de fallecer	4°C	La muestra debe ser embalada en triple empaque a 4°C en nevera de icopor sellada y debidamente marcada.

Informe de resultado en: 28 días.

Riesgo Biológico Nivel 3

9.9 Virus de hepatitis

Las hepatitis virales se caracterizan por producir un cuadro clínico de fiebre, malestar, anorexia, ictericia, hepatomegalia y elevación de transaminasas y bilirrubinas.

9.9.1 Hepatitis A

Puede ser asintomático o presentarse como hepatitis aguda. Ocurre en individuos no vacunados generalmente niños y jóvenes. Transmisión oral.

a. Detección de IgM: A través de técnica de ELISA. Su detección confirma el caso de hepatitis A aguda.

b. Detección de antígeno viral por RT-PCR: en algunos casos pueden confirmarse por esta técnica.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación	Temperatura y condiciones de envío al Laboratorio del INS
Plasma o Suero	Desde el inicio de los síntomas hasta 4 a 6 semanas después.	Primera semana a 4°C Más de una semana congelación (-20°C).	Refrigeración y envase con cierre hermético.

Informe de resultados en 5 días.

Riesgo Biológico Nivel 2

9.9.2 Hepatitis B

Puede ser asintomática, o presentarse como hepatitis aguda o crónica (en un bajo porcentaje). En nuestro país, áreas de la Costa Atlántica, Sierra Nevada y el Amazonas son endémicos. Se confirma a través de la detección de antígenos o anticuerpos:

a. Antígeno de superficie (HBsAg): Es el primer marcador en aparecer. Su presencia indica un mayor riesgo de transmisión del virus a las personas expuestas. Se encuentra en pacientes con hepatitis aguda y/o hepatitis crónica. En algunas ocasiones hay presencia del antígeno sin otra evidencia de actividad viral, por lo que se considera un portador de HBsAg. En estos casos se hace necesaria su confirmación por neutralización o por PCR.

b. Anti -Core IgM (Anti- HBc-IgM): Junto con el HBs-Ag, es el marcador específico de la infección aguda.

c. Anti- Core IgG (Anti- HBc-IgG): Es marcador de infección por hepatitis B en el pasado. No discrimina entre enfermedad activa o crónica.

d. Anti- HBsAg (Anticuerpos contra HBsAg): Es marcador de desarrollo de inmunidad protectora. Se presenta en pacientes que tuvieron un episodio ya resuelto o en los vacunados.

Muestra	Tiempo de recolección	Temperatura de conservación	Temperatura y condiciones de envío al Laboratorio del INS
Plasma o Suero	Desde el inicio de los síntomas	Primera semana a 4°C Más de una semana congelación (-20°C).	Refrigeración y envase con cierre hermético.

Informe de resultados en 5 días luego de la recepción de la muestra.

Riesgo Biológico Nivel 2

9.9.3 Hepatitis C

Se presenta como consecuencia de transfusiones. Su confirmación se basa en la detección de anticuerpos anti Hepatitis C. Pacientes positivos o con tratamiento, deben ser evaluados con PCR cualitativa o cuantitativa.

a. *ELISA*: Detecta anticuerpos totales contra hepatitis C. Se usa para tamizaje. Sus resultados deben ser confirmados con la prueba RIBA. Falsos negativos pueden suceder en pacientes con infección por VIH, crioglobulinemia y falla renal crónica.

b. *RIBA*: Ensayo con proteínas recombinantes de mayor especificidad que el ELISA. Confirma el diagnóstico.

Muestra	Tiempo de recolección	de Temperatura de conservación	de Temperatura y condiciones de envío al Laboratorio del INS
Plasma o Suero	Desde el inicio de los síntomas	Primera semana a 4°C Más de una semana congelación (-20°C).	Refrigeración y envase con cierre hermético.

Informe de resultados en 1 semana.

Riesgo Biológico Nivel 2

9.9.4 Hepatitis D

Se presenta en pacientes con hepatitis B aguda como coinfección o sobre infección en pacientes con hepatitis B crónica.

Muestra	Tiempo de recolección	de Temperatura de conservación	de Temperatura y condiciones de envío al Laboratorio del INS
Plasma o Suero	Desde el inicio de los síntomas	Primera semana a 4°C Más de una semana congelación (-20°C).	Refrigeración y envase con cierre hermético.

Informe de resultados en 1 semana.

Riesgo Biológico Nivel 2

9.10 Virus respiratorios

En esta categoría se incluyen virus de varias familias que tienen en común producir patología de las vías respiratorias bajas. Pueden ser parte del estudio de pacientes con bronquiolititis, laringotraqueitis, CRUP (se caracteriza por obstrucción laríngea) y neumonía.

Detección de antígenos: Se realiza a través de Inmunofluorescencia indirecta sobre la muestra enviada detectando antígenos virales (panel respiratorio), identificación para siete (7) virus respiratorios: Influenza A y B, Virus Sincitial Respiratorio (VSR), Adenovirus y Parainfluenza 1, 2 y 3.

Informe de resultados en 15 días.

a. Aislamiento viral: Se realiza en líneas celulares susceptible de infección por virus de Influenza y Adenovirus

b. Diagnostico molecular: Se realiza a través de RT – PCR en tiempo real.

Tipo de Muestra	Tiempo de recolección	de Temperatura de conservación mientras es enviado	de Temperatura y condiciones de envío al laboratorio del INS
Hisopado faríngeo, aspirado nasofaríngeo, aspirado bronquial o lavado broncoalveolar (BAL)	Muestra obtenida dentro de los 5 días del inicio de los síntomas	4°C (refrigeración) mínimo por 48 horas -70°C conservación durante meses	4°C

Riesgo Biológico Nivel 2

Nota: En casos probables para virus de Influenza A fallecidos remitir al INS fragmentos de tejido de aproximadamente 2cmx3cm de pulmones, bronquios, tráquea y/o glotis en solución salina estéril refrigerados (4°C) con contramuestra para el Grupo de Patología en formol tamponado a 10%.

