UNIVERSIDAD VERACRUZANA

FACULTAD DE BIOANALISIS
REGION VERACRUZ

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL LABORATORIO DE LA E. E.
Parasitología General

AUTORES:

Dra. Sara Ortigoza Gutiérrez.
Dra. Martha Cruz Aguilar.

INDICE

INTRODUCCIÓN…….……4

REGLAMENTO DEL LABORATORIO DE PARASITOLOGIA GENERAL……..5

MATERIAL REQUERIDO PARA EL LABORATORIO DE PARASITOLOGIA GENERAL…….6

PRÁCTICA NÚMERO 1
COPROPARASITOSCOPICO (CPS) MÉTODO DIRECTO Y EN FRESCO……7

PRÁCTICA NÚMERO 2
DETERMINCIÓN DE SANGRE OCULTA....……11

PRÁCTICA NÚMERO 3
MÉTODO DE FLOTACIÓN DE FAUTS……14

PRÁCTICA NÚMERO 4
CÁPSULA DE BEAL……17

PRÁCTICA NÚMERO 5
MÉTODO EN FRESCO DEL EXUDADO VAGINAL……...21

PRÁCTICA NÚMERO 6
FROTIS SANGUÍNEO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PARÁSITOS……..…..…24

PRÁCTICA NUMERO 7
GOTA GRUESA……27

PRÁCTICA NÚMERO 8
MÉTODOO DE SABIN FELDMAN PARA TOXOPLASMA……...30

PRÁCTICA NUMERO 9
TINCIÓN DE KINYOUN……37

PRÁCTICA NÚMERO 10
MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN DE TELEMAN……40

PRÁCTICA NÚMERO 11
TÉCNICA DE BAERMAN…….42

PRÁCTICA NÚMERO 12
TÉCNICA DE HARADA MORI……47

PRÁCTICA NÚMERO 13
MÉTODO DE GRAHAM…….……..51

PRÁCTICA NÚMERO 14
PRESERVACIÓN DE PARÁSITOS "MIF"……55

ANEXOS……..58

INTRODUCCIÓN

La Parasitología es la disciplina que se encarga de estudiar el parasitismo producido por protozoarios, helmintos, y artrópodos. El parasitismo se da entre un organismo llamado parásito y otro denominado hospedero. El primero vive en y a expensas del segundo y le causa daño.

Las enfermedades parasitarias representan una de las principales causas de enfermedad, se presentan en todas las edades, aunque con mayor frecuencia en niños, e influyen las condiciones sociales y económicas; de hecho la pobreza conlleva casi siempre a la parasitosis. Los individuos inmunocomprometidos presentan enfermedades parasitarias oportunistas. Las enfermedades parasitarias clínicamente son muy variadas y van desde asintomáticas hasta fatales.

El diagnóstico de los parásitos se fundamenta en la observación y el reconocimiento de sus características morfológicas, macroscópicas y microscópicas, obtenidas de muestras biológicas que faciliten la identificación del agente infeccioso mediante la utilización de exámenes directos.

El presente manual de Parasitología General tiene la finalidad de funcionar como guía de trabajo en la experiencia educativa de Parasitología General, la cual se encuentra curricularmente establecida en la retícula de la Licenciatura en Química Clínica.

Mediante este Manual el estudiante conocerá, comprenderá y analizará sus conocimientos en Parasitología, aplicando y desarrollando sus saberes teóricos, heurísticos y axiológicos; debido a que en el laboratorio se requiere que trabajen en un ambiente de respeto, responsabilidad y ética, haciendo uso de sus habilidades en el manejo de equipo, así como en el desarrollo de metodologías, previo sustento teórico.

REGLAMENTO DEL LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA GENERAL

- El alumno debe llegar puntual a su clase.
- Entrar con bata de manga larga y su manual de la Experiencia Educativa.
- Los libros, cuadernos y objetos personales no deben permanecer en la mesa de trabajo.
- Deberán tener su material listo.
- Limpiar su área de trabajo con hipoclorito antes y después de ser usada.
- Queda estrictamente prohibido comer, beber, llevarse cosas a la boca y fumar en el Laboratorio.
- Cuando se manejan las heces utilizar guantes y cubre-bocas.
- Una vez terminada su práctica, el alumno debe desechar las muestras con las que se trabajó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y a la Guía para la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 .
- En caso de romperse o derramarse muestra fecal deberá verterse fenol o hipoclorito sobre él y dejarlo cuando menos 10 minutos antes de limpiar y avisar al Catedrático o Técnico Académico.

MATERIAL REQUERIDO PARA EL LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA GENERAL

- 15 coladores
- 15 Frascos goteros
- 1 caja de portaobjetos
- 4 pipetas de vidrio graduadas de 5 ml
- 1 caja de cubreobjetos
- 4 picetas
- 10 tubos de 13 x 100 mm.
- 4 tubos de 15 x 150 mm.
- 15 soportes universales.
- 30 aplicadores de madera.
- 15 pinzas de nuez.
- 15 matraces erlenmeyer de 250 ml.
- 15 tubos de 13 x 100 mm con tapón de rosca.
- 15 telas de alambre con asbesto.

PRACTICA 1.
Coproparasitoscopico (CPS)
Método directo y en fresco.

1.- INTRODUCCIÓN

El examen CPS, es el método más antiguo que se conoce, probablemente Antón Van Leewenhoek a mediados del siglo XVII, fue el primero en utilizarlo.
Es el estudio de la materia fecal para la búsqueda y recuperación de parásitos, se trata de un método sencillo y rápido.

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de los dos métodos para realizar un CPS.
2.2. El alumno conocerá la diferencia entre CPS directo y CPS en fresco.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

El método en fresco se basa en la utilización de solución salina fisiológica para conservar condiciones semejantes a las del cuerpo humano y de esta manera observar los trofozoitos. Mientras que en el método directo se puede utilizar una solución de lugol, para la observación quistes.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Solución salina	0.9%	25 ml.
2	Solución de lugol	Parasitológico	25 ml.

4.2 MATERIAL

NUM.	NOMBRE DEL MATERIAL	CANTIDAD
1	Portaobjetos	30
2	Cubreobjetos	30
3	Guantes	30
4	Aplicadores de madera	30

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.

5.1.1. Para las muestras obtenidas con cucharilla rectal ó hisopo, se depositan en un tubo con sol. Salina, del cual se toma una muestra con una pipeta Pasteur y se deposita entre portaobjetos y cubreobjeto para su observación al microscopio (10X, 40X)

5.1.2. De las muestras recolectadas en recipiente, con un aplicador, se toma un pequeño fragmento aproximadamente 1 mm de diámetro.

