1982 B - 1987 B 78415681

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



TESIS/CUCBA

MANUAL DE TALLER DE ANÁLISIS CLÍNICOS

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

MARÍA DE LOURDES LÓPEZ FLORES

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL. JUNIO DE 2007



Universidad de Guadalaiara

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y

Agropecuarias

Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura en Biología

1069/ C. C. BIODOSÍA

C. MARIA DE LOURDES LÓPEZ FLORES PRESENTE

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado en la modalidad de: Producción de materiales educatives abiación paquete didáctico con el titulo: "MANUAL DE PRACTICAS DE TARRARIO" DE - N. Ugasan ANALISÍS CLINICOS" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director / a de dicho trabajo el/la: BIOL. ADOLFO CARDENAS ORTEGA v el asesor/es;es .el/la: M en C. RÓSA MARÍA DOMINGUEZ ARIAS. 1 11/2/01

Sin más por el momento, le envío un caluroso saludo.

HORÓGI

su te

cros appo

ALLER بالأشارة والزارات tor / a

s é s e

Adding.

نافيات صد ALLER

> and the Co الت أيان

ATENTAMENTE "PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, | Zapopan., 26 de Marzo del 2007.

DR. CARLOS ÁLVAREZ MOYA PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

M en C. ISELA LETICIA ALVAREZ BARAJAS SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Dr. Carlos Álvarez Moya. Presidente del Comité de Titulación. Carrera de Licenciado en Biología. CUCBA. Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad PRODUCCIÓN DE MATERIAL EDUCATIVO, opción: PAQUETE DIDÁCTICO, con el título: "MANUAL DE PRACTICAS DE TALLER DE ANÁLISIS CLÍNICOS" que realizó la pasante: MARIA DE LOURDES LÓPEZ FLORES, con número de código: 78415681, consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente "Piensa y Trabaja"

Las Agujas, Zapopan. A 20 de Marzo de 2007

Q.F.B. ADOLFO CARDENAS ORTEGA

Director del trabajo

M.C. ROSA MARIA DOMINGUEZ ARTAS

Asesor

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
DRA. GALINA ZAITSEVA PETROVNA	1/2/10	29.03.07
DR. JORGE PEREGRINA SANDOVAL	The same of the sa	30/03/07
Q.F.B. CYNTHIA TEMORES RAMÍREZ	19,4	27/11/07
Supl. BIOL. SERGIO ALVAREZ BARAJAS	20	29.03-07
	7 /	

AGRADECIMIENTOS

Gracias: Una palabra corta que tiene mucho significado y que expresa todo mi sentir, todo comenzó con una ilusión y con el esfuerzo, desvelos, sacrificio y apoyo que ustedes me brindaron todo el tiempo de mi preparación. *Gracias padres.* La satisfacción que siento se las dedico como forma de correspondencia a la confianza que depositaron en mí.

También de una forma muy especial quiero agradecer al Maestro *Adolfo Cárdenas Ortega* por todo su tiempo, dedicación, paciencia, apoyo y por los ánimos que me transmitió para llevar a cabo esta tesis que con mucho orgullo hoy presento.

Asimismo quiero agradecer a *Rosa María Domínguez Arias, Biol.*. *Sergio Álvarez, Ana Rosa Morán y Rebeca Organista* quienes con su paciencia y tiempo me apoyaron guiándome para la elaboración de este trabajo.

Muchísimas gracias a toda *mi familia* quien también me apoyó y me animó a concluir el sueño que hace ya varios años inicié.

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS

División de Ciencias Biológicas y Ambientales Departamento de Biología Celular y Molecular

Manual de Prácticas Del Taller de Análisis Clínicos

Universidad de Guadalajara

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias División de Ciencias Biológicas y Ambientales Departamento de Biología Celular y Molecular

Autores:

Biol. María de Lourdes López Flores

Q.F.B. Adolfo Cárdenas Ortega

Primera Edición:

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, agosto de 2007

Diseño:

Q.F.B. Adolfo Cárdenas Ortega

Asesora:

M.C. Rosa María Dominguez Arias

DIRECTORIO

Mtro. Carlos Jorge Briseño Torres Rector General de la Universidad de Guadalajara

Dr. Juan de Jesús Taylor Preciado Rector del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Dr. Alfredo Feria Velazco
Director de la División de Ciencias Biológicas y Ambientales

Dra. Graciela Gudiño Cabrera Jefa del Departamento de Biología Celular y Molecular

INDICE

	Página
Directorio	3
Indice	4
Introducción	5
Reglamento del laboratorio de docencia de biología celular y molec	ular 6
Instructivo y guía para el desarrollo de las prácticas	7
Estructura de las prácticas	9
Práctica 1 Urianálisis	10
Práctica 2 Biometría hemática	20
Práctica 3 Banco de sangre	34
Práctica 4 Química Sanguínea	43
Práctica 5 Serología	54
Práctica 6 Coproparasitoscópico	63
Bibliografia	72

INTRODUCCIÓN

El presente manual tiene el propósito de ofrecer a los alumnos de la licenciatura en Biología del C.U.C.B.A., U.D.G. un apoyo didáctico en la enseñanza de Análisis clínicos, facilitando además el trabajo docente, este permitirá que los alumnos tengan en un solo documento a las prácticas contempladas en el programa académico de la materia, en este manual se intentó ser lo más breve posible, proporcionando la información indispensable permitiendo además que el alumno acuda a consultar a la bibliografía recomendada. Aún cuando existan en la mayoría de los laboratorios equipo especializado para automatizar los análisis clínicos, es imprescindible conocer las técnicas manuales para cimentar el aprendizaje práctico y conservar esta experiencia como un apoyo del conocimiento.