9.10.1 Influenza

Responsable de cuadros respiratorios que van desde infección asintomática hasta neumonía. En Colombia ha circulado el virus de Influenza A estacional subtipo H1N1 y H3N2; este último identificado en el mayor número de casos.

- a. Aislamiento viral: En línea celular MDCK (células de riñón canino).
- b. Detección de antígenos por inmunofluorescencia indirecta (panel respiratorio).
- c. Diagnóstico molecular por RT – PCR en tiempo real para el virus de Influenza A estacional (Flu A H1/estacional, Flu A H3/ estacional), el virus de Influenza A de origen pandémico y el virus de Influenza B.

9.10.2 Parainfluenza 1, 2 y 3

Parainfluenza tipo 1 y 2 responsables de laringotraqueobronquitis. Parainfluenza tipo 3 puede producir bronquilitis y bronconeumonía.

- a. Detección de antígenos por inmunofluorescencia indirecta (panel respiratorio).

9.10.3 Virus Sincitial Respiratorio

Responsable de la mayor parte de los casos de bronquiolitis y ocasionalmente laringotraqueitis. Afecta principalmente a los recién nacidos.

- a. Aislamiento viral: En línea celular Hep-2 (células de laringe humana).
- b. Detección de antígenos por inmunofluorescencia indirecta (panel respiratorio).

9.10.4 Adenovirus

Enfermedad respiratoria aguda responsable de cuadros respiratorios bajos como bronquiolitis y en casos graves neumonías fatales.

- a. Aislamiento viral: En línea celular H292 (células de carcinoma pulmonar).
- b. Detección de antígenos por inmunofluorescencia indirecta (panel respiratorio).

10. Transporte de muestras y sustancias infecciosas



El objetivo de este apartado es orientar, facilitar y describir a todo el personal que manipule, remita, transporte, reciba, norme, vigile o controle en la cadena de transporte de sustancias infecciosas y muestras (Mercancías peligrosas de la clase 6, División 6.2), los aspectos técnicos para su remisión y transporte, cumpliendo con la reglamentación nacional e internacional establecida para el transporte por vía aérea y terrestre, procurando controlar aquellas variables que puedan alterar la estabilidad e integridad de la muestra, minimizando el riesgo y la posibilidad de resultar infectado como consecuencia de la exposición a sustancias infecciosas durante el transporte de estos materiales, teniendo en cuenta los requisitos técnicos y de seguridad.

Los lineamientos descritos en esta sección son requisitos legales, adoptados por Colombia, del Reglamento Modelo de las Naciones Unidas relativo al transporte de mercancías peligrosas, que cumplen con criterios de la clase 6, división 6.2 “Sustancias Infecciosas”, que incluye la mayoría de las muestras y especímenes que se remiten al INS; mercancías peligrosas de la clase 9 “Misceláneos”, para el hielo seco (anexo 1), de la clase 2, “Gases”, para el nitrógeno líquido y aquellos que no clasifican como mercancías peligrosas, pero que igual deben cumplir con algunos requisitos técnicos para el embalaje.

Específicamente para el transporte por vía aérea se debe cumplir con los Reglamentos Aeronáuticos de Colombia, RAC, partes 10 y 17, publicados en la página web de la Unidad Administrativa Especial de la Aeronáutica Civil www.aerocivil.gov.co y el Documento OACI 9284, Instrucciones Técnicas para el Transporte sin Riesgos de Mercancías Peligrosas por Vía Aérea.

10.1 Responsabilidades del expedidor, destinatario y operador

10.1.1 Expedidor, remitente o consignador

- Coordinar con el destinatario los detalles del envío con anticipación.
- Asegurar la cadena de frío de las muestras o especímenes diagnósticos de acuerdo con sus especificaciones de almacenamiento.
- Preparar el envío de las muestras teniendo en cuenta las especificaciones técnicas del presente procedimiento.
- Preparar y adjuntar la documentación requerida para el envío de las muestras y la solicitud para el traslado de las mismas, en caso de envíos por vía aérea.
- Coordinar con el transportador los detalles del envío (horarios), para garantizar que se acepte el envío y se realice por la ruta más directa.
- Notificar al destinatario los detalles del envío para garantizar personal para la recepción o la recogida de las muestras, en caso de ser necesario.

El responsable del envío de las muestras velará porque el bulto (la cava o nevera o embalaje) este correctamente sellado y embalado de acuerdo con las indicaciones del presente manual y se harán responsables por el contenido del paquete con su firma.

10.1.2 Destinatario o consignatario

- Coordinar los detalles para la recepción de las muestras o especímenes diagnósticos. Notificar al remitente la recepción del paquete.

10.1.3 Operador o transportador

- Ayudar al remitente a concertar la ruta más directa para el transporte.
- Custodiar y mantener la documentación relativa a la expedición y el transporte de las muestras.
- Coordinar al interior de la empresa los procesos de cargue y descargue de las muestras para su traslado inmediato.
- Trasladar las muestras desde su origen hasta su destino final en condiciones de seguridad.

10.2 Contenido

10.2.1 Clasificación de sustancias infecciosas

10.2.1.1 Sustancia infecciosa de categoría A: una sustancia infecciosa que se transporta en una forma que, al exponerse a ella, es capaz de causar una incapacidad permanente, poner en peligro la vida o constituir una enfermedad mortal para seres humanos o animales previamente sanos. En esta categoría pueden encontrarse: Sustancia infecciosa que afecta a los seres humanos adscrita al N° UN 2814, o Sustancia infecciosa que afecta únicamente a los animales, adscrita al N° UN 2900. En el anexo No.2 se muestra un listado de algunos ejemplos de esta clase de sustancias infecciosas en la Reglamentación Modelo de Naciones Unidas (Libro Naranja) versión vigente.

