



Manual de Laboratorio

(ESTE MANUAL HA SIDO UNA ADPTACION DEL MANUAL DE LABORATORIO DEL
PROYECTO CENTROAMERICANO DE FORTIFICACION DE ALIMENTOS Y OTROS
MICRONUTRIENTES COMO BIEN PÚBLICO REGIONAL)

INDICE

I. INTRODUCCION	4
II. OBJETIVO DEL MANUAL	6
III. BIOSEGURIDAD	6
A. OBJETIVOS	6
B. ASPECTOS GENERALES DE BIOSEGURIDAD. PRECAUCIONES UNIVERSALES	8
C. NORMAS BASICAS DE BIOSEGURIDAD EN LA ENMICRON	8
IV. ETAPAS DE TRABAJO DE LABORATORIO DE CAMPO	11
V. ETAPA DE PREPARACION DE LA CADENA DE FRIO	12
A. EQUIPO Y MATERIALES	12
B. CADENA DE FRIO	12
C. ESPECIFICACIONES DEL EQUIPO MANTENER LA CADENA DE FRIO	13
D. PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE LA CADENA DE FRIO	16
E. PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE MATERIAL DE CAMPO	16
VI. ETAPA DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS	17
A. MATERIALES	17
B. PROCEDIMIENTO Y TOMA DE MUESTRA DE SANGRE	
VII. ETAPA DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	
A. MATERIALES	24
B. PROCEDIMIENTO PARA PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE SANGRE EN EL CAMPO	24
C. DETERMINACION DE HEMATOCRITO Y HEMOGLOBINA	29
VIII. ETAPA DE ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS	30
A. MATERIALES	30
B. PROCEDIMIENTO PARA ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS	30
IX. ETAPA DE ENVIO DE MUESTRAS	31
A. MATERIALES	31
B. PROCEDIMIENTO DE ENVIO DE MUESTRAS AL LABORATORIO CENTRAL	31
X. OTROS MATERIALES Y EQUIPO USADOS EN EL CAMPO	33
XI. FORMATO DE ETIQUETAS DE IDENTIFICACION	34

A. IDENTIFICACION PARA TUBOS Y CRIOVIALES	34
XII INSTRUCCIONES A SEGUIR EN CASO DE ACCIDENTES	35
XIII. ANEXOS	36
1 DISEÑO DE LA COLECCIÓN DE LA INFORMACION	36
2 FORMULARIOS DE LABORATORIO	37
A. DESCARTE DE MATERIAL (FOR-LAB-01)	37
a) INSTRUCTIVO DEL FOR-LAB-01	38
B. LISTA DE VERFICACION DIARIA DE INSUMOS DE CAMPO	39
a) INSTRUCITIVO DEL FOR-LAB-02	40
C. REGISTRO DE MUESTRA DE CAMPO	41
a) INSTRUCITIVO DEL FOR-LAB-03	42
D. REGISTRO DE MUESTRAS PARA TRANSPORTAR AL LCRSP	43
a) INSTRUCITIVO DEL FOR-LAB-04	44
E. HOJA DE REGISTRO CONTRO DE TEMPERATURA	45
a) INSTRUCITIVO DEL FOR-LAB-05	46

I. INTRODUCCION

La ENSPA busca aportar información oportuna y relevante de la situación de salud existente, para actualizar el conocimiento sobre la salud-enfermedad, evaluar los programas institucionales, estableciendo de manera periódica una base científico-técnica para la toma de decisiones y el diseño de políticas públicas en materia de salud, considerando la coordinación intersectorial y participación social, y a la vez fortalecer el rol rector del MINSa en el ejercicio de las funciones exclusivas que le competen. Para el cumplimiento de la transparencia y transferencia de la información, la ENSPA será de acceso libre, de manera que la metodología y los resultados se pondrán a disposición libre en la web para su consulta, y además se podrá acceder a la base de datos tras gestionar una solicitud al MINSa que deberá ser aprobada.

Objetivos de la Encuesta Nacional de Salud de Panamá.

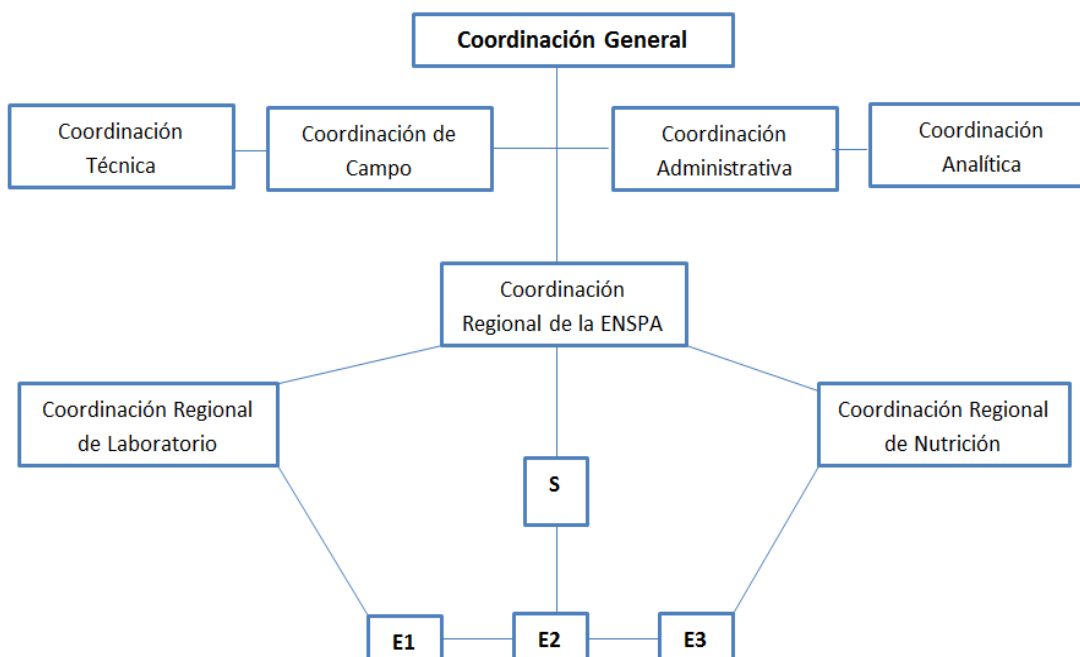
Objetivos Generales

1. Conocer la condición de salud y de enfermedad, así como sus factores protectores y de riesgos que impactan a la población residente en la República de Panamá.

Objetivos Específicos

1. Medir la percepción de la población residente en Panamá sobre su condición de salud y enfermedad.
2. Medir los factores protectores y de riesgos que inciden en la ocurrencia de las enfermedades transmisibles y crónicas.
3. Medir la prevalencia de enfermedades transmisibles y no transmisibles utilizando métodos cuali – cuantitativos y parámetros biométricos trazadores.
4. Identificar los comportamientos o estilos de vida saludables de la población residente en Panamá
5. Evaluar el estado nutricional de los diferentes grupos poblacionales.
6. Medir el nivel de actividad física de los grupos poblacionales
7. Identificar prácticas de alimentación y consumo en los diferentes grupos poblacionales.
8. Determinar los niveles de anemia, reservas de hierro, vitaminas y minerales
9. Descripción la percepción de la población sobre su salud bucal
10. Estimar el gasto de bolsillo, el acceso, uso y calidad de los servicios de salud
11. Identificar los factores socioeconómicos y culturales que afectan la condición de salud – enfermedad de la población.
12. Medir la prevalencia del embarazo en adolescentes.
13. Identificar factores del medio ambiente (físico, químico, biológico y social) relacionados a la protección o riesgo a la salud en el medio laboral, familiar, escolar y comunitario.
14. Determinar la importancia que da la población a los problemas de salud de las personas y del ambiente.
15. Identificar el uso de algunas medidas preventivas ofertadas por el sistema de salud.

El organigrama de la ENSPA es el siguiente:



S: Supervisor E: encuestador

Como resultado de esta encuesta se llevará a cabo la determinación de algunos micronutrientes a través de análisis bioquímico de las siguientes pruebas:

En niños(as): **BH, Ferritina (hierro) folato sérico y folato eritrocitario (ácido fólico), Vitamina B12, receptor de trasferina** como prueba directa, alfa glicoproteína para descartar que los niveles de hierro se deba a procesos inflamatorios (**PCR**), **retinol (vit. a) y zinc** en suero.

En mujeres (MEF): **BH, Ferritina (hierro) folato sérico y folato eritrocitario (ácido fólico), Vitamina B12, receptor de trasferina** como prueba directa, alfa glicoproteína para descartar que los niveles de hierro se deba a procesos inflamatorios (PCR). Además se determinarán valores de hemoglobina y hematocrito, para hacer correlación entre éstos valores y poder calcular adecuadamente los niveles de folato eritrocitario. **CALCIO, VIT. D**

En Adulto 20-59años y >60 años: **BH, glucosa, perfil lipídico, creatinina, micro albúmina orina y suero folatos sérico y eritrocitario, Vit B12, homocisteína**

La información obtenida de esta encuesta será utilizada por el Ministerio de Salud y Organizaciones afines para evaluar la situación actual de micronutrientes en mujeres embarazadas, en edad fértil, escolares de 6 a 12 años en niños de 6 a 59 meses de edad ,adulto y > de 60 años. Conocer la condición de salud y de enfermedad, así como sus factores protectores y de riesgos que impactan a la población residente en la República de Panamá. Con esta información el Ministerio de Salud podrá evaluar los logros alcanzados y determinar las necesidades del país por región y nivel nacional.

Según la definición, se conoce como **micronutrientes** a las sustancias que los seres vivos necesitan en pequeñas dosis, pero que son indispensables para los diferentes procesos bioquímicos y metabólicos de los organismos vivos y sin ellos se tendrá una deficiente calidad de vida o sencillamente mueren.

Los micronutrientes desempeñan importantes funciones catalizadoras en el metabolismo como cofactores enzimáticos, al formar parte de numerosas enzimas o al acompañarlas, algunos de los más importantes micronutrientes son el yodo, hierro y vitaminas A (retinol) y B12, Zinc, ácido fólico son esenciales para el crecimiento físico, desarrollo de funciones cognitivas y fisiológicas y resistencia a infecciones y no siempre necesitan ser aportados diariamente. Las vitaminas A y D o la B12, pueden almacenarse en el hígado para cubrir las necesidades de por lo menos un año.

El METABOLISMO (del griego *metabolé*, cambio) es el conjunto de reacciones químicas que efectúan constantemente las células de los seres vivos con el fin de sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o degradar aquéllas para obtener éstas. Lógicamente el Síndrome Metabólico no se refiere a todo el metabolismo implicado en nuestras células, pero se denomina así porque, en efecto, es un mal derivado de mecanismos diversos y complejos de este tipo

Buena parte de la población actual mayor de cincuenta años sufre tres problemas de salud conjuntamente: obesidad-colesterol, diabetes e hipertensión; lo que desemboca en la arterioesclerosis, el infarto de miocardio, la angina de pecho u otros problemas derivados de la oclusión arterial, como el "ictus" (accidente cerebrovascular, también conocido como embolia o trombosis, aunque éstos son dos tipos distintos de ictus).

DEFINICIONES DE LAS PRUEBAS Y SU IMPORTANCIA

El **hierro**, elemento importante en el transporte de oxígeno y en el proceso de respiración celular. La deficiencia de hierro se manifiesta por anemia, en la cual los glóbulos rojos tienen un menor contenido de hemoglobina y son pálidos, la sangre tiene menos capacidad para transportar oxígeno, hay palidez en la piel, fatiga, dolor de cabeza, cansancio. Las mejores fuentes de hierro son las carnes rojas, el pollo, pescado, huevos, leguminosas y mezcla de vegetales. La absorción de hierro es más eficaz con vitamina C, B12 y ácido fólico.