Finalmente, esperamos que también pueda servir como apoyo a los otros profesionistas interesados en el laboratorio clínico.

REGLAMENTO DEL LABORATORIO DE DOCENCIA DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR.

- 1. Es requisito indispensable traer bata.
- 2. Se dará un margen de 20 minutos para la entrada al laboratorio.
- 3. Se restringirá al máximo la salida del alumno durante la práctica.
- 4. No se alterará el día previamente fijado para la realización de la práctica.
- 5. No se permiten visitas.
- 6. No se permite ingerir alimentos en el laboratorio.
- 7. Por favor, no fumar.
- 8. Cada equipo de trabajo entregará un vale por el material respectivo.
- Las personas que forman los equipos de trabajo se responsabilizarán del material y equipo entregado.
- 10. Es importante cuidar de no contaminar los reactivos.
- 11. Es necesario notificar al profesor responsable del grupo la utilización de los aparatos de laboratorio, pedir asesoría en caso de no conocer su funcionamiento
- 12. El material y la mesa de trabajo deben de quedar perfectamente limpios después de la práctica.
- 13. El solicitante del material deberá pedirlo al responsable del laboratorio de acuerdo al procedimiento preestablecido (con vale y credencial) y se apegará a los lineamientos existentes en el laboratorio.
- 14. Para trabajar en el laboratorio se requiere de la asesoría de un profesor, no se atenderá a ningún alumno si no se encuentra el profesor.
- 15. Se solicita la revisión de material proporcionado por el responsable del laboratorio al recibirlo el alumno. Reclamaciones posteriores o al final de la práctica no serán atendidas.

INSTRUCTIVO Y GUÍA PARA EL DESARROLLO DE LAS PRÁCTICAS.

Las siguientes instrucciones permitirán al alumno efectuar su trabajo adecuadamente. Esperamos que se utilice a este Manual como un cuaderno de trabajo, anotando resultados y observaciones y respondiendo a las preguntas. Se recomienda leer cuidadosamente a la práctica antes de iniciarla y expresar sus dudas al instructor. Es de mucha utilidad consultar a las referencias bibliográficas señaladas al final de cada práctica.

- a) El alumno debe conocer y cumplir el reglamento del laboratorio.
- b) Cada alumno debe seguir cuidadosamente las indicaciones dadas por su instructor.
- c) Todo alumno pertenecerá a un equipo de trabajo y tendrá un lugar particular en el laboratorio donde permanecerá durante el desarrollo de las prácticas, excepto cuando tenga que utilizar aparatos.
- d) No se permite colocar ropa, libros o bolsas sobre las mesas de trabajo, excepto el manual de prácticas o el cuaderno de notas.
- e) Se prohíbe arrojar materiales sólidos a las tarjas (papel, algodón, aplicadores de madera, porta o cubreobjetos, etc.)
- f) Durante el desarrollo de la práctica debe evitarse el contacto de las manos o de cualquier objeto con la boca, nariz u oídos.
- g) NO malgastes los reactivos puesto que son caros y difíciles de preparar, están racionados.

- h) Cuando use pipeta serológica, utilice perilla, y no use la misma pipeta para distintos reactivos.
- Regrese al sitio original los frascos de reactivos después de tomar lo que necesite, y déjelos perfectamente cerrados.
- j) Use guantes desechables cuando maneje materiales biológicos y cubrebocas cuando sea necesario.
- k) Evite el contacto de reactivos con la piel, cuando suceda esto, avise inmediatamente a su instructor.
- Lave perfectamente bien sus manos con agua y jabón antes de salir del laboratorio
- m) Los reportes de cada práctica deben ser presentados en forma individual de acuerdo con las indicaciones particulares del profesor y deben incluir:
 - -Resultados
 - -Dibujos
 - -Discusión
 - Sólo se calificarán los reportes de prácticas cuando el alumno cuente con la respectiva asistencia al laboratorio.
- n) Deberá conocer y aplicar las disposiciones para el manejo de RPBI. (Residuos Potenciales Biológico Infeccioso)

ESTRUCTURA DE LAS PRÁCTICAS

ANTECEDENTES: Se exponen los conceptos básicos respecto a la práctica.

OBJETIVOS: Que se espera obtener del desarrollo de cada práctica.

MATERIAL:

Biológico.

De laboratorio, vidrio o metal.