10.2.1.2 Sustancia biológica de categoría B: una sustancia infecciosa que no cumple los criterios para su inclusión en la categoría A. Las muestras de origen humano y animal enviadas para diagnóstico, confirmación, vigilancia por el laboratorio de EISP, estudio de brotes y emergencias en salud pública, la investigación en salud pública, y vigilancia sanitaria, cumplen con los criterios para ser incluidas en esta categoría, excepto las excluidas explícitamente (véase: “muestra de seres humanos y animales exentas”). El nombre oficial para el transporte de estas muestras es “Sustancia Biológica, Categoría B” y están adscritas al No. UN 3373.

10.2.2 Muestras de seres humanos y animales exentas:

Las muestras de seres humanos o animales (muestras de pacientes) que presenten un riesgo mínimo de contener agentes patógenos o de la cual se ha emitido un juicio profesional informado, basado en el historial médico conocido, los síntomas y circunstancias particulares de la fuente, humana o animal, y las condiciones locales endémicas que determine que es mínima la probabilidad de que haya presencia de agentes patógenos, en cuyo caso están sujetas a las disposiciones pertinentes para “muestra humana exenta” o “muestra animal exenta”.

10.2.3 Embalaje/embasado

Sustancias biológicas, categoría B: se aplica el sistema de embalaje/embasado triple o triple embalaje; para el transporte aéreo no se permite que el recipiente primario tenga un contenido mayor que 1 L (litro) y el embalaje/envase exterior no debe contener más de 4 L (litros) para líquidos, excepto si contiene partes del cuerpo, órganos o cuerpos enteros, el embalaje/envase exterior no debe contener más de 4 kg (para sólidos).

Estas cantidades excluyen el hielo, el hielo seco, pilas de refrigeración, geles refrigerantes o el nitrógeno líquido u otro refrigerante cuando se utilizan para mantener las muestras frías.

Esta instrucción se aplica al N° UN 3373, en aviones de pasajeros y de carga o en aviones de carga solamente.

Los embalajes/envases deberán ser de buena calidad, suficientemente fuertes como para resistir los choques y las cargas que pueden producirse normalmente durante el transporte, incluido el trasbordo entre distintas unidades de transporte y entre unidades de transporte y bodegas. Los embalajes/envases deberán estar fabricados y cerrados de forma que en las condiciones normales de transporte, no se produzcan mermas o pérdidas debidas a vibraciones o a cambios de temperatura, de humedad o de presión.

A continuación se señalan los requisitos de embalaje/embasado para el envío de las sustancias biológicas, categoría B.

El embalaje/envase deberá comprender los tres elementos siguientes:

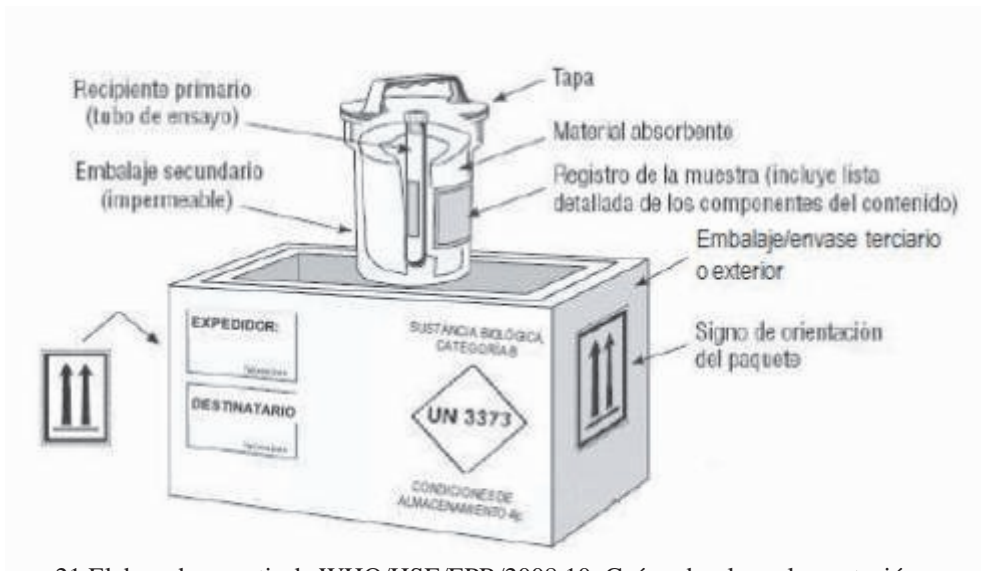


Figura 21 Elaborado a partir de WHO/HSE/EPR/2008.10, Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2009–2010. Organización Mundial de la Salud.