RECEPTOR DE TRASFERRINA: La transferrina es la proteína transportadora específica del hierro en el plasma

La función principal de la transferrina, como ya se dijo, es la de unir estrechamente el hierro en forma férrica, además de unir a otros metales. La transferrina es sintetizada en el sistema retículo endotelial (S.R.E.), pero principalmente en el hígado. Tiene una vida media de 8 a 10 días y se encuentra en el plasma saturado con hierro en una tercera parte normalmente.

El hierro que se absorbe en los alimentos, es transportado en la sangre por la transferrina y almacenado en ferritina, para ser utilizado en la síntesis de citocromos, de enzimas y otras proteínas que contienen hierro como la mioglobina y la hemoglobina y utilizada por la médula ósea para la eritropoyesis.

En la anemia de las enfermedades crónicas, el hierro y la capacidad de unión a él son menores, como lo es también el porcentaje de saturación de transferrina; en dichos casos las concentraciones bajas de hierro en el suero son causadas por la disminución en la movilización del mineral de las células reticuloendoteliales al plasma. Los valores

bajos de la transferrina pueden deberse a una mayor degradación y no a disminución de su síntesis.

La **vitamina A o Retinol**, ayuda al mantenimiento de dientes sanos, tejidos blandos y óseos, desarrollo de buena visión especialmente en luz tenue, Ayuda a prevenir infecciones. Se encuentra en la leche, carne, huevos, frutas y verduras de color amarillo intenso o verde oscuro como zanahoria, espinaca, lechuga, mango y papaya. Su deficiencia ocasiona ceguera nocturna, xeroftalmia, aumenta el riesgo de mortalidad en caso de diarrea y sarampión. Es muy sensible a la oxidación por la luz, el calor, el aire, la humedad y la acidez.

El **zinc** interviene en el metabolismo de proteínas, ácidos nucleicos y estimula la actividad de aproximadamente 100 enzimas, colabora en el buen funcionamiento del sistema inmunológico, necesario para cicatrización de heridas, interviene en percepciones del gusto, olfato y síntesis de ADN. Se encuentra en diversos alimentos como ostras, carnes rojas, aves de corral, algunos pescados y mariscos, habas y nueces. La dosis diaria recomendada es de 20 mg para adultos y algo mayor para mujeres embarazadas y lactantes. La deficiencia de zinc genera retardo en el crecimiento, pérdida del cabello, diarrea, lesiones oculares y de piel, pérdida de peso, tardanza en cicatrización de heridas.

El **ácido fólico o folato** (forma aniónica), es una vitamina hidrosoluble para la formación de proteínas estructurales y hemoglobina. Se encuentran en vísceras de animales, vegetales de hojas verdes: espinaca, acelga, arvejas, legumbres: frijol, garbanzos, lentejas, frutas secas y cereales. Se pierde durante la cocción. Se almacena en el hígado. Debe ser ingerido todo el tiempo ya que contribuye a la división celular normal. Además la ingesta de ácido fólico debe de hacerse sobre todo durante el periodo peri-concepcional ya que la mayoría de las mujeres no planea sus embarazos.

La ingesta de ácido fólico debe de hacerse antes y durante el embarazo, ya que previene problemas de espina bífida, anencefalia, deformaciones en placenta y partos prematuro. Los problemas de defectos al nacimiento se desarrollan durante los primeros 28 días de gestación pero otros problemas de desarrollo se dan durante el resto del embarazo que son prevenidas por el ácido fólico.. La deficiencia de ácido fólico también se manifiesta con el labio leporino y otros defectos al nacimiento. El ácido fólico también contribuye a la prevención de enfermedades cardiovasculares al reducir el Mutilen-tetrahidrofolato (MTHFR)

CALCIO

En el ser humano el calcio se encuentra presente en los huesos, la sangre y en la médula ósea, en donde al mezclarse con otros componentes como fósforo y potasio son parte fundamental de las células sanguíneas. Se trata por lo tanto en el elemento mineral que más abunda dentro del cuerpo de los seres vivos, en especial en el ser humano

El calcio tiene una función indispensable, para que el cuerpo humano establezca la homeostasis, (Homeostasis son los fenómenos de autorregulación que equilibran los líquidos y sustancias diversas en el cuerpo), junto con el fósforo y potasio, el calcio constituye el material de los huesos contribuyendo directamente en el buen funcionamiento del organismo.

Cabe destacar que para el organismo humano el calcio más fácil de absorber es el de la leche y sus derivados, en especial la crema, nata y mantequilla que es en donde se concentran grandes cantidades de calcio y vitaminas como la vitamina D, que es esencial para la absorción del calcio.

Según recientes investigaciones, la ingestión de calcio podría ayudar a prevenir la hipertensión gestacional y con ello muchas de las complicaciones obstétricas y neonatales que pueden presentarse. Las demandas del feto comienzan desde el primer trimestre del embarazo y que se incrementan a partir de las 26 semanas.

VITAMINA D

La vitamina D es una vitamina liposoluble que el ser humano adquiere principalmente de la exposición a la luz solar, pero que también está presente en algunos alimentos como en la grasa del pescado (especialmente el salmón), alimentos fortificados como la leche y sus derivados, cereales y jugos (Holick 2008).

Fue descubierta a principios del siglo XX tras las investigaciones de Mellanby en Inglaterra, quien sospechaba que el raquitismo era derivado de una deficiencia nutricional; la vitamina D continúa siendo estudiada como una pro-hormona que juega un papel importante en el desarrollo de huesos, músculos y control neuromuscular; en la prevención de ciertos tipos de cáncer, de la enfermedad cardiovascular, de enfermedades metabólicas como la diabetes tipo 2, en la prevención y control de enfermedades infecciosas gracias a su rol inmunomodulador, en la prevención enfermedades neurológicas y en el buen funcionamiento del sistema reproductor tanto en hombres como en mujeres (Grant and Boucher 2011).

El rol de la vitamina D durante el embarazo y la lactancia también ha sido descrito. Se sabe que la deficiencia de vitamina D está implicada en patologías como la preeclampsia, la diabetes gestacional y el riesgo de parto por cesárea (Luk, Torrealday et al. 2012). La vitamina D juega un papel importante en la regulación de la decidualización e implantación embrionaria, regula la expresión de lactógeno, la secreción de progesterona y estradiol (Barrera, Avila et al. 2008). En el feto, deficiencia de vitamina D se ha asociado con menor tiempo de gestación, bajo peso al nacer y menor crecimiento óseo intra-uterino (Lucas, Ponsonby et al. 2008).

A pesar de su disponibilidad a través de la luz solar y tal vez a causa del estilo de vida con reducida actividad al aire libre y factores ambientales como la polución, han llevado a que la deficiencia de vitamina D afecte casi al 50% de la población mundial, incluyendo personas de todas las etnias y grupos (Nair and Maseeh 2012).

Un estudio realizado por el Ministerio de Salud Panameño en colaboración con la Universidad de McGill en Canadá, la Universidad de Panamá y SENACYT, encontró en una población de mujeres embarazadas de la comunidad indígena Ngäbe-Buglé, una prevalencia de deficiencia de vitamina D del 65% (Gonzalez-Fernandez 2011). El Ministerio de Salud continúa trabajando en ésta cooperación con miras a determinar los posibles factores asociados a ésta deficiencia y a las medidas a nivel de salud pública que deban tomarse.

Tiene un papel esencial para el buen funcionamiento del organismo, ya que participa en procesos tan importantes como la absorción y el mantenimiento de los niveles de calcio, el cual, es fundamental para mantener el funcionamiento del sistema nervioso y la estructura adecuada de los huesos y los dientes.

La vitamina D interviene activamente en la absorción y metabolismo del calcio, por lo que la necesidad de esta se duplica en los 2 últimos trimestres. En países cálidos como el nuestro, la vitamina D es ampliamente proporcionada por la radiación solar

HOMOCISTEINA:

Es un aminoácido que contiene un grupo tiol, producto de la desmetilación intracelular de la metionina. Por lo tanto la homocisteina sirve como reserva que más tarde puede ser utilizado en regeneración de la metionina a través de la acción de la enzima metionina sintasa folato dependiente, como de la cisteína, utilizando la vía transulfuración B6 dependiente. La homocisteina se localiza en el plasma principalmente unido a proteínas, pero también pueden estar en formas libre, oxidada o disulfuro.

La homocisteina total (tHcy) es un importante factor predictivo en el diagnóstico actual para evaluar la enfermedad cardiovascular y ha sido identificada como un marcador para dicha enfermedad.

GLUCEMIA:

La glucosa es un hidrato de carbono que constituye la principal fuente energética del organismo. Su concentración sanguínea se mantiene a lo largo del día dentro de unos estrechos márgenes, a pesar de los cambios que se producen tras la alimentación y los episodios de ayuno;

Muchas hormonas están relacionadas con el metabolismo de la glucosa, entre ellas la insulina y el glucagón (ambos secretados por el páncreas), la adrenalina (de origen suprarrenal), los glucocorticoides y las hormonas esteroideas (secretadas por las gónadas y las glándulas suprarrenales).

La hiperglucemia es el indicador más habitual de la diabetes, que se produce como resultado de una deficiencia de insulina, en el caso de la diabetes de tipo I o una resistencia a la insulina, en el caso de la diabetes de tipo II.

HEMOGLOBINA GLICOSILADA

Este examen se utiliza para medir el control de azúcar sanguíneo en un período prolongado en individuos con diabetes mellitus. En general, entre más alto sea el nivel de hemoglobina glicosilada, mayor será el riesgo para el paciente de desarrollar complicaciones de la diabetes (enfermedad ocular, enfermedad renal, daño al nervio, enfermedad cardíaca y apoplejía).

El porcentaje de glicosilación es proporcional al tiempo y a la concentración de glucosa; en otras palabras, los glóbulos sanguíneos más viejos tendrán un mayor porcentaje HbG y los diabéticos mal controlados tendrán un mayor porcentaje de HbG.

En términos muy simples podemos decir que la **hemoglobina glicosilada, HbA1c** o simplemente **A1c**, es un examen que permite una visión en retrospectiva del control de la diabetes. Así como una glicemia capilar es una foto del momento, la A1c es la película de los últimos 3 meses aproximadamente.

Los glóbulos rojos que circulan en la sangre contienen una proteína llamada hemoglobina. La glucosa, que también circula en la sangre, tiene dentro de sus

características el poder adherirse a la hemoglobina del glóbulo rojo y así se queda con él durante su promedio de vida, que es de más o menos 90 a 120 días.

Entonces lo que hace el examen de hemoglobina glicosilada es justamente **medir la cantidad de glucosa adherida a los glóbulos rojos**. El resultado se expresa en un porcentaje (%) que finalmente indica el nivel promedio de glicemias durante el trimestre anterior a la prueba

PERFIL LIPIDICO

Un **perfil lipídico**, también denominado **lipidograma** y **perfil de riesgo coronario**, es un grupo de pruebas o exámenes diagnósticos de laboratorio clínico, solicitadas generalmente de manera conjunta, para determinar el estado del metabolismo de los lípidos corporales, comúnmente en suero sanguíneo.

COLESTEROL TOTAL es un esteroles (lípidos) que se encuentra en los tejidos corporales y en el plasma sanguíneo de los vertebrados. Se presenta en altas concentraciones en el hígado, médula espinal, páncreas y cerebro. El colesterol total en sangre es la suma del colesterol transportado en las partículas de LDL, HDL y otras lipoproteínas.