Reactivos, indicando si son químicamente puros o a que concentración se requieren y en caso de ser necesario, se describirá como prepararlos. Equipo, útil para desarrollar a la práctica.

METODOLOGÍA: Descripción del procedimiento paso a paso, para el correcto desarrollo de la práctica.

RESULTADOS: Se escribirán los datos o resultados encontrados

ACTIVIDADES: El estudiante elaborará gráficas, tomará fotografías y hará lo indicado en cada práctica con las observaciones e información obtenida.

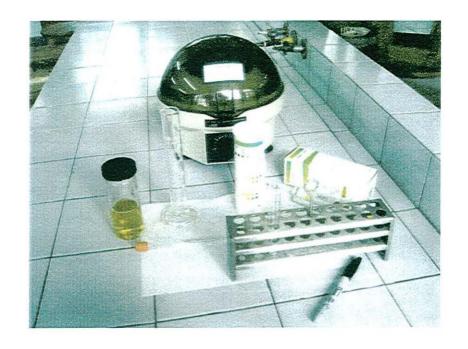
PREGUNTAS: Se harán dos grupos, el primero servirá para ilustrar al alumno antes del desarrollo de la práctica. El segundo se reportará al terminar la práctica así el profesor sabrá si se lograron los objetivos de esta.

DISCUSION: Es un relato de lo acontecido durante la práctica, si fue fácil, si se logró lo establecido, si hubo discrepancias entre los resultados de los demás grupos, si fue o no útil como herramienta del proceso enseñanza-aprendizaje.

CONCLUSIONES: Se escribirán de acuerdo a lo obtenido al final de la práctica y de la investigación bibliográfica.

EVALUACION: Espacio para que el Profesor anote sus observaciones y otorgue su calificación.

Urianálisis



URIANÁLISIS

ANTECEDENTES

La orina es un líquido excretado por el riñón. Algunos padecimientos renales, de las vías urinarias y extrarenales modifican a la orina en sus caracteres físicos (densidad y pH), en su composición con la aparición de compuestos que normalmente no contiene (glucosa, cuerpos cetónicos, proteínas, hemoglobina, bilirrubinas) o con el aumento en la cantidad de compuestos normales (urobilinógeno) y con la presencia de elementos morfológicos (bacterias colifórmes, leucocitos, eritrocitos) detectados por las tiras reactivas o por su presencia en el sedimento urinario como tales y también aparecer como cilindros de proteína, leucocitos o eritrocítos. Primero se deberá utilizar la técnica de la tira reactiva y cuantificar a la glucosa y la proteína si se detectaran por este método. El análisis de orina es uno de los procedimientos de laboratorio más comunes aplicados en la práctica médica proporcionando ayuda para el diagnóstico y diferenciación de padecimientos generalizados y del aparato genitourinario.

OBJETIVOS

- Elaborar un examen general de orina manual, no automatizado.
- Interpretar los parámetros cualitativos y cuantitativos.
- Diferenciar a los elementos del sedimento urinario.

MATERIAL

Biológico

Orina reciente en frasco limpio (50-100 ml)

De laboratorio

Portaobjetos

Cubreobjetos

Probeta graduada de 50 ml.

Dos tubos de ensavo 13 X 100 mm.

Gradilla

Pipeta Pasteur

Pipeta de 2 ml. (3)

Micropipeta de 50 ul (microlitros)

Puntas amarillas para micropipeta

Guantes desechables

REACTIVOS

Tiras reactivas para urianálisis Acido sulfosalicílico al 3% Equipo de Glucosa oxidasa

Equipo

Densimetro (urinómetro) o refractómetro. Espectrofotómetro Centrifuga clinica Microscopio

METODOLOGIA

Examen Físico-químico. Si se tiene poca muestra se deberá utilizar un refractómetro introduciendo orina con una pipeta Pasteur hasta llenar la cámara y leer en la escala el valor de la densidad. Cuando hay mayor cantidad, utilizar una probeta de 50 ml., llegando hasta la marca de 50 ml, introducir un densímetro (urinómetro) cuidando que este libre de las paredes de la probeta y anotar el valor de la densidad.

A continuación identificar y llenar dos tubos de ensayo de 13 X 100 mm. hasta 3/4 partes y en uno de ellos, introducir una tira reactiva para urianálisis, sacarla del

tubo y dejar a la tira en sitio libre por 5 a 10 minutos e introducir los dos tubos de ensayo con muestra a una centrifuga y darle 10 minutos de centrifugación a 3,000 r.p.m., durante ese tiempo se podrán anotar los valores obtenidos por las diversas reacciones en la tira reactiva, leyendo de pH (arriba) hasta sangre (abajo). Una vez terminado el ciclo de centrifugación, se decantará toda la muestra de uno de los dos tubos para efectuarle el examen microscópico.

El otro tubo nos servirá para efectuar análisis químico cuantitativo a la muestra que manifestó positividad en la tira reactiva para los parámetros de proteína y/o glucosa.