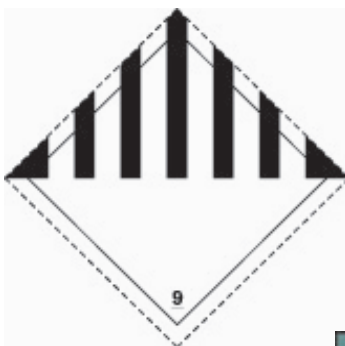


Figura 22 Etiqueta para hielo seco



Figura 23. Etiqueta de peligro para nitrógeno líquido



Figura 24. Etiqueta nitrógeno líquido para criógenos

10.2.4 Documentación para el envío

La documentación que acompaña las muestras o especímenes debe estar en letra legible y completamente diligenciada:

- *Guia*: contrato de transporte o factura en la que se indican: la dirección, nombre y cédula o NIT del expedidor (remitente) y del destinatario, el número de paquetes y la descripción de su contenido, indicando su peso y valor

- *Carta del expedidor*: (remitente), en papel con membrete, en donde se hace la solicitud formal para el traslado del paquete, en el que se informa: la mercancía que se está transportando, de acuerdo con la clasificación de Naciones Unidas, cantidad (hace referencia a la cantidad neta de la muestra), embalaje utilizado (sistema de embalaje/ensado triple), conservante utilizado en caso de que aplique (hielo, formol, alcohol, etc.), uso final (diagnóstico, confirmación, vigilancia, etc.); en el mismo oficio se hará constar que el envío no contiene sustancias ilícitas y que la forma como están embaladas/ensadas no constituyen un riesgo físico o biológico para la vida de los pasajeros, la tripulación o el personal que los manipule o transporte y que no ofrecen riesgo para la operación aérea; adicionalmente se darán indicaciones para la manipulación y almacenamiento del paquete y en constancia se firmará con el nombre y número de cedula del coordinador del laboratorio de salud pública o quien haga sus veces. (Ver anexo 3: Modelo de la carta del expedidor).

-*Los paquetes* deben remitirse a nombre de Central de Muestras de la Subdirección Red Nacional de Laboratorios del INS. Dirección: Avenida Calle 26 No. 51 – 20, Zona 6 CAN Teléfono: 2207700 en Bogotá, D.C

-*Oficio de remisión* de las muestras que indica el contenido del paquete, dirigido al grupo de laboratorio que realizará los análisis.

-*Historia clínica del paciente* (si aplica para el tipo de muestra), en los formatos establecidos para el análisis solicitado, para cada una de las muestras, definidos por los Grupos de la Subdirección de la Red Nacional de Laboratorios. (consulta electrónica: ruta de navegación página www.ins.gov.co Menú de navegación: Subdirecciones, Vínculo: Red Nacional de Laboratorios y seleccionar el Grupo de interés)

-*Ficha epidemiológica* (cuando aplique) o datos complementarios de recolección del espécimen o muestra (consulta electrónica, ruta de navegación: Página www.ins.gov.co Menú de navegación: Subdirecciones Vínculo: Red Nacional de Laboratorios o Vigilancia y Control en Salud Pública y seleccionar el grupo de interés)

-*Otros*: dependiendo de la muestra o espécimen diagnóstico, se puede requerir información adicional como acta de los puntos de recolección de la muestra, mapas, consentimiento informado, registros de cadena de custodia, etc

El sobre con la solicitud del análisis o remisión, historia clínica, ficha epidemiológica, u otro tipo de documento complementario debe ir sellado, protegido por una bolsa plástica y pegado por fuera del paquete, en la parte superior del embalaje exterior o sobreembalaje, con el fin de evitar daño o pérdida de la información y dirigirla al laboratorio que procesará las muestras, sin necesidad de abrir el paquete por personal ajeno al envío.

10.2.5 Recomendaciones especiales para el envío de muestras al INS:

Las sustancias biológicas de la categoría B deben ser enviadas al INS por correo expreso o prioritario (el mismo día, hasta donde sea posible), a nombre de Central de Muestras de la Subdirección Red Nacional de Laboratorios (SRNL) del INS.

Todas las muestras enviadas para los fines descritos en el presente manual, deben ser declaradas en la carta del expedidor, dirigida al operador (empresa transportadora), tal como se indica en el literal 10.2.5 “documentación para el envío”; en caso contrario, se tomará como una mercancía oculta, constituyéndose en un delito por parte del remitente (expedidor).

Para asegurar la confiabilidad de los resultados y evitar posibles desviaciones de los mismos por condiciones previas al procesamiento de las muestras, verifique con anticipación las condiciones técnicas adecuadas para la preparación del paciente, toma, preparación, separación, almacenamiento y transporte de las muestras con el laboratorio que realizará el análisis en el INS.

Para el envío de muestras en casos de emergencia o desastre, apoyo a la investigación de brotes y epidemias de enfermedades transmisibles en fase de emergencia, contingencia y mantenimiento, tenga en cuenta los horarios de los terminales de carga aérea de la ciudad de destino.

Para facilitar la recepción de los paquetes en las terminales aéreas por parte del personal del INS que está a cargo de la disponibilidad en el momento del envío, estos deben remitirse a nombre de Central de Muestras, Subdirección Red Nacional de Laboratorios del INS, y notificar los detalles del envío como: número de guía, operador (empresa de carga), hora de envío y hora de llegada, para concertar la recogida de las muestras, únicamente en los casos mencionados en el párrafo anterior.

10.2.6 Procedimiento en caso de rupturas, fugas o derrames

En caso de exposición a cualquier sustancia objeto de la presente circular se debe lavar la zona afectada lo antes posible con agua y jabón o desinfectar con una solución antiséptica, Consultar a un médico siempre que se sospeche la exposición a sustancias infecciosas por un paquete que presente daño o alteración evidente.