HDL COLESTEROL conocido como el Colesterol bueno, High Density Lipoprotein (HDL) o lipoproteína de alta intensidad. Actúa como desatascador, eliminando el exceso de colesterol. El HDL extrae colesterol de los tejidos periféricos y de las arterias y lo lleva al hígado para degradarse. Los niveles elevados de colesterol HDL no sólo no son malos, también pueden indicar menor **riesgo cardiovascular**. Por otro lado, los niveles bajos de HDL tampoco son considerados saludables, especialmente si el nivel de colesterol LDL es elevado, debiendo estar en una proporción equilibrada.

LDL COLESTEROL conocido como el colesterol malo, Light Density Lipoprotein (LDL) o lipoproteína de baja intensidad. Transporta las partículas de colesterol por todo el organismo. El colesterol que va transportado desde el hígado a los tejidos se le llama LDL, el exceso de colesterol LDL se acumula en las paredes arteriales y termina endureciendo y estrechando las arterias, fenómeno denominado arterosclerosis.

COLESTEROL VLDL Very Light Density Lipoprotein (VLDL) o lipoproteína de muy baja intensidad. Este tipo de lipoproteína lleva asociado el máximo de triglicéridos (otro tipo de grasa asociada a riesgo cardiovascular). Al igual que el LDL, el colesterol VLDL **es malo porque también se asocia al estrechamiento de las arterias**.

TRIGLICÉRIDOS

Los triglicéridos son el principal tipo de grasa transportado por el organismo. Cuando el organismo digiere las grasas de los alimentos, libera las unidades sencillas en forma de triglicéridos a la sangre. Estos son transportados a todo el organismo para dar energía o para ser almacenados como grasa. El hígado también produce triglicéridos y cambia algunos a colesterol, especialmente cuando la dieta es muy calórica.

El valor normal de triglicéridos en sangre es de 150 mg/dL (100 mg/dL para quienes sufren problemas cardíacos), un nivel elevado puede llegar a ser peligroso al asociarse con **pancreatitis o diabetes**.

CREATININA

La **creatinina** es un compuesto orgánico generado a partir de la degradación de la creatina (que es un nutriente útil para los músculos). Se trata de un producto de desecho del metabolismo normal de los músculos que habitualmente produce el cuerpo en una tasa muy constante (dependiendo de la masa de los músculos), y que normalmente filtran los riñones excretándola en la orina. La medición de la creatinina es el modo más simple de monitorizar la correcta función de los riñones.

II. OBJETIVO DEL MANUAL

ESTABLECER PROCEDIMIENTOS PARA LA TOMA, EMBALAJE Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN LAS POBLACIONES OBJETO DE LA ENCUESTA NACIONAL DE SALUD DE PANAMÁ ENSPA.

III. BIOSEGURIDAD

Bioseguridad implica una serie de medidas y normas orientadas a proteger al personal que esté en contacto con muestras de sangre, a los sujetos de estudio y al medio ambiente, quienes se pueden ver afectados como resultado de la actividad de laboratorio clínico.

A. OBJETIVOS DE BIOSEGURIDAD

1. Proteger a los miembros del equipo de trabajo de la ENSPA de posibles agentes infecciosos que se pudieran adquirir durante la toma, procesamiento y envío de muestras de sangre, por causas involuntarias o accidentes laborales.
2. Proteger a los sujetos de estudio de agentes que pudieran afectarle.
3. Proveer de conocimientos amplios y generales sobre bioseguridad que les permita efectuar una detección de riesgos y prevención de los mismos, desde su área de trabajo

Estas normas y procedimientos están dirigidos a cada integrante del equipo de trabajo de la ENSPA que tienen contacto con los sujetos de estudio y manipulan las muestras sanguíneas, es decir Químicas Biólogas y personal técnico de laboratorio.

Las normas se deben seguir en todo momento con estricto control, desde el inicio de la preparación de materiales y equipo para la identificación de vena, hasta el proceso final de desecho de material biológico y envío de las mismas hacia el laboratorio central. Serán aplicadas en cada hogar donde se realicen las pruebas, en el trabajo de campo que realicen fuera de su sede central y en la misma sede de trabajo.

Debe recordarse que las muestras son consideradas potencialmente infecto contagiosas, por lo que el seguimiento de las normas de bioseguridad son de cumplimiento obligatorio.

B. ASPECTOS GENERALES DE BIOSEGURIDAD. PRECAUCIONES UNIVERSALES.

Como precauciones universales se conoce al conjunto de técnicas y procedimientos destinados a proteger al personal que conforma el quipo de salud de las posibles infecciones con ciertos agentes, principalmente el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), Virus de la Hepatitis B (HBV), Virus de Hepatitis C (HCV) y otras enfermedades infecto contagiosas, mientras se desarrollan las actividades de atención a los pacientes, antes, durante o después del procesamiento de muestras o durante las actividades del trabajo, cuando se tenga contacto con fluidos o tejidos corporales. Para este propósito todos los miembros del equipo que estén involucrados en la toma, procesamiento y envío de sangre deberán usar el **equipo de protección personal**, que consiste en el empleo de barreras, para evitar el contacto de la piel y mucosas con los fluidos corporales. Para este efecto las precauciones universales de acuerdo al CDC y las Normas Nacionales de Bioseguridad en el manejo de material infecto contagioso, son:

1. La sangre y fluidos corporales de **todos los pacientes o sujetos de estudio** deben ser manipulados como material infeccioso.
2. Todas la muestras de sangre y fluidos corporales deben ser colocados en recipientes adecuados, con tapas de seguridad para prevenir el derrame de líquidos durante el transporte o procesamiento de las mismas
3. Todas las personas que procesan muestras de sangre o fluidos corporales deben usar guantes, y anteojos protectores
4. Las personas que procesen las muestras, deben cambiarse los guantes y lavarse las manos al terminar el procedimiento de procesamiento de muestras. Si no hay agua en el lugar de procesamiento, usarán Gel alcoholada. Un par de guantes por paciente.
5. Los trabajadores NO deben pipetear nunca con la boca, se deben usar aparatos mecánicos o aspiradores con bulbos de hule
6. Las superficies de trabajo de los laboratorios deben ser desinfectados con germicidas químicos, después de un derrame de sangre o fluido corporal y cuando se termina el trabajo del laboratorio.
7. Los materiales contaminados usados en las pruebas de laboratorio deben ser descontaminados antes de eliminarlos en bolsas de seguridad biológica, o esterilizarlos antes de volver a procesar muestras con los mismos aparatos.(o seguir las normas establecidas en cada laboratorio para el descarte de material contaminado)
8. Al terminar las actividades de trabajo, se deben quitar los guantes y descartarlos en las bolsas de seguridad biológica, lavarse las manos con jabón antiséptico y quitarse las prendas protectoras antes de salir del área de trabajo.

C. NORMAS BASICAS DE BIOSEGURIDAD EN LA ENSPA

La ENSPA establece las siguientes normas de seguridad para garantizar la protección del personal:

1. **Métodos de barrera**
 - El personal Técnico de Laboratorio Clínico deben usar bata, abotonada en todo momento (LABORATORIO REGIONAL Y CENTRAL)
 - En campo utilizar suéter con el logo establecido para la encuesta o camisa con bolsillo y su respectiva bata.

- Se debe llevar por lo menos 30 pares de guantes para su utilización por segmento visitado
- El cabello largo debe estar amarrado o sostenido en forma de colas, para no interferir en el procesamiento de las muestras ni provocar contaminación a las mismas
- Usar zapatos formales(zapatillas) es decir NO SE ACEPTA el uso de sandalias, zapatos abierto o de tela suave
- No comer, beber, fumar o llevarse los dedos, lapicero y objetos a la boca, en el área de trabajo ó mientras se procesan las muestras

2. Consideraciones para la protección personal

- Para el manejo de muestras y pacientes: todas las muestras y pacientes deben considerarse potencialmente infecciosas. Se deben lavar las manos antes y después del contacto con el paciente y el procesamiento, manejo y almacenamiento de muestras, e igualmente si se tiene contacto directo con sangre o material potencialmente infecto contagioso, por accidente (si no hay agua utilizar gel)
- Mantener el lugar de trabajo en óptimas condiciones de higiene y aseo.
- En el lugar de trabajo no debe de prepararse o consumir alimentos
- No guardar alimentos en las refrigeradoras ni equipos de refrigeración donde se guardan las muestras de sangre o sueros.
- Las condiciones de temperatura, iluminación y ventilación del área de trabajo deben ser confortables

3. Especificaciones de los elementos de protección personal ó barreras

- Guantes: Su utilizan en TODO el proceso de venopunción, manipulación de sangre. Son de uso EXCLUSIVAMENTE PERSONAL, su uso no sustituye el lavado de manos, NO SON REUTILIZABLES. Es necesario saber que los guantes NO PROTEGEN en el caso de cortaduras y pinchazos.

4. Manejo de muestras y derrames

- Las muestras se deben recolectar en recipientes sólidos, con tapadera adecuada para evitar derrames y pérdidas.
- Los cortes en manos y dedos deben ser protegidas adecuadamente con bandas adhesivas y usar guantes
- Si un recipiente conteniendo una muestra presenta evidencias de rotura o derrame ponerse guantes y pasar la muestra a un segundo recipiente, rotulándolo adecuadamente
- Los tubos de plástico con los coágulos de sangre para desecho se deben empacarse en los tanques de biodesechos (color rojo), cuidando que esté llena $\frac{3}{4}$ de su capacidad total, para su cierre hermético y seguro. Se utilizará el sistema de desecho que cada laboratorio regional o local tenga establecido como norma de bioseguridad.
- Si los tubos son de vidrio, se desecharan en el contenedor rígido, también teniendo cuidado de llenarlo hasta la medida establecida en la etiqueta del contenedor
- En el caso de derrames, colocarse guantes y poner sobre el derrame, una toalla de mayordomo impregnada en solución de cloro al 5%, recoger o absorber el derrame y limpiar nuevamente con otra toalla de la misma manera, limpiar con una tercera toalla seca y luego con una cuarta toalla seca.

5. Descarte de Material Infecto Contagioso:

- Recolectar el material infecto contagioso (jeringuillas sin aguja, guantes, algodones, gasa y empaques de agujas tipo mariposa) en bolsas de seguridad
- El material punzo cortante como las agujas de las jeringuillas, agujas tipo vacutainer y tipo mariposas, deben desecharse en contenedores de material duro y resistente con tapadera de seguridad y el logotipo de material bioinfeccioso.
- Las bolsas de bioseguridad deben llenarse hasta $\frac{3}{4}$ de su capacidad total, se deben sellar con un alambre de seguridad y además se asegurará con cinta adhesiva alrededor de dicho alambre. Serán transportados desde el lugar de recolección hasta el laboratorio regional donde se ubicarán en un espacio destinado para tal fin. Se utilizará el sistema de desecho que cada laboratorio regional o local tenga establecido.