La siguiente fórmula se utilizará para obtener el resultado de glucosa y proteína en orina

Absorbancia Valor A	Absorbancia Concentración
del X del 💳	del del
Problema Estándar	Estándar Problema

Determinación de proteína en orina cuando fue positiva en la tira reactiva:

	Problema	Blanco	Estandar
Orina filtrada	1.25 ml	-	-
Agua destilada.	-	1.25 ml	-
Solución Estandar	-	_	1.25 ml
Ácido sulfosalicilico 3%	3.75 ml	3.75 ml	3.75 ml

Reposar 5 minutos y leer a 420 nm ajustando a cero con el blanco.

Hacer los cálculos con la lectura en absorbancia del problema y del estandar tomando en consideración el valor del estandar

Reportar en miligramos por decilitro, mg/dl.

Determinación de glucosa en orina cuando fue positivo en la tira reactiva:

	<u>Problema</u>	Blanco	Estandar	
Orina centrifugada	25 ul*	-	-	* microlitros (0.025 ml)
Agua destilada		25 ul*	-	
Solución estandar	-	-	25 ul*	
Reactivo de glucosa oxidasa	2 ml	2 ml	2 ml	

Reposar 10 minutos y leer a 510 nm ajustando a cero con el blanco.

Hacer los cálculos con la lectura en absorbancia del problema y del estandar tomando en consideración el valor del estandar.

Reportar en gramos por litro.

Examen microscópico. Se decanta el sobrenadante después de la centrifugación, y se hará la revisión del sedimento, depositando un poco menos de una gota del sedimento sobre un portaobjetos y se cubre con un cubreobjetos, se enfoca con menor aumento (10X) y se observa detalladamente con 40X, los elementos morfológicos se reportaran después de haber revisado al menos diez campos para hacer el reporte confiadamente en Nº por campo.

RESULTADOS

Hemoglobina=

Físico-químico	Microscópico		
Densidad=			
pH=	Leucocitos=	por campo.	
Leucocitos=	Eritrocitos=	por campo.	
Nitrito=	Cilindros=	por campo.	
Proteína=			
Glucosa=	Bacterias= Escas	sas, moderadas o abundantes.	
Cuerpos Cetónicos=	Levaduras=		
Urobilinógeno=	Células epiteliales uretrales =		
Bilirrubina=	Células epiteliales vaginales =		
Sangre=	Cristales=		

ACTIVIDADES

- 1. Fotografiar o dibujar la tira reactiva, sin muestra y con muestra positiva.
- 2. Fotografiar o dibujar tubo proteína positivo.
- 3. Fotografiar o dibujar tubo glucosa positivo.
- 4. Elaborar curva de calibración de proteína y/o glucosa.

PREGUNTAS

INICIALES

¿Cuáles metabolitos podrán elevar el valor de la densidad?

¿Cuál es el rango del valor de pH de la orina normal?

En caso de una infección en vías urinarias ¿qué parámetros del examen general de orina se modifican?

FINALES

¿Cuántos Leucocitos se considera normal en un sedimento?

¿Qué tipos de cristales podemos encontrar en el sedimento?

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

EVALUACIÓN

Hematología



BIOMETRÍA HEMÁTICA

ANTECEDENTES

Se refiere al estudio morfológico de la sangre, la cual está constituida por dos componentes: uno sólido y otro líquido.

Componente líquido de la sangre: el plasma, está compuesto de proteínas simples, metabolitos y electrolitos.

Componente sólido de la sangre:

- Eritrocitos, glóbulos rojos o hematíes.
- Reticulocitos (hematíes con restos de cromatina).
- Leucocitos o glóbulos blancos.
- Plaquetas.

Para fines prácticos de esta materia en el C.U.C.B.A, U de G se propone establecer a una biometría bemática como:

- Fórmula roja (hemoglobina y valor hematocrito)
- Fórmula blanca (número total de leucocitos y recuento diferencial leucocitario)
- Rutina (hemoglobina, hematocrito y número total de leucocitos)
- Biometría hemática completa (hemoglobina, hematocrito, número total de leucocitos y recuento diferencial de leucocitos)

Usualmente se puede considerar que una biometría hemática se compone de:

- a) Fórmula blanca (recuento de leucocitos)
- b) Fórmula roja
- c) Recuento de plaquetas

La hemoglobina es la sustancia de más importancia localizada en el interior del glóbulo rojo, se trata de una hemoproteína. La hemoglobina reacciona con el ferricianuro y forma metahemoglobina el cual con el cianuro de potasio forma la cianometahemoglobina que puede leerse a 540 nanómetros.

El valor hematocrito es el volumen de eritrocitos y se basa en la separación de los glóbulos rojos y el plasma, cuando se centrifuga la sangre de 2000 a 3000 revoluciones por minuto durante 30 minutos y se expresa como el porcentaje del volumen total de la sangre, el valor de éste depende del número de hematíes circulantes pero también del tamaño de los mismos.

En **el recuento de leucocitos**, se aprovecha que son resistentes a soluciones hipotónicas ácidas (líquido de Türck) y que puedan ser contados eliminando a los eritrocitos.