El siguiente procedimiento de limpieza puede utilizarse para derrames con sustancias biológicas, categoría B y exentas:

1. Utilizar elementos de protección personal como: guantes, respirador contra riesgo biológico, ropa de protección y protección facial y ocular, en caso de emergencia (derrames, rupturas y fugas).
2. Cubrir el derrame con un paño o con toallas de papel para que no se extienda.
3. Vertir un desinfectante adecuado sobre el paño o las toallas de papel y la zona circundante, en los derrames producidos en aviones deben usarse desinfectantes de amonio cuaternario.
4. Aplicar el desinfectante comenzando por la parte exterior de la zona afectada por el derrame y avanzar de forma concéntrica hacia el centro.
5. Transcurridos unos 30 minutos, retirar los materiales. Si hay vidrio roto u otros objetos punzantes, recoger los materiales con un recogedor o un trozo de cartón rígido y depositarlos en un envase resistente a las perforaciones para su eliminación.
6. Limpiar y desinfectar la zona afectada por el derrame (en caso necesario, repetir los pasos 2 a 5).
7. Eliminar los materiales contaminados, incluido el equipo de protección personal desechable en doble bolsa roja y depositarlos en un envase adecuado para la eliminación de estos desechos, los cuales deben ser entregados a la ruta sanitaria para su tratamiento y disposición final.
8. Tras la desinfección efectiva, notificar el incidente a la autoridad competente e informe de que el lugar ha sido descontaminado.

Anexos

904	INSTRUCCIÓN DE EMBALAJE 904	904
<p>El dióxido de carbono sólido (hielo seco) en bultos, cuando se presente para el transporte por vía aérea, deberá envasarse de conformidad con las condiciones generales de embalaje previstas en 4;1, en embalajes cuyos diseño y construcción permitan la salida de gas carbónico con el fin de evitar un aumento de presión que pudiera provocar la rotura del embalaje. Respecto a cada expedición, hay que hacer arreglos entre el expedidor y el explotador o explotadores, para asegurarse de que se siguen los procedimientos de seguridad en materia de ventilación. No son aplicables los requisitos correspondientes al documento de transporte de mercancías peligrosas de 5;1, siempre que se proporcione documentación alternativa por escrito que describa el contenido. La información requerida es la siguiente y debería figurar en el orden siguiente: ONU 1845 (Hielo seco o Dióxido de carbono sólido), (podrá incluirse la palabra "Clase" antes del número 9), el número de bultos y la cantidad neta de hielo seco en cada bulto. Esta información debe incluirse en la descripción de las mercancías. La masa neta del Dióxido de carbono sólido (Hielo seco) deberá marcarse en la parte exterior del bulto.</p> <p>El hielo seco que se utiliza como refrigerante para mercancías que no son peligrosas puede expedirse en un dispositivo de carga unitarizada u otro tipo de paleta preparada por un sólo expedidor siempre que éste haya hecho arreglos previos con el explotador. En tal caso, el dispositivo de carga unitarizada u otro tipo de paleta debe permitir el venteo del gas de dióxido de carbono a fin de impedir una formación de presión que resulte peligrosa. El expedidor debe proporcionar al explotador documentación escrita en que se indique la cantidad total de hielo seco contenida en el dispositivo de carga unitarizada u otro tipo de paleta.</p> <p><i>Nota.— En cuanto a las limitaciones de embarque, véase 7;2.11 y para los requisitos de marcas especiales, 5;2.4.7.</i></p>		

2.4.7 Marca especial para el hielo seco

La masa neta de anhídrido carbónico sólido (hielo seco) deberá marcarse sobre todo bulto que contenga dicha sustancia.

2.11 CARGA DE HIELO SECO

2.11.1 Cuando el hielo seco (anhídrido carbónico sólido) se expida separadamente o cuando se utilice como refrigerante de otros artículos, puede transportarse a reserva de que el explotador tome disposiciones adecuadas según el tipo de aeronave, régimen de ventilación, método de embalaje y de estiba, que se transporten o no animales en el mismo vuelo, y otros factores. El explotador debe asegurarse de que el personal de tierra esté informado de que se está cargando o se ha cargado a bordo de la aeronave determinada cantidad de hielo seco.

2.11.2 Cuando el hielo seco va contenido en un dispositivo de carga unitarizada u otro tipo de paleta preparada por un solo expedidor de acuerdo con la Instrucción de embalaje 904 y el explotador después de la aceptación agrega hielo seco adicional, éste último debe asegurarse de que la información entregada al piloto al mando refleje la cantidad de hielo seco enmendada.

Nota.— Véase la Instrucción de embalaje 904 para los arreglos entre el expedidor y el explotador.

Tomado del Documento 9284 Instrucciones Técnicas para el Transporte sin Riesgos de Mercancías Peligrosas por Vía Aérea de la Organización de Aviación Internacional (OACI) 2009 - 2010

Anexo 2

Ejemplos de sustancias infecciosas clasificadas en la categoría A
 El siguiente cuadro es una relación indicativa obtenida de la
 Reglamentación Modelo de las Naciones Unidas (versión vigente).

EJEMPLOS INDICATIVOS DE SUSTANCIAS INFECCIOSAS INCLUIDAS EN LA CATEGORÍA A, EN CUALQUIER FORMA, EXCEPTO CUANDO SE INDICA OTRA COSA	
Número UN y Designación Oficial de Transporte	Microorganismo
UN 2814: Sustancias infecciosas que afectan a los seres humanos	<i>Bacillus anthracis</i> (sólo cultivos)
	<i>Brucella abortus</i> (sólo cultivos)
	<i>Brucella melitensis</i> (sólo cultivos)
	<i>Brucella suis</i> (sólo cultivos)
	<i>Burkholderia mallei</i> – <i>Pseudomonas mallei</i> – muermo (sólo cultivos)
	<i>Burkholderia pseudomallei</i> – <i>Pseudomonas pseudomallei</i> (sólo cultivos)
	<i>Chlamydia psittaci</i> – <i>cepas aviarias</i> (sólo cultivos)
	<i>Clostridium botulinum</i> (sólo cultivos)
	<i>Coccidioides immitis</i> (sólo cultivos)
	<i>Coxiella burnetii</i> (sólo cultivos)
	Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea y el Congo
	Virus del dengue (sólo cultivos)
	Virus de la encefalitis equina oriental (sólo cultivos)
	<i>Escherichia coli</i> verotoxigénico (sólo cultivos) ¹
	Virus de Ebola
	Virus flexal
	<i>Francisella tularensis</i> (sólo cultivos)
	Virus de Guanarito
	Virus de Hantaan
	Hantavirus que causan fiebre hemorrágica con síndrome renal
	Virus de Hendra
	Virus de la hepatitis B (sólo cultivos)
	Virus del herpes B (sólo cultivos)
	Virus de la inmunodeficiencia humana (sólo cultivos)
	Virus de la gripe aviar hiperpatógena (sólo cultivos)
	Virus de la encefalitis japonesa (sólo cultivos)
	Virus de Junin
	Virus de la enfermedad de la selva de Kyasanur
	Virus de Lassa
	Virus de Machupo
Virus de Marburgo	
Virus de la viruela de los monos	