5.1.3. En un portaobjeto el cual contiene una gota de sol. Salina al 0.9%, se emulsiona perfectamente. Se coloca un cubreobjeto, para su observación al microscopio.

5.1.4. Examinar toda la preparación de manera sistemática, con 10 X y 40X.

5.1.5. Se puede realizar una preparación con sol. Salina (para la observación de trofozoitos) y otra con lugol (los núcleos de los quistes se tiñen). Fig. 1

5.2 MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. Son preferibles las muestras evacuadas de manera natural.
5.2.2. La muestra no debe estar contaminada con orina.
5.2.3. Deben estar perfectamente etiquetadas; nombre, edad y sexo.
5.2.4. Son preferibles muestras seriadas.

5.3. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados
Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, genero y especie del parásito.

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

6.1. De las muestras recolectadas en pañal, tomar una porción, especialmente con moco o sangre.
6.2. Cuando las heces del paciente son liquidas, se aconseja ponerle el pañal del lado impermeable

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Utilizar muestras previamente identificadas como control de calidad.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

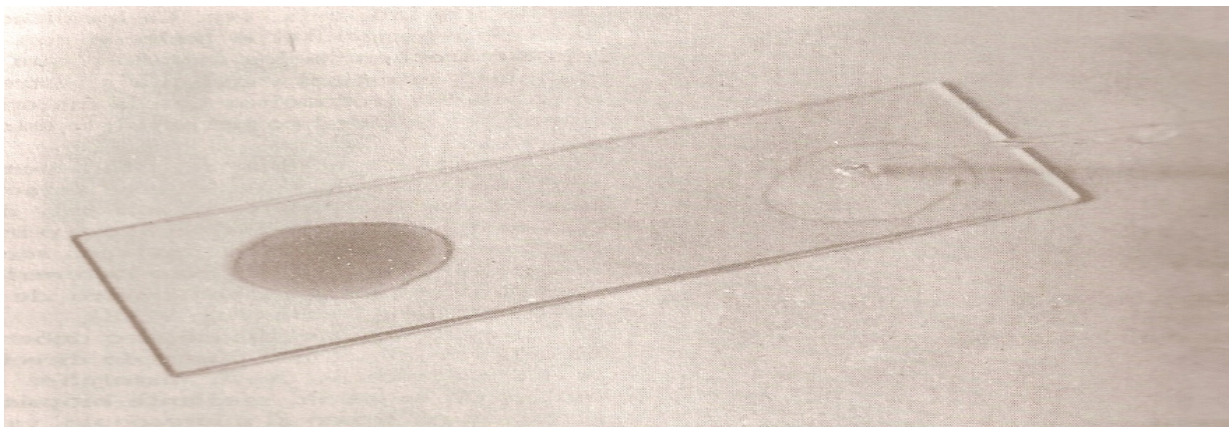

Fig.1.-Método directo. Fuente: Tay J. Lara, Gutiérrez, Velazco, Parasitología Médica.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D.F.

PRACTICA 2.
Determinación de sangre oculta.

1.- INTRODUCCIÓN

El examen químico del pigmento hemático tiene interés en las deposiciones en todos los casos en que se sospecha hemorragia digestiva, puede encontrarse positiva en caso de tumores digestivos sobre todo en: cáncer, enteritis. colitis, en casos de cirrosis hepática y en algunas parasitosis como; uncinariasis, teniasis, entre otras.

2.-OBJETIVOS

2.1. Determinar sangre oculta en materia fecal.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

El fundamento de este método se basa en el uso del ácido acético que lisa los eritrocitos, del peróxido de hidrógeno que actúa como sustrato debido a la acción peroxidasa de la hemoglobina, liberando oxigeno. El Piramidón hace evidente la reacción dando un cambio de color.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Ácido acético	5%	50 ml.
2	Piramidón	5%	50 ml.
3	Peróxido de hidrógeno	30 volúmenes	50 ml.
4	Sol salina	0.9%	50 ml.

4.2 MATERIAL

NUM.	NOMBRE DEL MATERIAL	CANTIDAD
1	Tubos de ensaye de 13 X 100 mm.	30
2	Pipetas graduadas de 5 ml.	30
3	Guantes	30
4	Aplicadores de madera	30

4.3 EQUIPO
microscopio.

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.

5.1.1. Colocar en un tubo de ensaye de 13X 100, 1 ml de sol. Salina
5.1.2. Agregar una pequeña cantidad de heces aproximadamente 1 gr. Y hacer una suspensión.
5.1.3. Adicionar 0.5 de Ac. Acético al 5% 0.5 ml de Piramidón al 5 %, mezclar con un aplicador y 0.5 ml de Peróxido de Hidrógeno de 30 vols. mezclar y observar.

NOTA: También se puede utilizar el reactivo hemaescreen.

5.3 MUESTREO Y MUESTRA
5.3.1. La muestra no debe estar contaminada con orina.
5.3.2. Deben ser evacuadas de manera natural.
5.3.3. Deben estar perfectamente etiquetadas; nombre, edad y sexo.
5.3.4. Seguir las Instrucciones generales de limpieza del microscopio.

5.4. REPORTE DE RESULTADOS

5.4.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.4.2. Reporte de resultados
Se emitirá la hoja de reporte correspondiente.

PRUEBA POSITIVA.-Cambio de color de la suspensión de azul a morado.
Reportar por cruces, dependiendo la intensidad de color.

PRUEBA NEGATIVA.-No se observa cambio de color.

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

6.1 Se debe revisar la caducidad el peróxido de hidrógeno y que permanezca herméticamente tapado y bajo el abrigo de la luz.
6.2 El Piramidón debe mantenerse en frasco color ámbar.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Como control de calidad se utilizara sangre para valorar los reactivos.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Químico biólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M.,Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D.F.

PRACTICA 3.
Método de flotación de Fauts

1.- INTRODUCCIÓN

Es un método de concentración del cual se obtiene un buena flotación de quiste y huevos. Las formas parasitarias son encontradas con facilidad, pues las preparaciones quedan con pocos artefactos

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá a realizar la técnica de concentración de Fauts e identificara los parásitos presentes.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

El método se fundamenta en la mayor densidad de la solución de sulfato de zinc 1.1.80 que la de los parásitos existentes en la muestra, por lo cual hace que los parásitos floten en la superficie del tubo. Y además con el tamiz empleado se obtienen muestras libres de material burdo.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Solución salina	0.9%	500 ml.
2	Solución de lugol	Parasitológico	50 ml.
3	Sulfato de zinc	33% (1.180)	500 ml.