IV. ETAPAS DE TRABAJO DE LABORATORIO DE CAMPO

ETAPAS	DESCRIPCION GENERAL
Preparación de la Cadena de Frío	Iniciando con la colocación de congelador y refrigeradora en el laboratorio sede (local o regional) introducción de bloques refrigerantes para que estén disponibles para el día siguiente y el monitoreo de la temperatura de tales aparatos con los respectivos termómetros.
Selección de la población objetivo para la extracción de sangre.	Se tomará la muestra de acuerdo a la lista que facilite la Nutricionista de acuerdo a los criterios establecidos en el Manual Operativo de la Encuesta.
Extracción de muestras sanguíneas	Esta etapa consiste en la obtención de la muestra de sangre de las MEF de 15 a 49 años , niños(as) de 6 a 59 meses, escolares 6-12 años, adultos 20-59 años y adulto >60 años de edad que cumplen con los criterios de inclusión en el estudio. Para realizar esta etapa es indispensable contar con el consentimiento informado de la mujer y/o responsable del niño(a). En general las actividades que se incluyen en esta etapa son: búsqueda y adecuación de lugar para la colocación del equipo a utilizar; preparación de la persona a quien se extraerá la muestra y extracción de la muestra propiamente, desde este momento se debe proteger la muestra de la luz
Procesamiento de muestras (Local o Regional)	Esta etapa consiste en el manejo de las muestras recolectadas(análisis de las pruebas BH, preparación y embalaje para su conservación y almacenamiento de las muestras que serán enviadas LCRSP)
Almacenamiento de muestras	Esta etapa consiste en almacenar las muestras con las especificaciones de temperatura adecuada para sueros y para sangre completa, protección de la luz y el tiempo máximo que deben permanecer las muestras en el laboratorio sede (local o regional) antes de ser enviadas al LCRSP
	Esta etapa consiste en el envío de muestras del laboratorio regional al

Envío de muestras	LCRSP Ver manual de transporte de muestra y Guía para transporte de sustancia infecciosa.
-------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------

ETAPA DE PREPARACION DE LA CADENA DE FRIO

A. EQUIPO Y MATERIALES

- Congelador
- Refrigeradora
- Contenedores(refrigerante) fríos para muestras de sangre completa
- Contenedores congelados para muestras de suero en crioviales Sede
- Bloques congelados para contenedor frío
- Hielo seco para contenedor congelado
- Termómetros (comprar los de la tablita)
- Formas de registro de datos para congelador, refrigeradora y contenedor frío.

B. CADENA DE FRIO

La cadena de frío es el proceso que asegura la correcta conservación, almacenamiento y transporte de todo tipo de muestras biológicas, desde su obtención, hasta el momento en el que se analizan.

La actividad química y biológica, por lo general es más acelerada, mientras más alta sea la temperatura. Por esta razón, al reducir la temperatura, se logra disminuir el metabolismo de las células de las muestras biológicas, incluyendo las células sanguíneas y se controla el efecto que la temperatura alta tiene sobre las sustancias cuya composición y estructura se quiere conservar.

El monitoreo continuo de la temperatura permite asegurar la integridad de las muestras durante todo el proceso y detectar posibles errores relacionados con el funcionamiento de los equipos. El monitoreo de la cadena de frío es un factor crítico que incide en los resultados que se obtendrán, por lo que se debe invertir tiempo y esfuerzo para garantizar el mejor trabajo de calidad.

El congelador, refrigeradora, contenedores fríos y contenedores congelados son utilizados para la conservación y transporte de sangre y derivados, se debe evitar abrir la tapadera o puertas de estos aparatos, por períodos largos de tiempo y así evitar la salida de aire frío y el ingreso de energía térmica y humedad. Abrir únicamente para:

1. Ingresar muestras en el campo, cada vez que obtengan una muestra,
2. Retirar muestras de suero almacenadas en el campo para ser trasladadas al congelador del laboratorio sede.

En el siguiente cuadro se describen los rangos de temperatura permitidos para mantener la cadena de frío en las diferentes circunstancias de trabajo.

Rangos de Temperatura

Equipo	TUBOS	CRIOVIALES
Contenedor Frío (Nevera) (Campo)	4 – 8°C (+/- 1°C)	No aplica
Refrigerador de Campo (Lab. Sede local o regional)	4 – 8°C (+/- 1°C)	No aplica
Congelador de Campo (Lab. Regional o central)	No aplica	-2 – -20°C
Contenedor Frío y Congelador de Transporte de Campo a Lab. Local, Regional y Central	4 – 8°C (+/- 1°C)	-2 - -20°C

C. ESPECIFICACIONES DEL EQUIPO PARA MANTENER LA CADENA DE FRIO

El equipo necesario e indicaciones específicas para mantener la cadena de frío es el siguiente:

1. Congelador:

- Utilizado para almacenamiento de crioviales con sueros sanguíneos y refrigerantes (bloques congelados)
- Este equipo provee una temperatura de -86 °C. Para las Regiones se recomienda la **Ficha Técnica 39517 CONGELADOR HORIZONTAL DE -86° C** y para el LCRSP **Ficha Técnica 39593 CONGELADOR VERTICAL DE 86°C** Se requiere de un termómetro dentro del congelador para monitorear la temperatura
- **La puerta del congelador se abrirá únicamente para:**
 1. Almacenamiento de crioviales.
 2. Ingreso y salida de bloques refrigerantes.
 3. Para retirar muestras al momento del envío al LCRSP.
- De acuerdo a la geografía del país se establecerá la logística de traslado de muestra del laboratorio regional hacia el LCRSP
- **NO DESCONGELAR LAS MUESTRAS** por ningún motivo. Las muestras no deben sacarse del congelador hasta el día de su envío para ser almacenadas o analizadas en el LCRSP, EVITANDO que éstas se puedan descongelar durante el transporte. Para tal efecto deberá asegurarse que el contenedor congelado tenga los suficientes bloques de hielo seco para que mantenga la temperatura de -2 a -20 hasta llegar al laboratorio central.
- No se utilizará para almacenar alimentos, bebidas, etc.

2. Refrigeradora:

- Utilizado para almacenamiento de tubos con sangre completa (anticoagulante EDTA) Este equipo maneja una temperatura entre 4 a 8 °C (+/- 1°C)
- Se requiere de un termómetro dentro del refrigerador (en la parte media del aparato) para monitorear la temperatura
- La puerta del refrigerador se abrirá únicamente cuando se ingresen muestras y en esos momentos se efectuarán las lecturas diarias, según lo indicado en la Forma (Control Diario de la Refrigeradora)
- El refrigerador no se utilizará para almacenar alimentos, bebidas, etc.

Para el trabajo de campo (Regional) se debe llevar control de la temperatura de la refrigeradora (Formulario establecido), para garantizar la integridad de las muestras de sangre completa.

El control de la temperatura en la refrigeradora y en el congelador se realizará 3 veces al día: la primera antes de salir al iniciar el trabajo de campo, por ejemplo, al retirar los bloques refrigerantes del congelador hacia el contenedor de campo. La segunda medición será al guardar las muestras de suero que vienen del campo, al final de la jornada de trabajo y la tercera en la noche. En cada una de las observaciones se anotará el dato en las Formas u hojas de registro respectivamente.

1. Contenedores Fríos de Campo

- En los contenedores fríos se almacenan y transportan las muestras tanto de sangre completa como coagulada obtenidas en los hogares y mientras estén en el campo
- El contenedor frío debe ser equipado desde muy temprano con la cantidad adecuada de bloques congelados, sacados del congelador del laboratorio sede (**Regional**) de la siguiente manera: dos bloques congelados de plástico al fondo del contenedor y bloques refrigerantes de bolsa blanca a los lados de la gradilla con tubos de muestras de sangre completa (con precaución de no quedar en contacto directo con los tubos para evitar hemólisis de las muestras no se deben utilizar las filas y columnas periféricas de la gradilla para almacenar los tubos)
- Se requiere de un termómetro dentro de la hielera para monitorear la temperatura dentro del contenedor frío y después de 30 minutos debe leerse la temperatura que debe estar entre 4 a 8°C +/- 1°C
- Al introducir los primeros tubos a la gradilla que se encuentra dentro del contenedor, se debe leer la temperatura y registrarla en la (Forma o hojas de Control Diario de Temperatura de Contenedor Frío)
- Fijar la gradilla de los tubos con papel burbuja a fin de inmovilizar la gradilla dentro del contenedor para evitar el movimiento de las muestras y así su posible hemólisis
- Los contenedores fríos deben cerrarse y transportarse cuidadosamente tanto en el campo, como en el vehículo, evitando que se produzcan movimientos violentos o bruscos que puedan alterar la integridad de las muestras.

4. Contenedores Congelados (Traslado de muestra al LCRSP)

- En los contenedores congelados se transportan las muestras de suero que van hacia el LCRSP.
- El contenedor congelado debe ser equipado con hielo seco que se ha almacenado previamente en el congelador del laboratorio sede y sacado por lo menos 30 minutos antes de la salida al campo para que esté estabilizada la temperatura cuando ya se almacene el suero en el campo. Se debe colocar un termómetro en el momento en que se le ponga el hielo seco
- La temperatura de este contenedor congelado debe estar entre -2 y -20°C después de 30 minutos y se debe controlar la temperatura al ingreso de las primeras muestras, así como cuando se ingresan nuevas muestras a lo largo de la jornada de trabajo. (Registrarlo en la Formulario establecido)
- Las muestras de suero se almacenan dentro de la caja de crioviales, asegurarla, con papel burbuja (sin bloquear el enfriamiento), para que no se mueva ni se de vuelta con todas las muestras durante el transporte.

5. Bloques Refrigerantes

- Son bloques de plástico (duro o flexible), rellenos con gel o foam, este material es importante para poder alcanzar la temperatura necesaria dentro de los contenedores(COOLER)
- Los bloques refrigerantes no serán utilizados en estado líquido, sino en punto de congelación, esto se puede confirmar con la ayuda del registro de la Forma o hojas de control de temperatura.
- Por ningún motivo los bloques refrigerantes deben permanecer fuera del congelador al finalizar el día de trabajo de campo
- Verificar que no estén rotos, vacíos o llenados parcialmente de agua, ya que esto afectará la temperatura dentro de los contenedores

6. Hielo seco

Hay que establecer si en cada región hay distribución de hielo seco para preparar la logística de compra según la necesidad. Si se planifica la primera salida del campo el día domingo, se deberá recoger una hora antes de la salida.

- El bloque de 10Kg tiene vigencia de 2 1/2 días, C
- Será utilizado específicamente para el contenedor congelado de campo y para el congelador de transporte de muestras del Lab. regional hacia el laboratorio central y asegura una temperatura entre -20 y -40°C

7. Termómetros

- Los equipos utilizados en la cadena de frío deben estar provistos de termómetros para medir en su interior la temperatura y monitorear su funcionamiento.
- Ficha **Técnica 62822** TERMOMETRO DIGITAL PARA CONGELADORES
- La lectura de la temperatura se efectúa en el congelador del laboratorio sede, en la refrigeradora del laboratorio sede, en el contenedor frío de campo y en el contenedor congelado de campo, evitando abrir compuertas o tapadera innecesariamente, provocando fluctuaciones de temperatura por ingreso de aire, calor o humedad
- El termómetro debe de permanecer dentro del equipo en el momento de efectuar la lectura

D. PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE LA CADENA DE FRIO

- Verificar en laboratorio la refrigeradora y el congelador que se le asignara al estudio.
- Colocar los bloques refrigerantes en el congelador para tenerlas listas para el día siguiente, este procedimiento también se hará cada noche, al final del día de trabajo y cuando las muestras extraídas ese día estén completamente procesadas de manera adecuada y habiéndolas colocado en el congelador.
- Los bloques refrigerantes, deben mantener el contenedor de muestras a una temperatura de **4° a 8 ° Celsius**
- Se deben tener más bloques congelados de lo previsto, aproximadamente 20 bloques mas para garantizar mantener la temperatura en el campo.

E. PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE MATERIAL DE CAMPO

Este procedimiento se realiza la noche anterior al día en que se sale al campo

- Se colocarán en una maleta adecuada, los materiales necesarios para la **venopunción** (ver listado de insumos). Los contenedores de muestras con sus respectivos bloques refrigerantes y un termómetro por cada contenedor.
- El responsable y miembros del equipo de campo deben revisar el material y comprobar si todo el material necesario está listo y etiquetado correctamente igual verificar si la camisa de aluminio esta en los tubos por medio de la (Forma o hoja de control la Lista de verificación diaria de suministros que llevan al campo).