Para su diferenciación morfológica se hace un extendido (frotis) se tiñe al Wright y en ella podemos estudiar a las diversas estirpes de leucocitos

Células	Proporción relativa	
Neutrófilos	55-65%	
segmentados		
Bandas	3-5%	
Eosinófilos	0.5-4%	
Basófilos	0.5%	
Monocitos	4-8%	
Linfocitos	25-35%	

Las plaquetas o trombocitos son cuerpecillos hialinos incoloros y refringentes de tres a cinco unidades de diámetro sin núcleo en forma de disco circular u oval que se tiñen de violeta con la coloración de Wright.

Los reticulocitos son eritrocitos en la última fase de maduración y su presencia en número mayor al normal es indicativo de una anomalía por ausencia de glóbulos rojos su cromatina se tiñe fácilmente con azul de cresil brillante.

OBJETIVO GENERAL

Efectuar una biometria hemática completa.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1. Cuantificar la hemoglobina.
- 2. Determinar el valor hematocrito.
- 3. Llevar a cabo el conteo del número total de leucocitos.
- Efectuar el recuento diferencial de leucocitos.
- Realizar el recuento de reticulocitos.
- 6. Observación de plaquetas en frotis reportándolas cualitativamente.

MATERIAL

Biológico:

Sangre obtenida con E.D.T.A.

De laboratorio:

Pipetas de Thoma para leucocitos con boquilla

Gradilla

tubo de ensaye de 13X100 mm.

Tubos capilares

Pipetas serológicas de 1 mililitro

Pipetas serológicas de 5 mililitros

Cámara de Neubauer

Pipeta de Shalí con boquilla

Celdas para espectrofotómetro

Portaobjetos

Pizeta con Buffer para Wright (fosfatos)

Mechero de Bunsen

Aceite de inmersión para microscópio

Reactivos:

Solución patrón de hemoglobina 60mg/dl (Acuglobín)

Solución diluyente de Türck

Solución para tinción Wright

Buffer para Wright (fosfatos)

Diluyente de Drabkin (solución cianometahemoglobina)

Anticoagulante de E.D.T.A. al 10%

Equipo:

Microscopio
Contador de células
Microcentrífuga para hematocrito o centrifuga común
Lector para microhematocrito
Agitador para pipetas de leucocitos
Espectrofotómetro

METODOLOGÍA

Para medir la hemoglobina se ponen 5 mililitros de solución de Drabkin en un tubo de ensayo de 13x100 mm, agregar 0.02 ml de sangre con la pipeta de Shalí, mezclar y dejar reposar durante 10 minutos, leer en absorbancia a 540 nanómetros ajustando a 0 con blanco de cianometahemoglobina (Drabkin), convertir el valor de absorbancia de la muestra problema en gramos de hemoglobina x decilitro aplicando la formula proporcionada.

Leer un tubo de estándar (acuglobín) sin diluir y obtener su valor del anexo y otro tubo diluido de 3ml. de acuglobín más 2ml. de Drabkin y obtener el valor de concentración del anexo o bien elaborar una curva de calibración y referir los valores de absorbancia para obtener la concentración de la muestra.

Fórmula

Absorbancia		valor	absorbancia	concentración
del	\mathbf{X}	estándar	del	del
Problema		(acuglobín)	estándar	problema (gr/dl)

Los valores normales en adultos son: Varón: de 14 a 18gr/dl. Mujer: de 12 a 15gr/dl.

Para medir el valor hematocrito:

Mezclar la sangre, llenar las dos terceras partes de un tubo capilar por el lado no marcado, sellar el extremo opuesto con la flama del mechero, (esto se hace girando el tubo capilar para lograr que quede sellado uniformemente y el fondo quede redondeado y plano) centrifugar en la microcentrifuga o metiendo el capilar adentro de un tubo 13x100 y en la centrifuga común a 2000 revoluciones por minuto (rpm) durante 5-8 minutos. Se lee usando una regla o lector para microhemetocrito, si no hubiera lector, aplicar la siguiente fórmula:

Valores normales: Varón: 40 a 60% y mujer: 30 a 40%.

Recuento de leucocitos:

Mezclar la sangre con la pipeta de Thoma para leucocitos, aspirar hasta la marca 0.5 cuidando que no se salga la sangre, ajustar con gasa o algodón y después aspirar líquido de Türck hasta la marca 11 (no dejar que entren burbujas) eliminar el exceso de diluyente y agitar la pipeta durante 60 segundos en el agitador, desechar las tres o cuatro primeras gotas de la pipeta, limpiar la punta y llenar la cámara de Neubauer, en el espacio correspondiente dejar reposar durante diez minutos para permitir la sedimentación de los glóbulos blancos, contar los leucocitos encontrados en los cuatro cuadros grandes angulares que tienen cada uno, 16 cuadros medianos, multiplicar el número de leucocitos contados por 50 para obtener el total de glóbulos blancos por milímetro cúbico de sangre, la fórmula utilizada para realizar los cálculos es:

N = número de leucocitos encontrados.

20 = título diluyente.