4.2 MATERIAL

NUM.	NOMBRE DEL MATERIAL	CANTIDAD
1	Portaobjetos	30
2	Cubreobjetos	30
3	Guantes	30
4	Aplicadores de madera	30

5	Tubos de ensaye de 13 X 100 mm.	30
6	Pipeta graduada de 5 ml.	3
7	Embudos	15
8	Coladeras	15
8	Gradillas	15

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios
2	Centrífuga

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.
5.1.1. Preparar una suspensión de materia fecal de aproximadamente 5 grs. De heces con 5 ml de solución salina fisiológica.
5.1.2. Filtrar a través de colador y embudo y recoger el filtrado en un tubo de ensaye.
5.1.3. Centrifugar la suspensión de 2 a 5 minutos. A 2000 r.p.m.
5.1.4. Desechar el sobrenadante
5.1.5. El sedimento se vuelve a suspender con sol. Salina y se centrífuga hasta que el sobrenadante quede transparente.
5.1.6. Suspender nuevamente el sedimento con 5 ml de sulfato de zinc (densidad 1.18 a 1.20, 33%).
5.1.7. Centrifugar 1 min. A 2500 r.p.m.
5.1.8. Colocar el tubo en una gradilla y añadir sulfato de zinc hasta la boca del tubo, para que se forme un menisco.
5.1.9. Colocar un cubreobjeto sobre la preparación.
5.2.0. Dejar reposar 10 minutos.
5.2.1. Pasar el cubreobjeto a un portaobjeto, si se desea se puede agregar sol de lugol.
5.2.2. Examinar al microscopio de forma sistemática.

5.3. MUESTREO Y MUESTRA

9.3.1. Son preferibles las muestras evacuadas de manera natural.
9.3.2. La muestra no debe estar contaminada con orina.
9.3.3. Deben estar perfectamente etiquetadas; nombre, edad y sexo.

5.4. REPORTE DE RESULTADOS

5.4.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.4.2. Reporte de resultados
Reportar no se observaron parásitos ó
Se observaron fase del parásito, *Género y especie* del mismo y de 1 a 4 cruces.

De 1 a 4 formas parasitarias por campo (X)
De 4 a 8 formas parásitas por campo (XX)
De 9 a 13 formas parásitas por campo (XXX)
Más de 13 por campo (XXXX).

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

8.1. Se debe tener cuidado al tomar la muestra de la superficie del tubo, porque puede interferir al realizar las observaciones y dar falsos negativos.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

7.1. Revisar periódicamente la densidad del sulfato de zinc.
7.2. La observación de la preparación debe realizarse de manera sistemática.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

PRACTICA 4.
Cápsula de Beal.

1.- INTRODUCCIÓN

Este examen es un complemento del coproparasitoscopico. Se usa para demostrar la presencia de parásitos intestinales que tiene por hábitat el duodeno y que pueden encontrarse en muestras biliares, obtenidas ya sea por sonda duodenal, por el método de la cuerda encapsulada (Enterotest) o por la cápsula de Beal.

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología así como la identificación de parásitos observados en la muestra.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

Se basa en el uso de una cápsula de gelatina que tiene en su interior un hilo de algodón absorbente, para la obtención de parásitos que se encuentran en el duodeno. Es una técnica útil en la búsqueda de *Giardia lamblia, Isospora belli, Strongyloides stercoralis,* Ancylostoma o Necator *y Fasciola hepática*, cuyos adultos se localizan en las vías biliares.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Hidróxido de sodio	2 %	500 ml.
2	Solución de lugol	Parasitológico	50 ml.

4.2 MATERIAL

NUM.	NOMBRE DEL MATERIAL	CANTIDAD
1	Portaobjetos	30
2	Cubreobjetos	30
3	Guantes	30

4	Tubos de ensaye de 13 X 100 mm	15
5	Pipetas graduadas de 5 ml	3
6	Cápsula de Beal	15
7	Cinta adhesiva	1
8	Cubre bocas	30
9	Gradillas	15

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios
2	Centrífuga

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.

5.1.1. El método de la cuerda encapsulada o Enterotest requiere que el paciente esté en ayunas.

5.1.2. Fijar el extremo de la cuerda con una cinta adhesiva en la mejilla del paciente y se le hace deglutir.

5.1.3. La cápsula, se va desenrollando a medida que desciende por el estómago y duodeno. Fig No 2.

5.1.4. Retirar la cuerda después de 4 ó 5 horas, observándose el extremo que llegó al duodeno de color amarillo

5.1.5. Se exprime el extremo en una lámina excavada o lámina portaobjeto.

5.1.6. Observar con 10X y 40X.

5.1.7. Al resto del contenido duodenal obtenido con sonda se le agrega una solución de hidróxido de sodio al 2 %.

5.1.8. Trasvasar a un tubo de 13 x 100, se mezcla tapando el tubo y, por agitación se liberan las formas parasitarias del mucus duodenal.

5.1.9. Dejar reposar de 30 a 45 minutos, eliminar el sobrenadante y observar el sedimento directamente o con tinción de lugol.

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. Deben estar perfectamente etiquetadas; nombre, edad y sexo.

5.2.2. Trabajar lo antes posible para aumentar las posibilidades de observar trofozoitos.

5.3. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados
Reportar no se observaron parásitos ó
Se observaron fase del parásito, *Género y especie* del mismo y de 1 a 4 cruces.

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

6.1. Revisar perfectamente bien la cápsula antes de su uso.
6.2. En el caso de sondeo duodenal debe realizarse en el hospital donde el médico es el encargado de realizarla.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Utilizar muestras de referencia como control.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

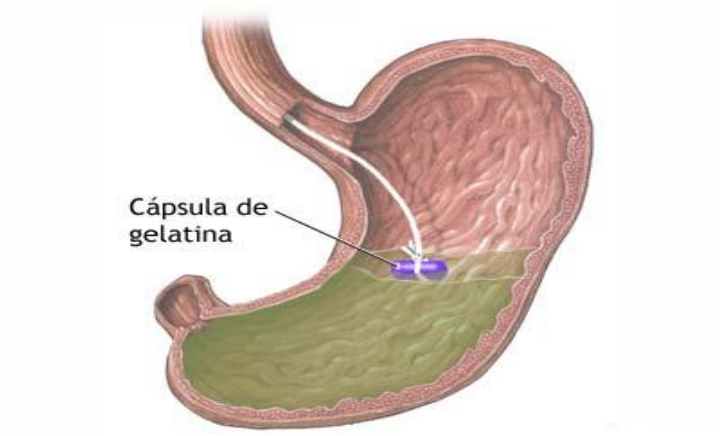

Fig.2. Cápsula de Beal. Fuente: Tay J. Lara, Gutiérrez, Velazco, Parasitología Médica.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I.,Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M.,Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D. F.