ETAPA DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS

A. MATERIALES TRABAJO DE CAMPO

- Hoja de registro
- Agujas pericraneales No. 23
- Agujas 22x 1 ½
- Agujas tipo vacutainer No. 21
- Jeringuillas de 10 ml
- Tubos con EDTA (tapón lila) 3 mL
- Tubos sin anticoagulante (tapón rojo) 7-10 ml
- Tubos sin anticoagulante libre de minerales (tapón azul royal) 6 mL
- Curitas
- Bolsas rojas de bioseguridad
- Contenedor de plástico duro para material punzo cortante
- Torniquetes
- PAD con alcohol en sobrecitos individuales o alcohol y algodón
- Contenedor frío
- Gradilla para tubos
- Termómetro
- Anteojos protectores
- Camisa o porta tubos para tubos vacutainer
- Campos para superficies
- Bloques refrigerantes
- Guantes
- Etiquetas para tubos de MEF

- Etiquetas para tubos de niños/as
- Etiquetas para escolares
- Etiquetas para adulto 20-59 años
- Etiquetas para adulto >de 60 años
- Tape transparente
- Tijeras
- Papel burbuja
- Papel aluminio
- Tabla Shannon
- Lápiz
- Pluma
- Marcador permanente
- Sacapuntas
- Borrador

B. PROCEDIMIENTO PARA IDENTIFICACION DE VENA Y TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE

1. Precauciones Previas

- La toma de muestras de sangre se realizará solo a los sujetos indicados (MEF15 - 49 años , a los niños / as entre 6-59 meses Escolares 6-12 años y adulto >60 años IDENTIFICADOS EN CADA HOGAR POR EL EQUIPO DE NUTRICION ENCARGADO DE REALIZAR LA ENCUESTA)
- Todo el material estéril debe abrirse en el momento en el que se utilice y no antes para evitar contaminaciones y debe descartarse inmediatamente después de usado en el contenedor de material punzo cortante y bolsas de bioseguridad de color rojo, según sea el caso.
- Las agujas de vacutainer, las de las jeringuillas y las curitas que haya sido sacado de su empaque, manipulado y no se haya usado, así como el que se use y por cualquier razón no se extraiga sangre de la vena **deberá ser descartado** en el contenedor de material punzo cortante (agujas y tubos capilares) y en las bolsas de bioseguridad de color rojo (algodón y empaques de curitas).
- La muestra recolectada debe manejarse evitando todo contacto con el ambiente (luz, humedad, calor), con las manos del personal, o con cualquier otro material extraño al procedimiento.
- Los recipientes de descarte de material bioinfeccioso punzo-cortante deben estar bien cerrados y manipularse de la manera más cuidadosa posible.
- El área seleccionada para la toma de las muestras debe ser limpia, ventilada e iluminada lo mejor posible. Mantener el cuidado que la luz no de en forma directa a las muestras
- Desde la entrada a cada hogar, el quipo de trabajo debe llevar su vestuario bien puesto , limpio, con su identificación visible
- No fumar, beber, ni comer en los lugares seleccionados para toma de muestras de sangre o laboratorio de campo.

2 Indicaciones Generales antes de la extracción de la muestra de sangre

- Una vez que se ubica el hogar, se debe proceder a dar la información sobre la importancia de realizar la encuesta y pedir **el consentimiento informado** a la Madre, MEF, adulto 20-59 años y Adulto >60 años.
- El requisito para tomar las muestras de sangre es el **consentimiento** que da la madre y/o encargado del niño (6-59 meses y el escolar), MEF, Adulto> 60 años

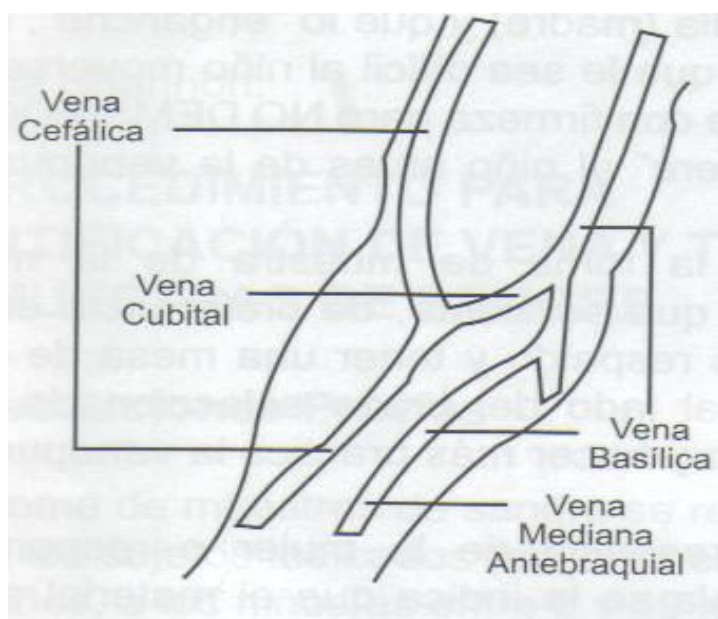
de tal manera que se procede a llenar la encuesta. Si se da el consentimiento, preguntar en dónde se pueden ubicar para la extracción de la muestra.

- Mientras la encuestadora realiza la entrevista a la madre o encargado del niño(6-59 meses y el escolar), MEF, adulto 20-59 años y Adulto > 60años la técnica de laboratorio deben realizar las siguientes actividades:
 1. Ubicar el lugar en donde se colocará todo el material a utilizar para la toma de la muestra
 2. Colocar primero el campo, sobre la superficie de la mesa, silla o lugar plano
 3. Distribuir sobre el campo los materiales a usar
 4. Identificar los grupos objetivos de toma de la muestra y preparar el material de extracción de acuerdo al mismo.
 5. Revisar que todos tubos estén con su color de etiqueta correspondiente (6-59 meses, escolares, MEF, adulto 20-59 años y adulto > 60 años) mantener el cuidado que las muestras no estén expuestas a la luz directa)
 - **Para MEF (Tubos con etiquetas de color rojo):** se usarán dos o tres tubos: un tubo con tapón de color verde de 3 mL, el cual contiene heparina, y/ o un tubo color lila con EDTA k2, 2 ml, otro tubo con tapón de color rojo o amarillo que no tiene anticoagulante de 7- 10 mL (extraer 5 mL de sangre).
 - **Para NIÑOS (AS) 6-59 meses (Tubos con etiquetas de color verde)** se usarán tres tubos: un tubo con tapón de color lila con EDTA k2 de 3 mL (extraer 2 ml de sangre) y otro tubo con tapón de color azul rey de 7 mL libre de aditivos, el cual NO tiene anticoagulante y (extraer 4 mL de sangre). Otro tubo de tapón amarillo o rojo sin aditivo (4 ml)
 - **Para ESCOLARES (6-12 AÑOS) Tubos con etiquetas de color amarillo)** se usarán tres tubos: un tubo con tapón de color lila, el cual contiene anticoagulante EDTA de 2 mL (que extrae 2 mL de sangre aproximadamente) y otro tubo con tapón de color azul rey, el cual NO tiene anticoagulante de 7 mL y libre de aditivos (que extrae 4 mL de sangre aproximadamente). Otro tubo de tapón amarillo o rojo sin aditivo (3-4 ml)
 - **Para ADULTOS 20-59 AÑOS Y ADULTO >DE 60 AÑOS (Tubos con etiquetas de color azul)se** usarán tres tubos: un tubo con tapón de color verde, el cual contiene anticoagulante heparina de 3 mL (que extrae 2-3 mL de sangre aproximadamente) un tubo color lila con EDTA 3 ml (que extrae 3ml de sangre) otro tubo con tapón de color amarillo o rojo el cual NO tiene anticoagulante de 7-10 mL(que extrae 5-7 mL de sangre aproximadamente).
- Para la toma de muestra del niño/a y Escolar, solicitar a la madre o responsable que colabore deteniendo al niño sentado sobre piernas, que coloque las piernas del niño entre las de ella (madre) y que lo “enganche”, de tal manera que le sea difícil al niño moverse, que lo agarre con firmeza pero NO DEMASIADO que “desespere” al niño antes de la venopunción. Con la vena ya identificada la punción Se procede a quitar el sello del material a utilizar para la venopuncion (ya sea jeringuilla o la pericraneal para que la madre este segura que el material no se ha utilizado y es estéril)
- Para la toma de muestra de la MEF, Adulto 20-59 AÑOS Y ADULTO>60 años, solicitar que se siente, de preferencia en una silla con respaldo y tener una mesa de altura óptima al lado del brazo seleccionado, para recostarlo y hacer

más práctica la venopunción.(si en el lugar existe de lo contrario buscar un área donde se pueda realizar la venopunción)

2. Procedimiento de localización de vena y extracción de sangre en niños/as 6-59 meses, Escolares (6-12 años), MEF, Adulto 20-59 años y Adulto mayor 60 años

- El asistente o técnica de laboratorio debe colocarse los anteojos protectores y los guantes antes de iniciado el proceso de venopunción. **SE USA UN PAR DE GUANTES POR SUJETO DE ESTUDIO.**
- Seleccionar el sitio más adecuado para realizar la extracción sanguínea, se puede hacer a simple vista o se coloca la ligadura unos 4 a 6 cm arriba del pliegue del brazo y se le pide a la persona que empuñe su mano, con el fin de hacer presión para resaltar la vena, se hace palpación para verificar la ubicación de la vena, se prueba en los dos brazos si es necesario antes de realizar la asepsia. Comúnmente se eligen las venas Basílica o Mediana Cubital (Figura No. 1)
- Desinfectar el área de punción utilizando algodón con alcohol haciendo movimientos circulares de adentro hacia fuera. **NO** pasar el algodón por la misma superficie dos veces. Si la piel está muy sucia es conveniente limpiar el área con un paño húmedo y luego proceder a desinfectar. Una vez desinfectada el área, no tocar el lugar de punción. **NO COLOCAR TORNICUETE ANTES DE ASEPCIA**, porque se causa **hemoconcentración.**
- Colocar el torniquete aproximadamente 4 – 6 cm por arriba del pliegue del brazo (Figura No. 2 colocación del torniquete) tratando de crear una presión adecuada en el momento de la extracción, pero no tanto que interrumpa la circulación sanguínea.



• Figura No. 1 (ubicación de las venas)

- Pedir a la persona que empuñe la mano, con lo cual se logra aumentar la presión y hacer resaltar más la vena. En el caso de los niños de preferencia, empuñarles la mano uno mismo (o con ayuda de la encuestadora) y sostenérsela mientras dure la extracción. **NO SE DEBE PALPAR EL LUGAR DE PUNCIÓN DESPUES DE HABER HECHO LA LIMPIEZA**, pues se puede contaminar la piel.
- Se abre el material estéril en presencia de los adultos. (jeringuilla o vacutainer a utilizar si es jeringuilla sacar el aire y revisar que embolo este bien y la aguja está ajustada correctamente antes de iniciar la extracción de la muestra).
- Introducir la aguja con el bisel hacia arriba y mas o menos entre 0.5 y 1 cm hacia la parte baja de donde ya no se observa la vena, con el objeto de tomar algo de músculo para sujetar la aguja y así evitar que se pierda la vena en el momento de la extracción.
- Introducir la aguja por lo menos un tercio de su longitud, cuidando de no perforar la vena por ambos lados, debe ser en forma casi paralela con respecto de la vena y **NO TRANSVERSAL** ya que puede salir sangre a presión por el sitio de punción o bien se puede perforar la vena por ambos lados y causar un hematoma



- Una vez canalizada la vena se procede si es con vacutainer a conectar **PRIMERO** el tubo vacutainer SIN anticoagulante, en el portatubos y empujarlo (sin empujar más la aguja), de tal manera que se inserte en la parte posterior de la aguja, realizándose la extracción por vacío automáticamente. En este momento la sangre comenzará a fluir rápidamente al interior del tubo colector. El tubo se retirará del portatubos una vez que el flujo de sangre se haya detenido.
-
- Se retira el tubo de la camisa o portatubos y este momento **se introduce en el envoltorio de aluminio previamente preparado (En todos los tubos que lo requieran desde el borde inferior del tapón hasta el fondo del tubo) PARA EVITAR LA EXPOSICION A LA LUZ.**
- Luego se inserta el tubo **CON anticoagulante** en la parte posterior de la aguja vacutainer, de la misma manera que el primero, al llenarse el tubo, se retira de la camisa o portatubos vacutainer y se mueve gentilmente en forma de 8 para mezclar bien la sangre con el anticoagulante y se introduce también dentro del envoltorio de aluminio previamente preparado Se coloca en la gradilla que se encuentra dentro del contenedor frío, para cubrirlos de la luz.
- Si se usa jeringuilla 10cc con aguja 21x1 ½ o 22 x 1 1/2 se hace el mismo procedimiento de la canalización de la vena y extraer la sangre de 7- 8 ml y

distribuirlos en los tubos primero **CON** anticoagulante mezclar suavemente varias veces para evitar hemólisis y luego los de sin anticoagulante y sigue el mismo procedimiento de almacenado.