	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (sólo cultivos) ¹
	Virus de Nipah
	Virus de la fiebre hemorrágica de Omsk
	Virus de la poliomielitis (sólo cultivos)
	Virus de la rabia (sólo cultivos)
	<i>Rickettsia prowazekii</i> (sólo cultivos)
	<i>Rickettsia rickettsii</i> (sólo cultivos)
	Virus de la fiebre del valle del Rift (sólo cultivos)
	Virus de la encefalitis rusa de primavera-verano (sólo cultivos)
	Virus de Sabia
	<i>Shigella dysenteriae</i> de tipo 1 (sólo cultivos) ¹
	Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas (sólo cultivos)
	Virus variólico
	Virus de la encefalitis equina venezolana (sólo cultivos)
	Virus del Nilo Occidental (sólo cultivos)
	Virus de la fiebre amarilla (sólo cultivos)
	<i>Yersinia pestis</i> (sólo cultivos)
UN 2900: Sustancias infecciosas que afectan a los animales únicamente	Virus de la peste porcina africana (sólo cultivos)
	Paramixovirus aviar de tipo 1 – virus de la enfermedad de Newcastle velogénica (sólo cultivos)
	Virus de la peste porcina clásica (sólo cultivos)
	Virus de la fiebre aftosa (sólo cultivos)
	Virus de la dermatosis nodular (sólo cultivos)
	<i>Mycoplasma mycoides</i> – pleuroneumonía bovina contagiosa (sólo cultivos)
	Virus de la peste de los pequeños rumiantes (sólo cultivos)
	Virus de la peste bovina (sólo cultivos)
	Virus de la viruela ovina (sólo cultivos)
	Virus de la viruela caprina (sólo cultivos)
	Virus de la enfermedad vesicular porcina (sólo cultivos)
	Virus de la estomatitis vesicular (sólo cultivos)

Tomado de: WHO/HSE/EPR/2008.10 Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas

Anexo 3: carta del expedidor

PAPEL MEMBRETEADO DEL LABORATORIO QUE REMITE LA MUESTRA O ESPECÍMEN

Ciudad, Fecha

Señores

(Espacio destinado para colocar el nombre de la empresa u operador que realiza el traslado de las muestras o paquetes)

Asunto: Traslado de muestras con fines _____
(Diagnóstico, confirmación, vigilancia, estudio de emergencias, estudio de brotes, control de calidad, etc)

Respetados Señores:

Atentamente le solicitamos su colaboración para el traslado de muestras de _____ (suero, sangre, etc.) de origen (Humano, animal, medio ambiental _____) con fines de _____ (Diagnóstico, confirmación, vigilancia, estudio emergencia, estudio de brote, etc.

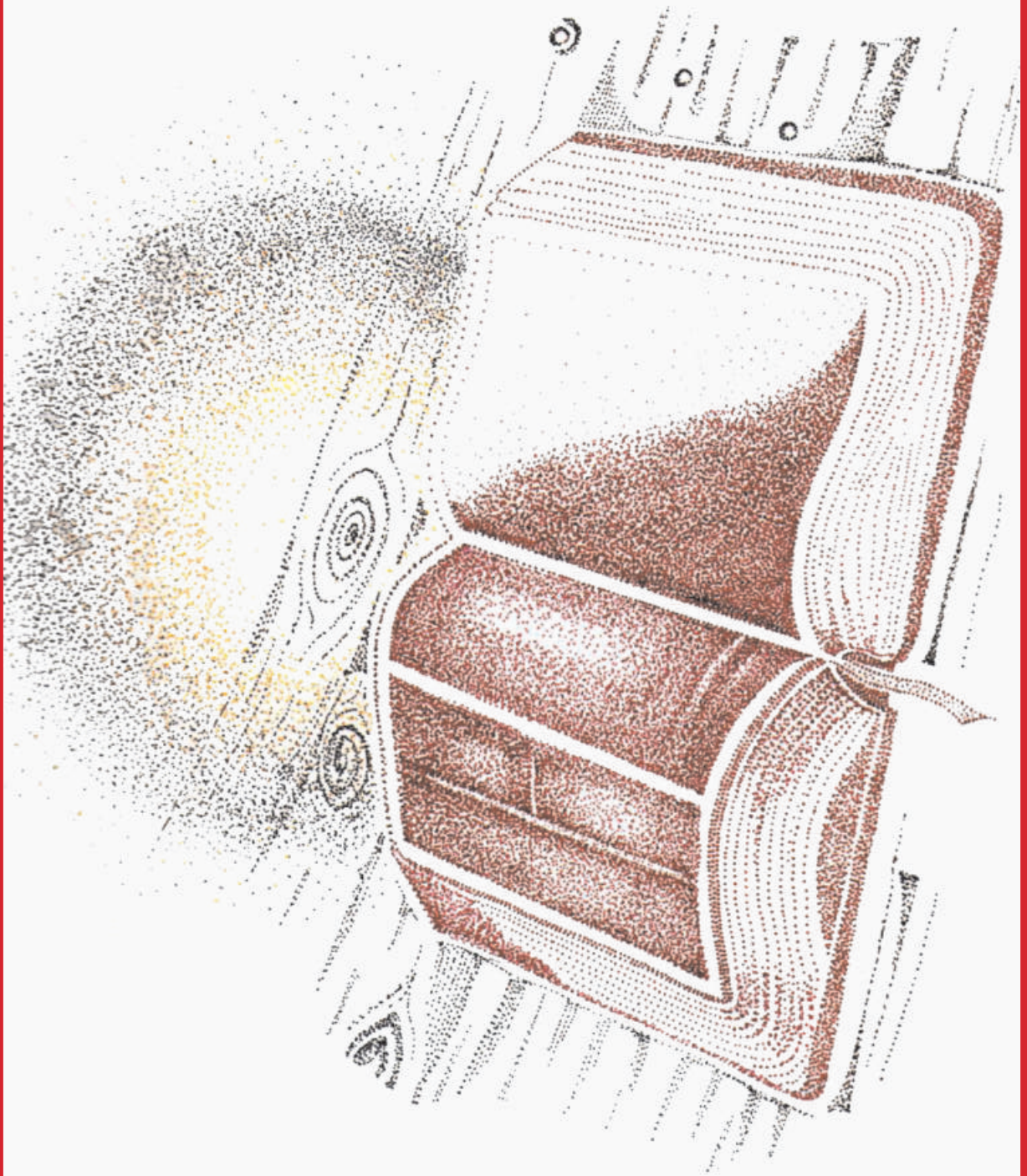
De igual manera hacemos constar que el envío no contiene sustancias ilícitas y que el sistema de triple embalaje/envase utilizado, es el adecuado para sustancias biológicas, categoría B, que no constituye un riesgo físico o biológico para la vida de los pasajeros, la tripulación o el personal que los manipula o transporta y que no ofrecen riesgo para la operación aérea.