9.4. TAY J.,Lara, Gutiérrez, Velazco, Parasitología Médica, Méndez editores, sexta edición 1996, reimpresión 2000, México D. F.

9.5. Beltrán Fabián M.,Tello Casanova R., Naqueira Velarde C.,Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Editor Leonid Lecca García, Lima Perú, 2003.

PRACTICA 5.
Método en fresco del exudado vaginal.

1.- INTRODUCCIÓN

Es un método sencillo en que se utiliza la secreción vaginal para la observación del protozoario; T*richomonas vaginalis.*

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología así como la identificación de T*richomonas vaginalis.*

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

El método se basa en la toma de la secreción vaginal con solución salina fisiológica la cual conserva condiciones semejantes a las del organismo para la observación de los trofozoitos de *Trichomonas vaginalis*.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Solución salina	0.9%	200 ml.

4.2 MATERIAL

NUM.	NOMBRE DEL MATERIAL	CANTIDAD
1	Portaobjetos	30
2	Cubreobjetos	30
3	Guantes	30
4	Espejo vaginal	15
5	Tubos de ensaye de 13 x 100 mm	15
6	Pipetas graduadas de 5 ml	3
7	Mesa ginecológica	1

8	Lámpara de chicote	1
9	Gradillas	15
10	Cubre bocas	30

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.
5.1.1. Preparar los materiales para la toma de muestra.
5.1.2. Acomodar a la paciente en posición ginecológica.
5.1.3. Introducir el hisopo (estéril) en la cavidad vaginal de la paciente
5.1.4. Depositar el hisopo en un tubo que contenga 1 ml se solución salina al 0.9%.
5.1.5. Mezclarlo y tomar una gota de esa suspensión
5.1.6. Depositarla en un portaobjeto
5.1.7. Colocar el cubre objeto sobre la muestra
5.1.8. Observar al microscopio con objetivo de 40 X
5.1.9. Reportar.

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. La muestra debe ser tomada cuidadosamente.
5.2.2. Deben estar perfectamente etiquetadas; nombre, edad y sexo.
5.2.3. Se recomienda 72 horas de abstinencia sexual.

5.5. REPORTE DE RESULTADOS

5.5.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.5.2. Reporte de resultados
Reportar como; se observaron:
Trichomonas vaginalis, escasas, numerosas ó abundantes.

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

La muestra debe ser observada antes de 4 horas, para no confundirlas con leucocitos.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Usar muestras de referencia como control.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I.,Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M.,Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D. F.

9.4 TAY J.,Lara, Gutiérrez, Velazco, Parasitología Médica, Méndez editores, sexta edición 1996, reimpresión 2000, México D. F.

9.6. Beltrán Fabián M.,Tello Casanova R., Naqueira Velarde C.,Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Editor Leonid Lecca García, Lima Perú, 2003.

PRACTICA 6.
Frotis sanguíneos para la identificación de parásitos.

1.- INTRODUCCIÓN

Es un método antiguo para la observación de hemoparásitos por medio de tinciones, los parásitos a observar son Plasmodium, Trypanosoma, Leishmania y microfilarias.

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá a realizar frotis sanguíneos, teñiros e identificar a los parásitos presentes.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

El uso del frotis sanguíneo se fundamenta en la aplicación de colorantes hematológicos, que sirven para hacer evidente el parásito y también se basa en el conocimiento de la morfología del mismo.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Colorante de Giemsa	Hematológica	300 ml.
2	Metanol	Q.P.	200 ml.
3	Aceite de inmersión.		1 ml.

4.2 MATERIAL

NUM.	NOMBRE DEL MATERIAL	CANTIDAD
1	Portaobjetos	30
2	Torundas alcoholadas	30
3	Guantes	30
4	Lancetas	30
5	Picetas.	2

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.
5.1.1. Limpiar perfectamente la zona a puncionar.
5.1.2. Tomar firmemente la lanceta entre el dedo índice y pulgar
5.1.3. Puncionar la zona y colocar una pequeña gota de sangre cerca de un extremo de un portaobjeto limpio
5.1.4. Sostener otro portaobjeto que sirva de dispersor, darle una inclinación de 30 grados, esperar que la gota se deslize sobre el borde. fig. No. 3.
5.1.5. De manera rápida correr el portaobjeto dispersor hacia la adelante para que la sangre se extienda y forme un frotis delgado.
5.1.6. Dejar secar al aire
5.1.7. Teñir según las indicaciones del colorante.
5.1.8. Observar con objetivo de inmersión.

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. Se tomaran 2 frotis a cada paciente.
5.2.2. Deben estar perfectamente etiquetadas

5.3. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados
5.3.3. Reportar la fase, género y especie del parásito

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

6.1. La muestra debe ser observada de manera sistemática.
6.2. Los portaobjetos deberán estar libres de grasa.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)
Usar muestras de referencia como control.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

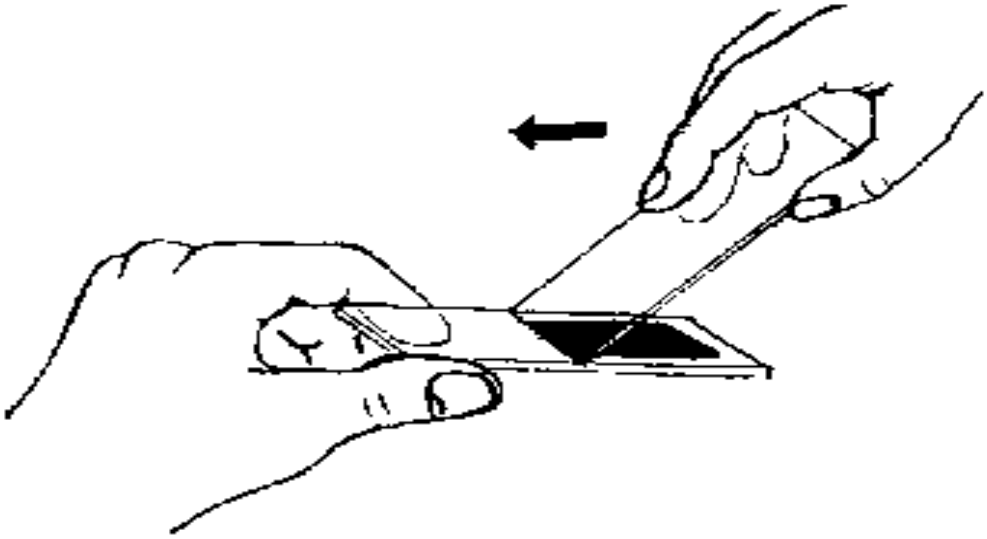

Fig. 3. Imagen realización de frotis sanguíneo. Fuente: Biagi F. Enfermedades parasitarias.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D.F.