- Se le pide a la persona que abra la mano mientras se le quita la ligadura o torniquete, se coloca un algodón encima del sitio de punción sobre la aguja, presionando levemente, se saca la aguja y se presiona un poco mas fuerte, se le pide a la persona que doble el brazo, por lo menos 5 minutos. De preferencia, la persona debe permanecer sentada aproximadamente 5 – 10 minutos. En el caso de los niños/as, la madre lo debe tener en sus brazos. Al término de este tiempo, colocar una curita en el lugar de la punción.

Se deben extraer 6-7 ml de sangre a los niños/as, Escolares y 7-8 ml de sangre a las MEF y Adulto > 60 años

- Indicar a la madre o persona encargada del niño, Escolar, MEF, Adulto 20-59 años y Adulto > de 60 años que existe la posibilidad que aparezca un pequeño hematoma en la zona de punción, el cual desaparecerá en unos días.
- Al finalizar la toma de muestras, depositar todo el material punzo cortante en el contenedor de biodesechos. Los guantes, algodones y empaques de agujas, desecharlos en la bolsa roja de biodesechos.
- En caso de haber existido algún evento relevante que interfiriera con el procedimiento, el (la) encuestador(a) debe especificarlo en el cuestionario
- Los tubos se colocan de forma secuencial (de izquierda a derecha) en la gradilla que está dentro del contenedor frío y se aprovecha para registrar la temperatura del mismo, anotándola en el formulario asignado, la temperatura debe estar entre 4 y 8°C. Cada vez que se introducen nuevas muestras al contenedor, realizar este procedimiento de medición y registro de temperatura.
- Se debe usar una fila para cada grupo (6-59m, 6-12años, MEF, 20-59 años y Adulto>60 años). Preferiblemente **NO USAR** las filas y columnas perimetrales de la gradilla para evitar el contacto directo de los tubos con los bloque refrigerantes y colocar reglas delgadas de duroport entre el fondo de la gradilla y los bloques refrigerantes.
- Se recolectan dos (2) tubos por sujeto, uno con anticoagulante (EDTA) para la obtención de plasma y otro sin anticoagulante para la obtención de suero, según el esquema siguiente:

Sujeto	Tubo a utilizar en orden de uso	Volumen mínimo a extraer (ml)	Volumen máximo a extraer (ml)	Micronutrientes a medir
Niños(as) 6- 59 m Etiquetas Color Verde	Tapón Rojo, Amarillo o Tubo Azul Royal (suero)	5 mL	7 mL	Ferritina, AGP Zinc, Vitamina B12 Retinol Extra (PCR)
	Tapón Lila o verde (plasma)	2 mL	3 mL	Hemograma completo, Folatos eritrocitarios. Extra
6-12 años Etiquetas Color Amarillo	Tapón Azul Regio, Amarillo o Rojo(suero)	7 mL	10 mL	Ferritina, AGP Zinc, Vitamina B12 Extra
	Tapón Lila o verde (plasma)	2 mL	3 mL	Hemograma completo Retinol Extra
MEF Etiquetas Color Rojo	Tapón Rojo, Amarillo o Azul Royal (suero)	5 mL	10 mL	Ácido Fólico, Ferritina, AGP Vitamina B12, Vitamina D. Extra (PCR)
	Tapón Lila o verde(plasma)	3 mL	3 mL	Hemograma completo Acido Fólico eritrocitario Extra

20-59 de años Etiquetas de color azul	Tapón Rojo, Amarillo o Azul Royal (suero)	15 mL	Perfil lipídico Glucosa, Vitamina B12 Creatinina Extra (PCR)
	Tapón Lila o verde plasma)	3 mL	Hemograma completo Hb A1c Extra

	Tapón Rojo, Amarillo o Azul	15 mL	Perfil lipídico Glucosa, Vitamina B12, Folato Sérico
--	--------------------------------	-------	------------------------------------------------------------

Adulto > de 60 años	Royal (suero)		Creatinina Homocisteína Extra (PCR)
Etiquetas de color violeta	Tapón Lila o verde plasma)	4 mL	Hemograma completo Folato eritrocitario HbA1C Extra

IMPORTANTE: Si el adulto mayor de 18 años firme consentimiento para participar en el Banco de Suero, se le extraerán 5 cc adicional (Suero).

VII. ETAPA DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

A. MATERIALES

- Centrifuga para tubos
- Microcentrifuga
- Micropipetas calibradas de 100 μ L
- Micropipetas calibradas de 1000 μ L
- Tips o puntas celestes
- Tips o puntas amarillas
- Bulbos de hule
- Pipetas Pasteur
- Pipetas de plástico
- Criocapilares de 1.8
- Crioviales de 0.5
- Etiquetas para crioviales de niños 6-59 meses
- Etiquetas para crioviales de 6-12 años Escolares
- Etiquetas para crioviales de Adulto 20-59 años
- Etiquetas para crioviales de Adulto > 60 años
- Etiquetas para crioviales de MEF
- Papel celofán amarillo, rojo o papel aluminio
- Tela negra

B. PROCEDIMIENTO PARA PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE SANGRE EN EL CAMPO

1. En el lugar asignado para el procesamiento de muestras en el campo

Es necesario tomar en consideración los siguientes aspectos en el momento de transportar, procesar y almacenar las muestras:

- La hemólisis puede ocurrir primariamente en el momento de la extracción sanguínea. Otros factores de hemólisis se puede presentar por movimientos bruscos de los tubos con la muestra. O bien, cuando las muestras de sangre completa y la muestra de sangre sin anticoagulante NO CENTRIFUGADA se congelan
- La hemólisis interfiere en la determinación de micronutrientes por lo que se debe tener especial cuidado en este proceso.
- Empacar las muestras de forma tal que se reduzca el choque entre sí y los movimientos bruscos. Los espacios vacíos entre el contenedor frío y la gradilla deben rellenarse con papel burbuja (sin bloquear la llegada del frío a los tubos), para evitar el movimiento brusco.
- Es **indispensable** mantener las dos muestras (sangre completa y coagulada, (tanto de la madre como la del niño/a) a las temperaturas indicadas, es decir entre 4 y 8° Celsius, cuando todavía no se han procesado, es decir en el campo, antes de centrifugarlas, debido a que si se colocan a menor temperatura, se pueden hemolizar.

a. Separación de sueros:

- Antes de centrifugar las muestras con sangre coagulada se deben sacar del contenedor frío y dejarlos a temperatura ambiente por 30 minutos, SIEMPRE CUIDANDO QUE NO SE EXPONGAN A LA LUZ, Esto se logra cubriendo con

- el papel celofán amarillo o rojo en forma de campana, tela negra que cubra la gradilla o con una caja que no permita el paso de la luz.
- Luego de este tiempo se sacan los tubos de sus envoltorios (debajo del papel celofán o dentro de la caja de cartón) para observar los niveles de sangre y aparearlos para colocarlos dentro de la centrifuga de forma balanceada
 - Centrifugar los tubos sin anticoagulante (tapón rojo tapón azul rey) de manera balanceada dentro de la centrifuga a 3500 RPM por 10 minutos. **Además se cubrirá la centrifuga con el papel celofán amarillo o rojo o con un paño oscuro**
 - Antes de sacar las muestras de la centrifuga, se debe tener una especie de campana o cobertor hecho con la caja de cartón y solamente una ventana de visibilidad, cubierta con el papel celofán amarillo o simplemente se colocan unos 3 o 4 pliegos de papel celofán en forma de burbuja (sostenido de los extremos por la encuestadora y el piloto), sobre las muestras y las manos del tecnólogo médico que está sacando los tubos de la centrifuga. **Este procedimiento también debe hacerse cuando se manejan los tubos en las gradillas y en todo momento en que se manipulan los tubos y crioviales con el suero**
 - Revisar los sueros de las muestras (siempre debajo del papel celofán): Si la muestra no está hemolizada, se identifican los crioviales colocando la etiqueta correspondiente a cada uno, según el orden de prioridad establecido en los Cuadros 1 y 2 para los diferentes analitos. Los crioviales utilizados para suero de Cinc deben ser libres de trazas de minerales. Este procedimiento se hace lo más rápido posible
 - **IMPORTANTE:** Cada vez que se saca un tubo de la centrifuga para separar el suero, la centrifuga debe permanecer cerrada y cubierta para evitar exposición de la luz en los otros tubos, Esto se repite cada vez que se separa cada una de las muestras.
 - CADA CRIOVIAL LLENADO SE COLOCA INMEDIATAMENTE EN LA CAJA O GRADILLA PARA CRIOVIALES y se tapa para su almacenamiento, evitando exposición a la luz y se mete al contenedor congelado

Cuadro No. 1
Orden de Prioridad para la
Determinación de Micronutrientes en Niños(as) 6- 59 meses

Prioridad	Analito	Volumen (µL)	Matriz	Criovial
1	Retinol	300	Suero	0.5mL
2	AGP-ferritina,RTs	500	Suero	1.8mL
3	Zinc	300	Suero	0.5mL
4	Hemograma completo	500	Sangre completa	
5	Folatos eritrocitarios		Sangre completa	
6	Folatos sérico		suero	1.8ml
7	Vitamina B12		suero	
8				
	Suero extra	250-300	Suero	0.5mL
	Suero extra	500	Plasma	1.8mL

Cuadro No. 2
Orden de Prioridad para la
Determinación de Micronutrientes en Niños(as) 6-12 años
Escolares

Prioridad	Analito	Volumen (μ L)	Matriz	Criovial
1	Retinol	300	Suero o Plasma	0.5mL
2	AGP-ferritina,RTs	150-200	Suero	0.5mL
3	Zinc	300	Suero	0.5mL
4	hemograma		Sangre completa	
5	Folatp Eritrocitario	500	Sangre completa	1.8mL
6	Folato Serico	250-300	Plasma o suero	0.5mL
7	Vitamina B12		suero	
	Suero extra	500	Plasma	1.8mL

Cuadro No. 3
Orden de Prioridad para la
Determinación de Micronutrientes en MEF

Prioridad	Analito	Volumen (μ L)	Matriz	Criovial
1	Ácido Fólico Eritrocitario (hemolizado)	100	Sangre completa	1.8mL
2	Ácido Fólico sérico	300	Suero	0.5mL
3	AGP-ferritina, RTs	150-200	Suero	0.5mL
4	Vitamina B12	250-300	Suero	0.5mL
5	Hemograma completo	500	Sangre completa	1.8mL
6	Calcio		suero	
7	Vitamina D		Suero	
8	Suero extra	250-300	Suero	0.5mL
9	Suero extra	500	Suero	1.8mL