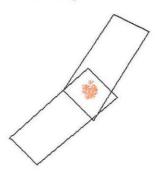
10 = corrección de la profundidad de la cámara para ajustar el volumen a 1mm³

4 = total de cuadros contados.

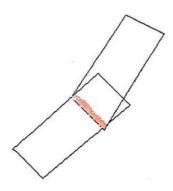
Valor normal de 5000 a 10000mm3

Para hacer el frotis (extendido de sangre)

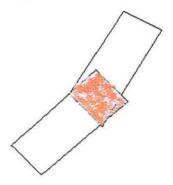
 Colocar una gota de sangre de 2 a 3 mm de diámetro a uno o dos centímetros del borde del portaobjetos, colocando éste en posición horizontal sobre la mesa de trabajo.



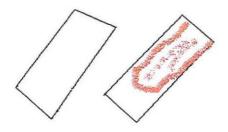
2. Colocar un segundo portaobjetos (extensor) de modo que forme un ángulo de 30 grados con el portaobjetos horizontal, con su eje mayor paralelo a él. El borde más bajo del portaobjetos extensor, que debe ser liso y regular, se aplica firmemente sobre la superficie del primero de manera que la gota de sangre esté por debajo de él. Entonces el segundo portaobjetos se desliza lentamente hacia la sangre hasta que se produzca el contacto, después del cual la sangre se deslizará uniformemente entre la superficie de contacto de ambos portaobjetos.



3. El portaobjetos extensor es movido rápida y suavemente en dirección opuesta, manteniendo el contacto y el ángulo entre los dos portaobjetos. La extensión formada debe ser uniforme y de aproximadamente la mitad de la longitud de la laminilla. El grosor de la extensión depende de la velocidad de movimiento del portaobjetos extensor y del ángulo en que se sitúa éste: a mayor ángulo mayor grosor, a mayor velocidad, menor grosor.



4. Una vez que la sangre se ha extendido, se procede a secar rápidamente el frotis. Esto se hace con la finalidad de evitar el apilamiento de los eritrocitos y de que los leucocitos permanezcan extendidos sobre el portaobjetos, de lo contrario, tienden a regresar a su forma original dificultando su observación. Nunca se debe secar soplando con la boca, pues el aire húmedo ocasionaría alteraciones morfológicas.



5. Identificar la preparación.

Tinción de los frotis

Coloración de Wright: se cubre totalmente el frotis con colorante por 15 minutos. Se pasa a un recipiente que contenga Buffer para Wright (fosfatos) o se le añade con pizeta y se deja quince minutos (el tiempo varía de acuerdo a cada laboratorio), se enjuaga y se seca el frotis.

El frotis se observa al microscopio con objetivo de aceite de inmersión (100X) y se inicia el recuento diferencial hasta contar 100 glóbulos blancos clasificando sus variedades.

Recuento de reticulocitos:

Ponga seis gotas del colorante azul de Cresil brillante en un tubo de 13X100 mm.

Añada 6 gotas de sangre venosa y mézclelas.

Espere 10 minutos.

Mezcle la sangre, haga un frotis y déjelo secar.

Cuente el número de reticulocitos que encuentre por cada 100 eritrocitos.

Valores normales del 1 al 2%

RESULTADOS

Hemoglobina	_ gr/dl
Valor hematocrito	_ %
Número total de leucocitos	_ mm3
Recuento diferencial leucocitario	
Linfocitos%	
Monocitos%	
Bandas%	
Segmentados neutrófilos%	
Segmentados basófilos%	
Segmentados eosinófilos%	
Reticulocitos%	
Plaguetas — Panortar accasas permalas a ab	undantas

ACTIVIDADES

- 1. Elaborar curva de calibración para hemoglobina.
- 2. Fotografiar o dibujar varios capilares de diferentes muestras para evidenciar distintos valores hematocrito.
- 3. Fotografiar o dibujar los resultados de leucocitos de cada uno de los frotis sanguíneos observados.
- 4. Fotografiar o dibujar a los reticulocitos vistos en el frotis para reticulocitos.
- 5. Fotografiar o dibujar a las plaquetas observadas en el frotis.

PREGUNTAS

INICIALES

- Describa la secuencia de maduración del eritrocito.
- Escriba el nombre de los componentes sólidos de la sangre.
- Defina qué es el valor hematocrito
- ¿Cómo se cuantifica a la hemoglobina?

FINAL

- ¿Los valores de hemoglobina y hematocrito obtenidos en su práctica corresponden a las referencias obtenidas?

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

EVALUACIONES

Banco de sangre



BANCO DE SANGRE

ANTECEDENTES

Una de las aplicaciones más importantes de la determinación de grupos sanguíneos es la que se refiere a la preparación para que se efectúe una transfusión.

La prueba se basa en la demostración de un antígeno en la superficie de los eritrocitos al hacer reaccionar la sangre con un antisuero específico, es demostrando la presencia o ausencia de un anticuerpo específico que reacciona con eritrocitos de grupo sanguíneo conocido.