PRACTICA 7.
Gota gruesa.

1.- INTRODUCCIÓN

La gota gruesa es una técnica de concentración para la búsqueda de *Plasmodium* que se encuentra en bajas proporciones

.

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología así como a la identificación de los parásitos presentes en la muestra.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

Se fundamenta en la defibrinización de la sangre y laquear los glóbulos rojos, ya que pierden toda la hemoglobina lo que hace que los eritrocitos que están acumulados se vean como fantasma y de esa manera no permiten la observación de los parásitos.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Colorante de Giemsa	Hematológica	300 ml.
2	Metanol	Q.P.	200 ml.
3	Aceite de inmersión.		1 ml.

4.2 MATERIAL

NUM.	NOMBRE DEL MATERIAL	CANTIDAD
1	Portaobjetos	30
2	Torundas alcoholadas	30
3	Guantes	30
4	Lancetas	30
5	Picetas.	2

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.
5.1.1. Se procede al mismo tiempo a hacer el frotis y la gota gruesa, en el mismo portaobjetos, en un extremo la gota gruesa y en el resto el frotis. En este procedimiento solo de describirá la técnica de gota gruesa.
5.1.2. Colocar una gota en uno de los extremos del portaobjetos, con el ángulo de otro portaobjetos extender la gota de manera circular esto es con el fin de desfibrinar la sangre.
5.1.3. Dejar secar y enseguida agregar una gota de agua corriente, para laquear la sangre.
5.1.4. Cuando la gota se observa como una película blanquecina se deja secar nuevamente.
5.1.5. Fijar con metanol absoluto, dejar secar.
5.1.6. Teñir con colorante de Giemsa, Wraight o May Grunwald.
5.1.7. Observar con objetivo de inmersión y reportar. Fig. 4

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. Se tomaran dos gotas gruesas a cada paciente.
5.2.2. Etiquetar perfectamente bien las muestras

5.3. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados
Reportar la fase, genero y si es posible especie del parásito

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

6.1. La muestra debe ser observada de manera sistemática.
6.2. Los portaobjetos deberán estar libres de grasa.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Usar muestras de referencia como control.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

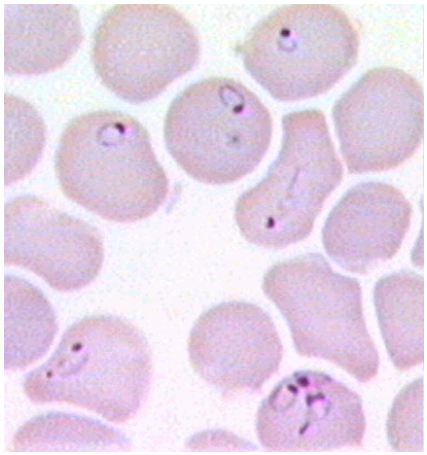

Fig 4. Plasmodium falciparum. Fuente: Atías A. Parasitología Médica.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I.,Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M.,Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D. F.

PRACTICA 8.
Método de Sabin Feldman para Toxoplasma.

1.- INTRODUCCIÓN

Es un método inmunológico que detecta los anticuerpos Anti-Toxoplasma en el suero del paciente.

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología así como la interpretación de la misma.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

Se fundamenta en la detección de anticuerpos Anti-Toxoplasma, producidos por nuestro organismo, y el uso de de un antígeno (Toxoplasmas vivos) más un factor accesorio.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Mezcla antigéno-factor accesorio		*
2	Suero control positivo		*
3	Suero control negativo		*
	Azul de metileno alcalino		*
3	Sol. Salina	0.9%	*

*Un equipo

4.2 MATERIAL

NUM.	NOMBRE DEL MATERIAL	CANTIDAD
1	Tubo de ensaye de 13X 100 mm	15
2	Portaobjetos	15
3	Jeringa de 10 ml	15
4	Torundas alcoholadas	15

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios
2	Baño maría a 37ºC.
3	Termómetro

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.
5.1.1. Obtener 10 ml de sangre del paciente por punción venosa
5.1.2. Obtener el suero.
5.1.3. Proceder como se indica en el cuadro siguiente:

Reactivo	problema	Testigo positivo	Testigo negativo
Sol. Salina	0.05 ml	0.05 ml	0.05 ml
Suero problema	0.05 ml	---	---
Suero positivo	---	0.05 ml	---
Suero negativo	---	---	0.05 ml
Ag. Toxoplasma	0.05 ml	0.05 ml	0.05 ml
Incubar a 37 C durante 1 hora			
Azul del metileno	1 gota	1 gota	1 gota
Incubar a 37 durante 5 mins.			

5.1.4. Leer el microscopio una gota del contenido de cada tubo.
Interpretación de la prueba:

- Trofozoitos sin teñir, suero del paciente con anticuerpos.
- Trofozoitos teñidos, suero del paciente sin anticuerpos.

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. Tomar suero del paciente en ayunas
5.2.2. Se usaran muestras no hemolizadas

5.3. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados
Se reporta como prueba positiva cuando se observa más del 50% de trofozoitos sin teñir.

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

La muestra debe ser observada de manera sistemática.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Utilizar sueros control positivo y negativo.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D.F.

PRACTICA 10.
Tinción de Kinyoun.

1.- INTRODUCCIÓN

Esta técnica se desarrolla para el diagnostico de criptosporidiosis, aunque también se usa para otros coccidios, se trata de una modificación de la tinción de Ziehl-Neelsen.