De la misma manera solicitamos, que el paquete se manipule con cuidado y se almacene en las bodegas de carga destinadas para estas mercancías, procurando que estén asegurados los paquetes, teniendo en cuenta la orientación y condiciones de temperatura, así como que éstos paquetes sean los últimos en ingresar a bodegas y primeros en descargar en el lugar de destino.

Agradecemos de antemano la colaboración prestada,

Cordialmente,

Coordinador del Laboratorio de Salud Pública Departamental (o quien haga sus veces).



Ayala M, Cabrera O, Nicholls S, Santamaría E, Zambrano P, Valero M. (2007) Caracterización eco epidemiológica de focos de transmisión de Leishmaniasis en Colombia. Convenio Ministerio Protección Social-Instituto Nacional Salud 442 de; 2006: 20081-40.

Belkin J, Schick R, Heinemann S. Contributions of the American Entomological institute. (1965) Mosquito studies (Diptera: Culicidae) V. Mosquitoes Originally described from Middle America.;1(5).

Burgdorfer W. (1970) The hemolymph test. *Am J Trop Med Hyg*; 19: 1010-1014.

Castillo G, Díaz MC, Pica Y, Ronco A, Sobrero C, Bulus G, Feola G, Forget G, Sánchez-Bain A. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas, estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Castillo Morales Gabriela (ed.). Primera edición. México

Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente-CEPIS. Organización Panamericana de la Salud-OPS. (s.f.) Manual para el Manejo de Desechos en Establecimientos de Salud. Recuperado el 2 julio 2010, en <http://www.cepis.ops-oms.org/eswww/fulltext/repind62/guiamane/manuma.html>

Centro de control y prevención de enfermedades e Institutos Nacionales de Salud. Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina. 4 edición, Atlanta.

Cipa Group. Computer-aided identification of Phlebotominae sandflies of America. (Fecha de consulta 10 enero 2010) disponible en <http://cipa.snv.jussieu.fr/>

Day, A. (1996). Organización Panamericana de la Salud. Como escribir y publicar trabajos científicos. Segunda edición. Washington, D.C.

Dedet JP, Torrez M. (1992). Lista analítica de las variables y sus modalidades. Red Centro y Sudamericana de entomólogos especializados en flebotomos. Boletín informativo No 10;10:1-79.

Edson EF, Fenwick ML. (1955). Measurement of cholinesterase activity of whole blood. *Brit Med J*;1:1218

Escobar JP, López YL, Osorio L, González MC, Wolf MI. (1999) Procedimiento para la captura, empaque y remisión de material entomológico (Mosquitos, Lutzomyia y triatomíneos) al laboratorio de referencia. En: Manual para la vigilancia y control de vectores de malaria, dengue fiebre amarilla, leishmaniasis, enfermedad de Chagas y

encefalitis equina venezolana desde el nivel municipal. Dirección seccional de salud de Antioquia. 34-44.

Ferro C, Alexander B. (1994) Leishmaniasis. Montaje y preservación de los flebótomos. En Manual de entomología medica para investigadores de América Latina. CIDEIM. 1994;70-72.

Mudry MD, Carballo M. Genética Toxicológica. 1ª ed. Buenos Aires: De Los Cuatro Vientos, 2006. pag 221-244

Galati EAB. (2009) Phlebotominae (Díptera: Psychodidae). Classificação, morfologia e terminologia e identificação de adultos. Cartilla Bioecologia e identificação de Phlebotominae. 1:1-121.