Cuadro No. 4
Orden de Prioridad para la
Determinación de Micronutrientes en Adulto 20-59años

Prioridad	Analito	Volumen (µL)	Matriz	Criovial
1	Homocisteina	100	Plasma o Suero	1.8mL
2	Folatos Serico	150-200	Suero	0.5mL
3	Folato eritrocitario	250-300	Sangre completa	0.5mL
4	Microalbumina	250-300	orina	0.5mL
5	Perfil Lipidico	1000	suero	1.8 ml
6	Glucosa		Suero	
7	HbA1C		Sangre completa	
8	Vitamina B12		suero	
9	creatinina		suero	
10	Hemograma completo		Sangre completa	1.8mL

Cuadro No. 5
Orden de Prioridad para la
Determinación de Micronutrientes en Adulto > 60 años

Prioridad	Analito	Volumen (µL)	Matriz	Criovial
1	Hemograma completo		Sangre Completa	1.8mL
2	Perfil Lipidico	1000	suero	1.8 ml
3	Glucosa	200	Suero	
4	creatinina	200	suero	
5	Vitamina B12	100-150	suero	
6	Microalbumina	250-300	orina	0.5mL
7	HbA1C		Sangre completa	
8	extra			

- identificar los crioviales colocando la etiqueta correspondiente a cada uno y según el orden de prioridad establecido en los cuadros 1- 4. Por ejemplo para las muestras de sangre de mujeres, primero colocar las muestra de Acido fólico sérico, luego la etiqueta de AGP-ferritina y así sucesivamente. En niños: colocar primero la etiqueta de retinol, luego la de AGP-ferritina, luego la de Zinc, y así sucesivamente. Se recuerda que lo ideal es llenar TODOS los crioviales, para la determinación de TODOS los micronutrientes.
- Separar el suero, con ayuda de una pipeta plástica (una por muestra de niño/a y una por muestra de mujer) y depositar la cantidad establecida dentro de cada criovial (de niños/as) y crioviales de (mujeres), respectivamente, el cual está debidamente identificado.
- En el caso de niños para determinación de Zinc, la pipeta plástica, con que se separa el suero, debe ser libre de trazas de minerales. La separación del suero puede ser también llevada a cabo con micropipetas calibradas para agregar un volumen exacto a cada criovial, en cuyo caso se utilizarán puntas celestes, que son libre de trazas de minerales (ver Anexo 2).
- El papel celofán o la tela negra debe ser utilizado EN TODO MOMENTO PARA EVITAR que los crioviales se expongan a la luz
- Se colocan los crioviales con las muestras de suero en su caja cuidando de la exposición de la luz y calor.
- Por aparte, las muestras de sangre completa (CON anticoagulante se almacenan en la refrigeradora (la temperatura debe leerse cada vez que se ingresen muestras, debe estar entre 4 y 8°C) hasta el momento de ser transportadas al laboratorio central, Este procedimiento debe ser antes de tres días de tomada la primera muestra.
- Se llenan las Hojas de Registro de Muestras Procesadas en Crioviales para Niño, Escolares, MEF y Adulto > 60 años respectivamente (Formas L-07 y L-08).
- Es necesario tomar en consideración los siguientes aspectos en el momento de transportar, procesar y almacenar las muestras, presentadas en el Cuadro 5.

Cuadro No. 5
Consideraciones Especiales de las Muestras

Micronutriente	Sensible a la luz	Observaciones
Vitamina B12	Si	<ul style="list-style-type: none"> Sensible a procesos de congelación/descongelación.
Ácido Fólico	Si	<ul style="list-style-type: none"> Sensible a procesos de congelación/descongelación y a la luz. Almacenaje óptimo a -70° C. (Esto es en el laboratorio) Se necesita valor de hemoglobina y hematocrito para medir ácido fólico eritrocitario.
Retinol (Vitamina A)	Si	<ul style="list-style-type: none"> Sensible a oxidación e isomerización en exposición a luz, oxígeno, metales reactivos y altas temperaturas.
Zinc	No	<ul style="list-style-type: none"> Sensible a contaminación por trazas de minerales y a la hemólisis. La muestra debe ser separada antes de dos horas después de obtenida.
Ferritina (AGP) RTs Homocisteína	Si	<ul style="list-style-type: none"> Sensible a cambios de temperatura.

VIII. ETAPA DE ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

A. MATERIALES

- Contenedor de congelamiento
- Hielo seco
- Papel burbuja
- Gradillas para crioviales por analito
- Hules para asegurar las gradillas de crioviales
- Termómetro del congelador
- Contenedor frío
- Termómetro de contenedor frío
- Gradilla para tubos
- Bloques congelantes
- Papel celofán amarillo

B. PROCEDIMIENTO PARA ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Este procedimiento se realiza en el lugar asignado como laboratorio de campo

Almacenamiento de muestras de suero y sangre completa (con anticoagulante)

- Al llegar a la sede de trabajo, se deben sacar las muestras de suero en los crioviales (protegidas de la luz con el papel celofano o tela negra) y colocarlos en el **CONGELADOR**, chequeando la temperatura de la misma, ésta debe estar entre -2 y -8°C y reportarlo en la Forma L-04. **NO ALMACENAR EN CONGELADOR DE LA REFRIGERADORA**, ya que al momento de abrirla se altera la temperatura tanto de la refrigeradora como la del congelador.
- Las muestras de SANGRE COMPLETA con anticoagulante (tapón lila), se deben almacenar en la refrigeradora y chequear temperatura, que debe estar entre 4 y 8° Celsius. Informarla en la. **NUNCA CONGELAR**.
- Si se detecta que la temperatura del refrigerador va subiendo, se deberá buscar un lugar seguro, donde almacenar las muestras lo mas pronto posible, mientras se determina el problema de la refrigeradora, o se deberán pasar las muestras al contenedor con suficientes bloques de hielo para mantener la temperatura de 4 a 8° Celsius, cuidando siempre que vayan bien empacadas y protegidas de la luz
- Llenar la Hoja de Reporte Diario de Muestras Procesadas en Crioviales (dependiendo si son mujeres, adultos o niños).
- Se espera que no hayan muestras hemolizadas, ya que la posibilidad de perder al sujeto de estudio es mayor, sobre todo si es la muestra del niño, debido a que la madre o encargado no dejará que se les extraiga nuevamente sangre.
- **Si la muestra esta hemolizada**, llenar de todas maneras las Formas de Reporte Diario de Muestras (dependiendo de si es la muestra de la adulto, MEF o del niño) y en las OBSERVACIONES deberá anotar la causa posible de hemólisis. **NO ETIQUETAR NI MUCHO MENOS LLENAR LOS CRIOVIALES**
- Por cada muestra que esté hemolizada el grupo deberá regresar al hogar y tratar de obtener una nueva muestra con consentimiento informado. En caso contrario, se debe buscar otro hogar para sustituir la pérdida de la muestra hemolizada y el proceso de llenado de toda la papelería y el procedimiento de nuevo.

IX. ETAPA DE ENVIO DE MUESTRAS

A. MATERIALES

Gradillas con muestras de suero en crioviales

- Gradillas con tubos y crioviales con muestras de sangre completa
- Bloques de hielo seco
- refrigeradora
- Congelador de transporte
- Termómetro
- Papel burbuja
- Vehículo

B. PROCEDIMIENTO DE ENVÍO DE MUESTRAS AL LABORATORIO CENTRAL

El envío de muestras se realizará de acuerdo a la logística establecida según área geográfica y de acuerdo a el tipo de transporte que se utilizara (terrestre o aéreo) coordinando con el LCRSP para el recibo de las mismas.

- Para el envío de las muestras del campo al LCRSP, se preparan dos contenedores:
 - a) un contenedor frío con bloques refrigerantes con temperatura de 4 – 8°C (contenedor de muestras de sangre completa con EDTA)
 - b) un contenedor con bloques refrigerantes y hielo seco con temperatura de -2°C a -20°C (congelador para crioviales)
- Ambos contenedores se deben mantener por lo menos 30 minutos con los bloques refrigerantes y hielo seco, respectivamente, antes de chequear la temperatura y antes de trasladar los tubos de sangre completa (al contenedor frío) y crioviales (al congelador con hielo seco), respectivamente
- El contenedor que transporta las muestras de sangre completa con anticoagulante EDTA, debe mantener una temperatura de 4 a 8°C +/- 1°C
- Cuando el contenedor frío se encuentre a la temperatura indicada, se saca del refrigerador de campo, la gradilla con los tubos de sangre completa con EDTA y se coloca dentro de dicho contenedor frío. Los bloques refrigerantes se colocan abajo y a los lados de la gradilla, **cuidando que no deben tener contacto directo con los tubos**, ya que se congelaría la muestra y su posterior hemólisis
- El contenedor congelado que transporta las cajas conteniendo los crioviales con suero debe tener una temperatura entre -2 a -8°C (puede bajar a -20 si se tiene hielo seco)
- Una vez llegado a este rango de temperatura el congelador de transporte, se sacan del congelador del laboratorio sede, cada una de las bolsas ziploc que contienen las cajas de crioviales y la información correspondiente a los mismos y se traslada lo antes posible al congelador de transporte y se cierra herméticamente
- Los contenedores se llevan cuidadosamente al vehículo y transportadas al laboratorio central Los contenedores deberán de sujetarse de tal manera que queden fijos en el medio de transporte
- Se deben proteger también del movimiento brusco, ajustando bien las gradillas de crioviales y de tubos con papel burbuja, sin interrumpir el enfriamiento y a temperatura de entre -2 y -8° Celsius.
- Una vez empacadas las muestras y puestas en el congelador, **NO SE DEBERA ABRIR ESTE CONGELADOR DURANTE EL TRASLADO DE LA MUESTRA AL LCRSP**, ya que cada vez que se abre el congelador aumenta la temperatura interna y durante el camino es más difícil reponer esa energía térmica que se pierde si no hay una fuente de energía eléctrica externa.
- La norma de traslado es **SIN PARADAS INTERMEDIAS, A MENOS QUE EXISTAN CAUSAS DE FUERZA MAYOR**, en cuyo caso, deberá buscar el lugar mas adecuado fuera del sol directo y comunicarlo inmediatamente a la coordinadora de la encuesta o al laboratorio central directamente

- Indicar claramente la temperatura del congelador de envío y la temperatura del contenedor frío, al momento de salida del lugar hacia el laboratorio central en la hoja de (ver Forma L-09).
- Al llegar al LCRSP también se debe registrar la temperatura y anotarla en la forma dicha.