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología así como la identificación de parásitos presentes en la muestra.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

Se basa en el comportamiento ácido-resistente de la cubierta de algunos parásitos como Isospora (Fig. No 5) y Cryptosporidium, los cuales se tiñen de rojo y destacan sobre un fondo verde o azul, dependiendo del colorante de contraste usado.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Fucsina fenicada	4 %	250 ml
2	Verde de malaquita o Azul de metileno	3 %	200 ml
3	Alcohol metílico	Q.P.	200 ml
4	Alcohol etílico	95 %	20 ml
5	Alcohol ácido	3 %	200 ml
6	Aceite de inmersión	comercial	3 ml

4.2 MATERIAL

NUM.	NOMBRE DEL MATERIAL	CANTIDAD
1	Aplicadores de madera	15

2	Portaobjetos	15
3	Puentes de tinción	2

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.
5.1.1. Realizar un frotis de la muestra.
5.1.2. Dejar secar perfectamente.
5.1.3. Cubrir las gotas con unas gotas de alcohol metílico y dejar que seque.
5.1.4. Cubrir la preparación con el colorante de fucsina durante 5 mins.
5.1.5. Lavar con alcohol ácido y enjuagar con agua corriente
5.1.6. Agregar verde de malaquita o azul de metileno dejar actuar durante 1 min., lavar con agua corriente y dejar secar.
5.1.7. Observar con objetivo de inmersión. Fig. No.5.

Interpretación de la prueba: los parásitos ácido alcohol resistentes se tiñen de color rojo.

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. Materia fecal identificada: Nombre, edad y sexo del paciente.

5.2. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

9.3.1. Reporte de resultados
Reportar se observaron o no se observaron, fase del parásito, genero y especie.

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

La muestra debe ser observada de manera sistemática.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Se utilizan preparaciones conocidas como control.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

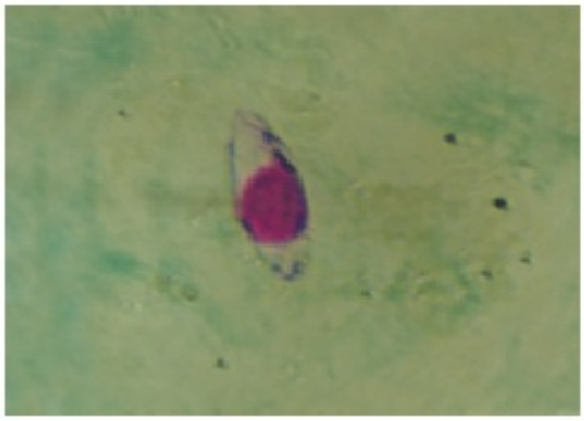

Fig. No 5 Isospora teñida con el método de Kinyoun. Fuente: Biagi F. Enfermedades parasitarias.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D

PRACTICA 11.
Método de sedimentación de Teleman.

1.- INTRODUCCIÓN

Los quistes, ooquistes, larvas y huevos, pueden concentrarse por diversos procedimientos, lo cual permite corroborar el hallazgo del método directo y conocer la intensidad de la enteroparasitosis.

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología así como la identificación de parásitos presentes en la muestra.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

El método se fundamenta en la diferencia de densidades existente entre las formas parasitarias presentes en la muestra y las soluciones empleadas.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Ácido clorhídrico	50%	250 ml
2	Éter etílico o de petróleo		250 ml

4.2 MATERIAL

NUM.	CANTIDAD	DESCRIPCION
1	15	Portaobjetos
2	15	Cubreobjetos
3	15	Pipeta Pasteur con bulbo
4	15	Gradillas
5	2	Pipetas graduadas de 10 ml.
6	15	Coladores
7	15	Embudos
8	15	Tubo de ensaye 13X100 mm

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios
2	Centrifuga

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.

5.1.1. Tomar una pequeña porción de heces y emulsionarla con 3 ml. de acido. Clorhídrico al 50 %.

5.1.2. Añadir igual cantidad de éter, tapar y agitar hasta que se forme una emulsión homogénea.

5.1.3. Filtrar sobre colador y embudo

5.1.4. Centrifugar 3 minutos a 2500 r.p.m.

5.1.5. Se formaran cuatro capas: éter, detritus, acido clorhídrico y sedimento.

5.1.6. Tomar la muestra con pipeta Pasteur, para su observación del fondo del tubo.

5.1.7. Observar con 10 y 40 X.

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. Materia fecal identificada: Nombre, edad y sexo del paciente.

5.3. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados
Reportar fase, género y especie del parásito, así como la cantidad por cruces.

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

La muestra debe ser observada de manera sistemática.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Se utilizan preparaciones conocidas como control.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D.F.

PRACTICA 12.
Técnica de Baerman.

1.- INTRODUCCIÓN

Fue en 1917 cuando Baerrman diseñó el aparato que lleva su nombre, para recuperar larvas de uncinaria del suelo. En 1922, Cort y cols modificaron el método colocando una malla de alambre sobre el embudo, luego una gasa y usaron agua caliente en lugar del agua a temperatura ambiente que se describía en la técnica original (fig. No 6).

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología así como la identificación de parásitos presentes en la muestra.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

Es un método conveniente para hacer una buena concentración para larvas. En parasitología médica se utiliza para concentrar larvas de *Strongyloides stercoralis*, *Necator americanus* y Ancylostoma y se fundamenta en el higrotropismo positivo de las larvas.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	lugol	parasitológico	20 ml.

4.2 MATERIAL

NUM.	CANTIDAD	DESCRIPCION
1	15	Embudos
2	15	Tela de alambre
3	15	Pinzas Mohr
4	15	Soporte universal
5	15	Gasa
6	15	Manguera de caucho

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios
2	Termómetro

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.
5.1.1. Armar el dispositivo según se muestra en la fig. No.6.
5.1.2. Llenar el embudo con agua previamente calentada a 40 grados centígrados, de tal manera que la malla y la gasa se mojen
5.1.3. Colocar la materia fecal sobre la malla y la gasa
5.1.4. Dejar reposar durante 2 hrs. Para que las larvas pasen al agua del embudo
5.1.5. Pasadas las 2 hrs. Se abre la pinza, se deja salir el agua y se recibe en 2 tubos de ensaye de 13 X 100 mm.
5.1.6. Centrifugar el líquido durante 1 min a 2000 rpm.
5.1.7. Tomar una muestra del sedimento y colocarla entre porta y cubreobjetos.
5.1.8. Examinar al microscopio con 10X y posteriormente con 40 x.

Interpretación de la prueba:

Se observan con detenimiento las larvas para la identificación en vivo. Se observaran las cápsulas bucales incipientes en *N. Americanus y A. duodenale* y la cola bifurcada en las de *Strongyloides stercolaris*. Si se desea inmovilizarlas se agregará por capilaridad una gota de lugol o de ác. Acético o clorhídrico

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. Materia fecal identificada: Nombre, edad y sexo del paciente.

5.4. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados
Se reportará el género de larvas que se observan.