Galati EAB. (2009) Phlebotominae (Díptera, Psychodidae). Morfologia e terminologia de adultos. Cartilla Bio-ecología e identificación de Phlebotominae;2:1-47

Galati EAB. (2009) Distribuição geográfica dos Phlebotominae (Díptera: Psychodidae) das América. Cartilla bio-ecología e identificação de Phlebotominae. 2009:1-55.

Grupo Cipa Computer-aided Identification of Phlebotomine sandflies of America-Bermudes H, Dedet JP, Falcão AL, Feliciangeli D, Ferro C, Galati EAB, Gomes EL, Herrero MV, Hervas D, Lebbe J, Morales A, Oguzuku E, Pérez E, Rangel EF, Sherlock IA, Torres M, Vignes R, Wolff M. (1991) Proposition of a standard description for Phlebotomine sand flies. Parasitologia.;33:127-135.

Guedes E, Leite R, Prata M, Pacheco M, Walker DH, Labruna M. (2005) Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. Mem Inst Oswaldo Cruz;100:841-5.

Hidalgo M, Orejuela L, Fuya P, Carrillo P, Castaneda E, Moreno J. (2006). Proyecto "Las rickettsias como agentes etiológicos de entidades febriles no diagnosticadas en Colombia". (2006) Manual de procedimientos Subdirección de Investigación. Grupo de Microbiología. COLCIENCIAS 1204-04-16332.

Instituto Nacional de Salud, Protocolo Vigilancia de las Parálisis flácida Aguda, consulta en: <http://www.ins.gov.co/?idcategoria=14123>. Colombia, versión 2009.

Instituto Nacional de Salud, Protocolo de Vigilancia de ETA, consulta en: <http://www.ins.gov.co/?idcategoria=13991>. Colombia, versión 2009.

Instituto Nacional de Salud, Protocolo de Vigilancia de EDA/rotavirus consulta en: . Colombia, versión 2009.

Instituto Nacional de Salud, Determinación de trazas de metales en muestras biológicas y ambientales, 1992.

Jeyaratnam J, Maroni M. Organophosphorous compounds. Toxicology. Health surveillance of pesticide workers. Chapter 3. Ed Elsevier, Science Ireland Ltd. 1994; 91, 15-27.

Maroli M, Feliciangeli MD, Arias J. Métodos de captura, conservación y montaje de los flebotomos (Díptera Psychodidae). Document OPS/HCP/HCT/95/97.

Ministerio de Salud, Dirección General de Promoción y Prevención. (1996). Guía. Integral de Manejo de las Enfermedades Transmitidas por Vectores: Malaria, Dengue y Leishmaniasis. Bogotá, Colombia.

Mudry, M. D., & Carballo M. A. (2006) Genética Toxicológica. (1ª Ed). Buenos Aires, Argentina: De Los Cuatro Vientos.

Olano V. Morales A. Ferro C. (1993) Manual para la toma, transporte y envío de material entomológico. Laboratorio de entomología. Instituto Nacional de Salud. Red Nacional de Laboratorios. 1-56. Nota: Esta guía es parte del manual para la toma, transporte y remisión de material entomológico que está en revisión por parte del Laboratorio de Entomología.

Organización Mundial de la Salud – OMS. PCR method for intratypic differentiation. Polio Laboratory Manual, 4 ed. 2004, p. 112-118.

Osorno E, Morales A, De Osorno F, Ferro C. (1972). Phlebotominae de Colombia (Díptera Psychodidae). IX Distribución geográfica de especies de *Brumptomyia Franca* y *Parrot*, 1921 y *Lutzomyia Franca*, 1924, encontradas en Colombia. Revista Académica Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales.;14:45-68.

Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Organización Mundial de la Salud. 2ª Ed., Ginebra, 1994.

Organización Panamericana de la Salud (2009). Curso de gestión de calidad y buenas prácticas de laboratorio. 2ª Ed., Washington D.C.

Perkin-Elmer Corporation, Analytical methods for furnace atomic absorption spectroscopy, West Germany, 1985

Protocolo de vigilancia de la leishmaniasis. Subdirección de Vigilancia y Control. Instituto Nacional de Salud. Primer semestre. 2007;1-24. Disponible en <http://ins.gov.co>

Protocolo de Vigilancia de la Salud Pública. Secretaria Distrital de Salud de Bogotá. Dirección de salud Pública. (2001). Modulo básico e introductorio. Segunda edición. 1-9.

Servicio de Salud del Principado de Asturias. Normas para la recogida de sueros, aguas y solución final de diálisis para la determinación de aluminio. Ed. 01. Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral. Hospital Central de Asturias. Oviedo, Asturias, 2004; p. 1.

Simposio Taller de leishmaniasis “Caracterización de focos en seis escenarios eco-epidemiológicos en Colombia. 2007;32-41.

Torre-Bueno J.R. de la. (1989) A glossary of Entomology. Compiled by Stephen W. Nichols publicado por The New York Entomological Society.;1-840.

Vivero RJ. (2009) Métodos de conservación, aclaración y montaje de flebotómicos (Díptera Psychodidae). Manual para el estudio e identificación de vectores de leishmaniasis.;51-57.

Young DG. A(1979) review of the bloodsucking Psychodidae flies of Colombia (Díptera: Phlebotominae and Sycoracinae). Technical Bulletin 806.;1-226.

Young DG, Duncan MA. (1994) Guide to the identification and geographic distribution of Lutzomyia sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Díptera: Psychodidae). Mem. Entomol. Inst.;54:1-881.

Zelder FH. 2008, Specific colorimetric detection of cyanide triggered by a conformational switch in vitamin B12. Inorganic Chemistry, 47:1264-1266.



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Subdirección Red Nacional de Laboratorios
Av CII 26 # 51 - 20 Zona 6 CAN
Tel: (1) 2207700 ext: 1487 - 1378

www.ins.gov.co
01 8000 113 400