X. OTROS MATERIALES Y EQUIPO USADOS EN EL CAMPO

El material complementario para la toma, procesamiento, almacenamiento y transporte de muestras de sangre, se describe en el siguiente cuadro y que se debe revisar todo los días por cada grupo o equipo de trabajo

LISTA DE INSUMOS NECESARIOS PARA ENSPA (según listado Extracción de Sangre Punto A Materiales de trabajo de campo)

Insumo para trabajo en el campo

Cooler o contenedor frío con sus refrigerante
 Jeringuillas (5ml y 10 ml)
 Tubos para toma de muestra (según población tipo de prueba)
 Gradillas según cantidad muestras a tomar
 Torniquete
 PAD Alcohol
 Etiquetas(diferentes colores según grupo)
 Jabón para manos
 Linterna de mano
 Papel aluminio
 Termometro
 Tabla shadon
 Pluma
 Marcador
 Gasa
 Guantes

Insumos de oficina usados en ambos lugares

Cinta adhesiva
 Cuestionarios
 Engrapadora
 Sacapunta
 Grapas caja
 Pluma azul
 Pluma negra
 Pluma roja
 Lápiz
 Marcador indeleble negro de punto fino
 Material cartográfico
 Tijeras

El responsable y miembros de cada equipo de campo deben revisar la lista de Verificación de suministros antes de salir al trabajo de campo (Forma L-02), para **EVITAR OLVIDOS DE ÚLTIMA HORA.**

Dentro de los materiales y equipo, se debe mencionar las etiquetas, pero por tener tanta información y por ser una de las herramientas más importantes y de mayor cuidado en el procesamiento de muestras se describen con más detalle a continuación:

XI. FORMATO DE ETIQUETAS DE IDENTIFICACION

A IDENTIFICACION PARA TUBOS Y CRIOVIALES

- En la ENSPA se utilizan etiquetas de **COLORES** debidamente rotuladas e identificadas (para identificar el grupo: 6-59 meses(etiquetas verde) ,6-12 años o Escolar(etiquetas amarillas), MEF(etiquetas rojas) Adulto 20-59 > 60 años etiquetas azul))
- Las muestras llevaran en la etiqueta el mismo número de la encuesta más el que asigne el laboratorio según el grupo (6-59 meses, 6-12 años, MEF y Adulto > de 60 años) además el sexo y edad.
- Todos crioviales serán rotulados con el color y la información obtenida del tubo de muestra correspondiente al grupo y donde se colocarán las muestras de suero en alícuotas que varían de 100 a 500 microlitros (μL), según el analito de estudio.

Etiqueta para CRIOVIAL O TUBO Etiqueta para CUESTIONARIO

1. FER = Ferritina
2. RTs = Receptor de Transferina
3. AGP = Alfa-Glicoproteína
4. FOL = Folato Sérico
5. RBF = Folato Eritrocitario
6. BH = Hemograma Completo
7. VitA = Retinol Serico
8. Vit. D = Vitamina D
9. B12 = Vitamina B12
10. HOMO = Homocisteina
11. ZN = Zinc
12. Ca = Calcio
13. PLG = Perfil Lipídico(Colesterol, Triglicerido, HDL,LDL) + Glucosa
14. HbA1C = Hemoglobina glicosilada
15. CRE = Creatinina
16. MALBO = Microalbumina en orina
17. MALBS = Microalbumina en suero
18. TE1 = Tubo extra 1
19. TE2 = Tubo extra 2

XII INSTRUCCIONES EN CASO DE ACCIDENTE LABORAL:

- A.** Lavarse inmediatamente con agua y jabón
- B.** “Ordeñar” la sangre del sitio pinchado
- C.** Aplicar líquido antiséptico o alcohol
- D.** Registrar fecha, lugar y detalles importantes
- E.** Reportar inmediatamente a la supervisora de campo y al
Tecnólogo Medico responsable del laboratorio
- F.** Tomar una muestra de sangre para detección de Virus Inmunodeficiencia
adquirida Humana (**VIH**) y Hepatitis B en ese momento o a mas tardar
el día siguiente, en un tubo con tapón rojo, SIN ANTICOAGULANTE
- G.** Separar el suero y colocar 300 microlitros en un criovial de 1.8 ml.
- H.** Enviar la muestra al LCRSP con el piloto. Con las mismas especificaciones
de temperatura de todas las muestras.
- I.** De salir negativos los resultados, se tomará otra muestra a los 3 meses y se
repite el proceso desde el punto F
- J.** Si vuelven a salir negativos, se toma nuevamente otra muestra a los 6 meses
del accidente
- H.** Si salieran positivos en esta etapa, se tiene que referir al trabajador, a un
Centro de Salud para su tratamiento antiretroviral
- K.** En caso contrario, si sale negativo, se vuelve a sacar otra muestra al año siguiente
de haber ocurrido el accidente.

ANEXOS

ANEXO 1 DISEÑO DE COLECCIÓN DE LA INFORMACION

En esta sección describimos los componentes del diseño de colección de información.

- Listado y procedimiento de selección
- Procedimiento de colección de información
- Desarrollo del cuestionario

Ya que la información necesaria de los individuos legibles en un conglomerado, entonces el estudio se ha diseñado de tal manera que los listados, selección y entrevista se lleven a cabo en una sola actividad. Las direcciones y número de viviendas estarán dibujadas en un mapa que se proveerá a los entrevistadores

Los entrevistadores visitarán cada uno de los hogares y registrarán el resultado de esta actividad. En el caso de que se identificara un individuo elegible (niño 6-59 meses, 6-12 años escolares, MEF y Adulto > 60 años)

Se incluye la tabla de ajuste de hemoglobina por altitud y hábitos de tabaquismo para ser aplicada en donde se requiera, como se explica por sí sola.

Ajuste de Niveles de Hemoglobina por Altitud y Hábitos de Tabaquismo

Altitud (metros sobre el nivel del mar)	Cantidad a ajustar
<1000	No ajustar
>1000 <1500	+0.2
>1500 <2000	+0.5
>2000 <2500	+0.8
>2500 <3000	+1.3
>3000 <3500	+1.9
>3500 <4000	+2.7
>4000 <4500	+3.5
>4500	+4.5

FORMULARIOS DE LABORATORIO

FOR-LAB-01

**ENCUESTA NACIONAL DE
MICRONUTRIENTES****REPORTE DE DESCARTE SEMANAL MATERIAL INFECTO-CONTAGIOSO****SUPERVISOR
RECIBIDO POR****FIRMA
FIRMA****FECHA
AÑO 2012
día mes****GRUPO****QQBB****No. BOLSAS /
CAJAS****Identificación Cartográfica
del lugar de Procedencia**

INSTRUCTIVO DE LLENADO DE LA FORM- LAB-01**FORM- LAB-01****ENCUESTA NACIONAL DE SALUD**

REPORTE DE DESCARTE SEMANAL DE BIODESECHOS	Instrucciones de llenado
Encabezado	
Supervisor	Se anota el nombre del responsable
Firma	El responsable debe firmar la forma.

No. Código	Variable	Definición
01	Identificación Cartográfica	Se anota el número de código de Provincia, Región, Distrito, corregimiento, sección y sector que corresponde. Hacerlo siguiendo las mismas instrucciones que se dieron para el llenado del cuestionario.
02	Fecha	Se anota el día y mes con dos dígitos en las celdas correspondientes. No se incluye la celda para el año porque en el encabezado se indica que nos referimos al año 2017 .
03	Grupo	Se anota el número de grupo responsable de la entrega de la basura obtenida por el sector correspondiente.
04	Tec.Medico	Se anota el código del Tec. Medico responsable del grupo.
05	No. Bolsas o No. Cajas	Se anota la cantidad en números de bolsas o cajas que contienen biodesechos.

INSTRUCTIVO DE LLENADO DE LA FOR-LAB-02**FOR-LAB-02
ENCUESTA NACIONAL DE MICRONUTRIENTES****LISTA DE VERIFICACION DIARIA DE SUMNISTROS****QUE SE LLEVAN AL CAMPO**

Esta forma es un listado de todos los insumos necesarios para poder realizar una entrevista completa. Deben ser revisados antes de salir al campo para contar con todo el material necesario al momento de la entrevista y toma de muestra de sangre.

Encabezado	
Responsable	Se anota el nombre del Tec. Medico o Asistente de Laboratorio responsable del grupo.
No. de Grupo	Se anota el número de grupo que recibe los insumos.
Período	Para el registro de la fecha se anota el día y mes con dos dígitos en las celdas correspondientes

No. Columna	Variable	Definición
01	Insumos	Se describe cada unos de los materiales que se utilizaran para la entrevista y se agrupan así: Ítem : Material de uso permanente Ítem : Material de uso variable
02	Presentación	En esta columna se describe el tipo de presentación de los insumos, la cual puede ser individual, caja, litro, libra, etc.
03	Recibido	Se anota la cantidad entregada por el Supervisor al Tecnólogo medico o asistente de laboratorio responsable de cada grupo necesaria para una semana completa.
04	Día	Se colocará un cheque (√) en el espacio correspondiente al día de la semana en que se está haciendo la revisión de suministros, lo cual indica que el insumo correspondiente está listo para llevarse al campo.
05	Saldo	Se anota la cantidad del insumo que no fue utilizado durante la semana de trabajo

**INSTRUCTIVO DE LA HOJA DE REGISTRO DE CAMPO
LABORATORIO**

FOR-LAB-03

Esta forma se refiere al reporte diario de muestras obtenidas (niños 6-59 meses, escolares, MEF, Adulto > de 60 años) la que se debe llenar al salir del hogar donde se ha tomado la muestra.

Si en alguna caso no se pudieran obtener la muestra ese día o a esa hora, se regresa, se pide apoyo a otro flebotomista y se solicita nuevo consentimiento de extracción de sangre.

Encabezado	
Responsable Y Firma	Se anota el nombre del Tec. Medico o Asistente de Laboratorio responsable del grupo con su firma
No. de Grupo	Se anota el número de grupo que pertenece
Distrito, Corregimiento y Segmento que se toma la muestra	Se anota el Distrito, corregimiento y segmento donde se toma la muestra

Nº	Columna	ESPECIFICACIONES
01	Fecha	Se anota la fecha en que se toma la muestra
02	Nº de Encuesta	Se anotara el numero de encuesta, que será proporcionado por la nutricionista
03	Código De muestra	Se anotara el numero de muestra correspondiente al grupo que pertenece, Será proporcionado por el coordinador de laboratorio
04	Tubo sin aditivo(Tubos rojo, amarillo o azul)	Se anotara con una X el tubo que se toma
05	Tubos con anticoagulante	Se anotara con una X el tubo que se toma
06	Otros	Si se toma cualquier otro tubo
	NOTA	ESTA INFORMACION SE LLENARA IGUAL PARA TODOS LOS GRUPOS OBJETIVOS DEL ESTUDIOS(6-59 MESES,6-12 AÑOS, ADULTOS >DE 60 AÑOS Y MEF)
	Observación	En esta renglón es para escribir cualquiera información o problema que se presente en el hogar en el momento de la toma de la muestra o con las muestras

HOJA DE TRANSPORTE DE MUESTRA PARA EL LCRSP

FOR-LAB-4

RESPONSABLE _____ FECHA _____

Nº	CODIGO DE LA MUESTRA	NOMBRE DEL PACIENTE	6-59 m(1) Esc. (2) MEF (3) >60 (4)	MUESTRAS DE PLASMA (Cantidad de tubos)	MUESTRAS DE SUERO (Cantidad de tubos)	OBSERVACION
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						

INSTRUCTIVO DEL FOR-LAB- 4

Responsable: Nombre del laboratorista encargado de campo.

Fecha: Fecha de elaboración del listado.

COLUMNA	DEFINICION
1	Se colocara el numero de muestra
2	Se registrara el numero de código de la muestra el mismo debe verificarse si lleva toda la información correspondiente.
3	Se registrara el nombre el paciente
4	Se registrara con un numero de acuerdo al grupo que pertenece la muestra (1) 6-59 meses:(2) Escolares:(3)MEF;(4)>de 60 años
5	Se registrara la cantidad de tubos con muestras de plasma
6	Se registrara la cantidad de tubos con muestras de suero
7	Se anotara cualquiera información necesaria con respecto a las muestras de plasma y suero que se esta enviado que se considere necesaria que el LCRSP conozca

INSTRUCTIVO DE LA HOJA DE CONTROL DE TEMPERATURA

FOR-LAB-5

Este formulario se llenara en todos los días y en los lugares donde estén colocados (congeladores, refrigeradora, nevera de campo) es importante que se llene correctamente.