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA
La muestra debe ser observada de manera sistemática.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)
Usar tablas de identificación de larvas o muestras control.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

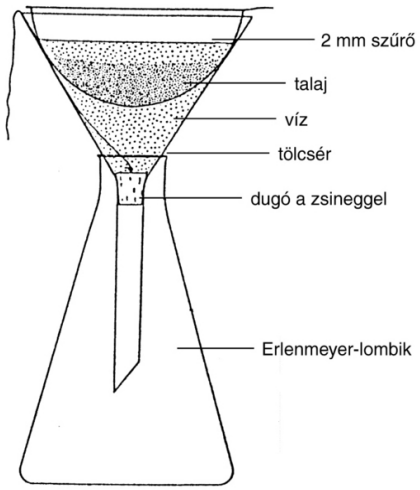

Fig. No.6 Aparato de Baerman Fuente: Tay J. Lara, Gutiérrez, Velazco, Parasitología Médica.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D.F.

PRACTICA 13.
Técnica de Harada Mori.

1.- INTRODUCCIÓN

Es útil, principalmente, para la obtención de larvas rabditiformes y filariformes de Uncinarias y estrogiloideos (fig. No.7 y 8) Aunque también desarrollan Ascaris.

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología así como la identificación de parásitos presentes en la muestra.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

Este método se fundamenta en que los huevos de ciertos nematodos pueden tener su desarrollo hasta estadios larvales permitiendo su diferenciación morfológica, bajo condiciones favorables.

.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Agua destilada		100 ml
2	Solución salina	0.9%	100 ml

4.2 MATERIAL

NUM.	CANTIDAD	DESCRIPCION
1	15	Tubo de ensaye 15X150 mm
2	15	Papel filtro
3	15	Tapones de algodón
4	1	Gradilla para tubo de 15 X 150 mm
5	15	Aplicadores o abatelenguas

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.
5.1.1. Agregar al tubo 1 ó 2 mL de agua destilada o solución salina.
5.1.2. Cortar una tira de papel filtro de 12-15 x 1,5-2 cm dependiendo del diámetro y tamaño del tubo.
5.1.3. Extendido de la muestra:
5.1.4. Con el aplicador, extender la muestra de heces (0,5 a 1 g) sobre la superficie del papel, dejando libre los extremos.
5.1.5. Colocar cuidadosamente el papel filtro dentro del tubo, evitando el contacto de las heces con el liquido.
5.1.6. Tapar el tubo y rotular con los datos del paciente.
5.1.7. Incubar a 27ºC - 37°C por 4 a 10 días

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

Materia fecal debe de ser lo más reciente posible, identificada: Nombre, edad y sexo del paciente.

5.5. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados.
Reportar estadio encontrado, género y especie

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

La muestra debe ser observada de manera sistemática.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Usar tablas de identificación de larvas o muestras control.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

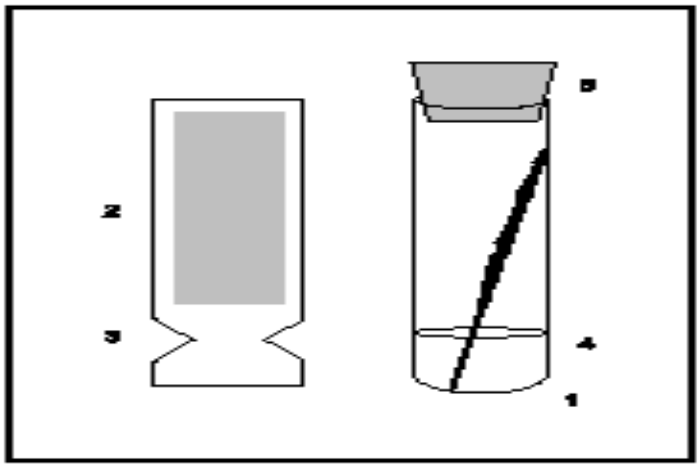

Fig. No.7 Cultivo de Harada. Fuente. Biagi F. Enfermedades parasitarias.

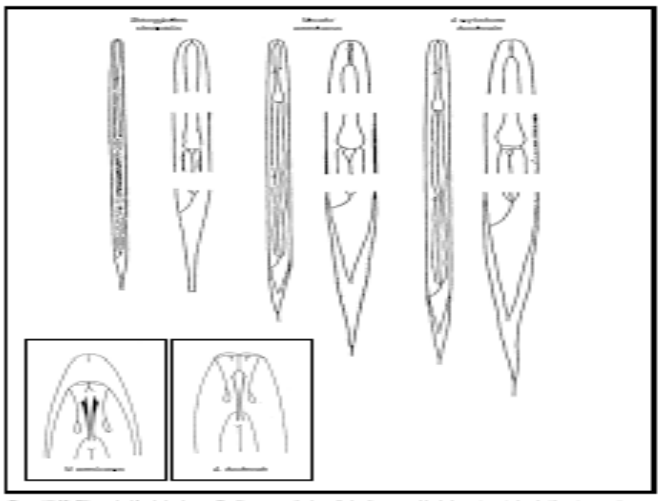

Fig. No.8. Características morfológicas diferenciales de las larvas. Fuente: Biagi F. Enfermedades parasitarias.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D.F.

PRACTICA 14.
Método de Graham.

1.- INTRODUCCIÓN

Es el método de elección para el diagnostico de *Enterobius vermicularis,* aunque también se han encontrado huevos de *Taenia*, huevos de *Ascaris lumbricoides de T. trichiura y de H. nana*

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología así como la identificación de parásitos presentes en la muestra.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

Es el método de elección para el diagnostico de *Enterobius vermicularis,* aunque también se han encontrado huevos de *Taenia*, huevos de *Ascaris lumbricoides de T. trichiura y de H. nana*

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Xilol	Q.P.	10 ml
2	Lugol	parasitologico	10 ml

4.2 MATERIAL

NUM.	CANTIDAD	DESCRIPCION
1	15	Abatelenguas
2	15	Cinta adhesiva transparente
3	15	Pares de guantes
4	3	Tijeras
5	3	Marcador
6	15	Cubrebocas

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.

5.1.1. Con anterioridad instruir al paciente para que llegue por la mañana al laboratorio, sin bañarse ni defecar para evitar el arrastre mecánico de los huevos del parásito.

5.1.2. Tomar el abatelenguas y cerca de los extremos colocar la punta de la cinta adhesiva, con la parte adherente hacia fuera, sujetar con otra porción de cinta. Como de muestra en la fig. No. 9

5.1.3. Colocar al paciente en posición genupectoral.

5.1.4. Hacer presión sobre la porción perineal y perianal, con movimientos de arriba hacia abajo y de derecha hacia izquierda.