La demostración de los anticuerpos producidos por los pacientes contra los antígenos eritrocitarios y en general contra los antígenos sanguíneos son la base de la inmunohematología, se han buscado por ello las técnicas adecuadas para ponerlos en evidencia y así proporcionar a los pacientes una transfusión que no les cause perjuicio. Cuando las sangres del donador y del receptor son compatibles, ambas pruebas cruzadas no muestran ni hemólisis ni aglutinación.

Para efectos de transfusión sanguinea se le otorga mayor credibilidad a la prueba mayor. En caso necesario se podrá otorgar un valor de incompatibilidad expresando en porcentaje, ejemplo 100% incompatible (aglutinación total) 50% (aglutinación parcial) etc. Acordando con el profesor de su práctica.

El buen manejo de la reacción antígeno anticuerpo en inmunohematología implica conocer perfectamente los factores que le afecten como son: la constante de equilibrio de las reacciones, la influencia de la temperatura, pH, tiempo de incubación, fuerza iónica del medio, proporciones antígeno-anticuerpo así como de los factores que puedan inhibir, aumentar o deshacer dicha reacción. El manejar sabiamente con todos estos elementos nos facilita ayudar a los pacientes en su apoyo de transfusión sanguínea.

Cada individuo posee información genética para la expresión de su antígeno de superficie eritrocitario (A, B, AB y O), esta información se realiza mediante un

complejo de reacciones enzimáticas que finalmente se transforman en la producción de compuestos específicos.

El factor Rh (D) es otro tipo de antígeno de superficie eritrocitaria que sigue los reglamentos genéticos (heredables o no) y que es una huella de evolución (Macacus Rhesus) y que se tomará aparte del sistema A, B, AB, O para efectuar estudios para transfusión sanguínea.

OBJETIVO GENERAL

Efectuar pruebas cruzadas

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1. Identificar los grupos sanguíneos de cada alumno.
- 2. Determinar el factor Rh (D) de los alumnos.
- 3. Hacer prueba mayor y prueba menor entre los alumnos.

MATERIAL

Biológico

Sangre venosa de donador y receptor, tomada con anticoagulante E.D.T.A.

De laboratorio

Portaobjetos

Pipetas Pasteur cortas

Tubos de ensayo 12x75 mm

Placa de porcelana con cavidades

Tela adhesiva (para identificar a los tubos) o marcador indeleble

Aplicadores de madera

Reactivos

Antisuero A

Antisuero B

Antisuero Rh (D)

Solución de E.D.T.A. al 10%

Equipo

Refrigerador

Centrifuga

Microscopio

METODOLOGIA

Grupo sanguíneo

- En una placa de aglutinación, colocar una gota de cada uno de los antisueros A, B y Rh (D) (si fueran portaobjetos) separadas aproximadamente de 3 a 4 centímetros.
- 2. Agregar, sobre ellas una gota de sangre problema.
- Mezclar perfectamente cada gota con un aplicador de madera y continuar agitando la placa por rotación durante 2 minutos. Usar un aplicador diferente para cada gota y evitar, así, su mezcla.
- 4. Observar la placa buscando aglutinación, cuya presencia significa un resultado positivo para ese antisuero.
- En caso de duda observar las muestras al microscopio con objetivo 10X o 40X utilizando porta y cubreobjetos.

Para realizar pruebas cruzadas

1. Usando dos portaobjetos:

PRUEBA MAYOR	PRUEBA MENOR
Gota de suero del receptor gota de eritrocitos del donador	gota de suero del donador gota de eritrocitos del receptor

Remover suavemente los eritrocitos sedimentados y observar si hay aglutinación macroscópica, en cuyo caso se reportará como incompatible.

RESULTADOS

Grupo sanguíneo
Factor Rh (D)
Prueba cruzada mayor
Prueba cruzada menor

ACTIVIDADES

- 1. Elaborar una tabla de frecuencias de grupos sanguíneos y de factor Rh (D) encontrados con sus compañeros de práctica.
- 2. Comparar esta tabla con tablas de frecuencia poblacional nacionales e internacionales.
- 3. Fotografíar o dibujar una laminilla de reacción de incompatibilidad y otra de compatibilidad.

PREGUNTAS

INICIALES

-	Escriba el nombre de Landsteiner.	los grupos	sanguineos s	egún la r	nomenclatura de
-	¿Qué es una prueba menor?	cruzada ma	ayor? y ¿Qué	es una	prueba cruzada

- ¿Qué características tiene una incompatibilidad sanguínea?
- ¿El antigeno Rh (D) es de tipo interespecies?

FINALES

- ¿Cuál fue el grupo sanguíneo predominante entre sus compañeros de práctica?
- ¿Hubo mayoría de factor Rh (D) positivo o negativos entre sus compañeros?
- ¿Comprobó si es evidente la reacción de incompatibilidad?

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

EVALUACIÓN

Química sanguínea



17

QUÍMICA SANGUÍNEA

ANTECEDENTES

Un examen de química sanguínea consta de las determinaciones de glucosa, urea y creatinina.