5.1.5. Separar cuidadosamente la cinta del abatelenguas con ayuda de las tijeras.

5.1.6. Adherir al portaobjetos y en uno de los extremos rotular la muestra.

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. El paciente debe acudir al laboratorio sin asearse, sin la aplicación de talco, cremas. si es posible con la ropa de dormir.

5.3. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados

No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados

Se reportará como escasos, numeroso o abundantes. Fase del parásito y género y especie.

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA
La muestra debe ser observada de manera sistemática.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)
Se usaran muestras conocidas e imágenes como se muestra en la fig. No.10.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

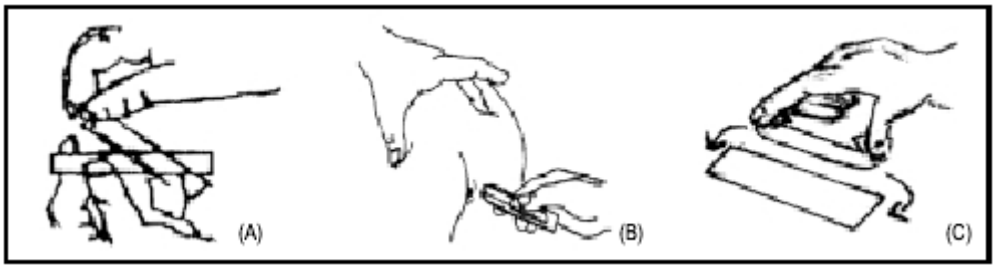

Fig. No.9 Ilustración del método de Graham. Fuente: Biagi F. Enfermedades parasitarias.

Fig. No.10 Huevos de *Enterobius vermicularis.* Fuente: Biagi F. Enfermedades parasitarias.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D.F.

PRACTICA 15.
Preservación de parásitos.
"MIF"

1.- INTRODUCCIÓN

La preservación de parásitos resulta de gran utilidad, como muestras usadas en la docencia, de referencia como control de calidad y en las situaciones en que las muestras no puedan ser analizadas inmediatamente.

2.-OBJETIVOS

2.1. El alumno aprenderá la realización de la metodología para la preservación de parásitos de interés.

3.- PRINCIPIO Y METODOLOGÍA DE LA DETERMINACIÓN

Es un método para observar parásitos de forma sencilla, económica y rápida y se basa en la propiedad preservadora del formol y en el efecto bacteriostático y colorante del merthiolate y del yodo. Es recomendable para la preservación de quistes, aunque tradicionalmente se ha empleado también para la conservación de huevos.

.

4.- LISTA DE REQUERIMIENTOS

4.1 REACTIVOS

NUM.	NOMBRE DEL REACTIVO	CONC.	CANTIDAD
1	Agua destilada		350 ml
2	Merthiolate marca lilly	1:100	200 ml
3	Formol		25 ml
4	Glicerina		5 ml
5	Ioduro de potasio		10 gr
6	Yodo		5 gr

4.2 MATERIAL

NUM.	CANTIDAD	DESCRIPCION
1	10	Tubo de ensaye de 13X100 mm con tapón de rosca
2	10	Pipetas Pasteur
3	10	Bulbos
4	10	tubos de ensaye de 13 X 100m
5	5	Embudos
6	5	Coladores

4.3 EQUIPO

NUM.	NOMBRE DEL EQUIPO
1	Microscopios
2	Centrífuga

5.- TÉCNICA O PROCEDIMIENTO

5.1. Desarrollo de la técnica.
5.1.1. Con una muestra previamente analizada y que se sabe parasitada
5.1.2. Realizar una técnica de concentración, de preferencia Ritchie o Teleman.
5.1.3. En el sedimento obtenido, agregar igual cantidad de la solución de MIF, mezclar hasta obtener una suspensión homogénea. Se puede conservar de esta manera durante varias semanas o realizar una preparación de doble montaje (sándwich), fig No 11.

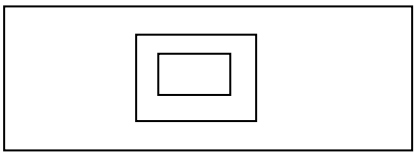

Fig. No. 11

Interpretación de la prueba:

Se observaran en las formas parasitas, el núcleo teñido con mayor intensidad.

5.2. MUESTREO Y MUESTRA

5.2.1. Tomar la muestra de heces sin contaminación.

9.4. REPORTE DE RESULTADOS

5.3.1. Calculo de resultados
No se realizan cálculos.

5.3.2. Reporte de resultados.
Reportar estadio encontrado, género y especie

6.- CONFIABILIDAD ANALÍTICA

La muestra debe ser observada de manera sistemática.

7.- GARANTIA DE CALIDAD (CONTROL DE CALIDAD)

Usar tablas de identificación de larvas o muestras control.

8.- PRACTICABILIDAD

8.1. El analista debe ser un alumno de Química Clínica supervisado por el docente o el Técnico académico o bien un Químico Clínico, Químico-Fármaco-Biólogo ó Quimicobiólogo-Parasitólogo con entrenamiento supervisado.

9.-BIBLIOGRAFÍA

9.1. Haro Arteaga I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

9.2. Atías A., Parasitología Médica, Editorial Mediterráneo, 1999, Santiago de Chile.

9.3. Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana,17ª reimpresión, 2000, México D.F.

Anexos

PREPARACION DE REACTIVOS

Sol. Salina 0.9%

- Se pesan 9 g NaCl, se disuelven en agua destilada y se completa el volumen a 1000 ml en matraz volumétrico.

Solución de piramidon 3%

- Se disuelven 3 ml de piramidon en 100 ml destilada y se guarda en frascos con tapón hermético no metálico.

Acido acético 36%

- Se disuelven 36 ml de acido acético en 100 ml de agua destilada y se guarda en frascos con tapón hermético no metálico.

- Acido clorhídrico 40 %

Medir 40 ml. de HCl y aforar a 100 ml. de agua destilada.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE BIOANÁLISIS
REGIÓN VERACRUZ

Universidad Veracruzana

Nombre:_____
Fecha**:**_____

NOMBRE DE LA
PRACTICA:_____
No. De la practica:_____

MUESTRA _____

FUNDAMENTO:_____
_____
_____

OBSERVACIONES.

REPORTE
_____
_____
_____
_____

CONCLUSIONES:
_____
_____
_____