GLUCOSA:

La glucosa es uno de los carbohidratos más utilizado por todas las células del cuerpo, la cual se requiere para producir energía. La presencia de valores elevados de la glucosa sanguínea en ayunas por arriba de 120 miligramos en más de una ocasión se considera como diabetes mellitus. Para ello la determinación de la glucosa sanguínea es una herramienta fundamental. Por otro lado también se pueden encontrar valores bajos de glucosa.

La glucosa sanguínea es uno de los estudios que más frecuentemente se realizan en un laboratorio clínico.

UREA:

Es el principal producto de excreción del catabolismo proteínico. Se forma en el riñón a partir del bióxido de carbono y amoníaco mediante un proceso bioquímico que se conoce con el nombre de "ciclo de la ornitina" una vez elaborada, la urea pasa a la sangre y es excretada por el glomérulo, siendo reabsorbida en parte por los túbulos.

CREATININA:

La creatinina es un producto derivado de la creatina y es eliminada por los riñones; la creatinina es eliminada del plasma por filtración glomerular y luego excretada en la orina.

La creatinina puede se determinada en cualquier líquido biológico pero los especimenes que se emplean más comúnmente son plasma, suero y orina.

La investigación laboratorial reviste singular importancia por cuanto nos indica la capacidad renal para excretar productos de desecho a partir de la sangre como lo es la creatinina, éstos sintetizados en forma constante e independiente de la dieta la concentración en el suero depende de la excreción del riñón, por esta razón una elevación está correlacionada directamente con un daño renal.

OBJETIVO GENERAL

Realizar exámenes de química sanguínea.

OBJETIVOS PARTICULARES

Cuantificar la glucosa en sangre.

Medir la concentración de la urea sanguínea

Cuantificar la creatinina en una muestra.

MATERIAL

Biológico

Sangre (suero o plasma)

De Laboratorio

Tubos de ensayo de 13X100 mm.

Matraz aforado de 1000 ml

Matraz aforado de 100 ml

Probeta graduada de 100 ml

Gradilla

Celdillas para espectrofotómetro

Micropipetas de 25 microlitos

Pipetas volumétricas de 2 ml

Puntas amarillas para micropipeta

Reactivos

Equipo de glucosa oxidasa

Ácido tricloroacético al 3%

Ácido pícrico 0.04 N

Hidróxido de sodio 0.75 N

Estándar de creatinina (1mg/dl)

Diacetil monoxima q.p.

Tiosemicarbazida g.p.

Cloruro férrico q.p.

Acido fosfórico

Acido sulfúrico

Aqua destilada

Preparación de reactivos para determinación de Urea.

Reactivo de Diacetiltiosemicarbazida:

Diacetil monoxima 2.5 g aforar con 100 de agua destilada (2.5%)

Tiosemicarbazida 500 mg., aforar con 100 ml., de agua destilada (0.5%)

Añadir 67 ml., de Diacetil monoxima al 2.5% y 67 ml., de Tiosemicarbazida al 0.5% en un matraz aforado de 1,000 ml., y completar con agua destilada.

Solución matriz de cloruro férrico:

Elaborar en una probeta de 100 ml

Cloruro férrico 1.5 g

Acido fosfórico 30 ml

Agua destilada, completar hasta la marca de 45 ml

Con la solución matriz de cloruro férrico, elaborar el reactivo de cloruro férrico.

Reactivo de Cloruro férrico:

Acido sulfúrico 75 ml Solución matriz de cloruro férrico 1 ml Aforar a 1000 ml con agua destilada

Equipo

Centrífuga

Espectrofotómetro

METODOLOGIA

Glucosa:

Tomar una muestra de sangre (venosa preferentemente o arterial), dejarla coagular de 20 a 30 minutos, centrifugar y separar el suero. Colocar 2ml de reactivo de glucosa oxidasa en un tubo de ensayo de 13X100 mm y añadir 25 microlitros de suero, mezclar suavemente y dejar reposar por 10 minutos.

Para el estándar, 2 ml de reactivo de glucosa oxidasa y 25 microlitros de solución estándar

Para el blanco, 2 ml de reactivo de glucosa oxidasa y 25 microlitros de agua destilada

Dejar reposar los tubos estándar, blanco y muestra por 10 minutos.

Leer la absorbancia del problema y del estándar a 530 nanómetros ajustando a cero con el tubo blanco.

Si la lectura es inferior a 1.0, hacer diluciones, colocando 2 mililitros de agua destilada al tubo leído y el resultado se multiplica por dos.

Cálculos: Aplicar la siguiente fórmula:

Absorbancia Valor Absorbancia Concentración	-7.5%
del X del ÷ del = del	
Problema Estándar Problema	[

Valores normales de 65-120mg/dl

Urea:

	Tubo problema	Tubo estándar	Tubo blanco
Suero o plasma	0.1ml		
Estándar		0.1ml	<u> 18 - 18 11</u>
Agua destilada			0.1ml
Diacetiltiosemicarbazida	4ml	4mi	4ml
Cloruro férrico	4ml	4ml	4ml

Mezclar, colocar en baño María en ebullición por 10 minutos.

Enfriar y ajustar a cero de absorbancia con blanco a 530 nanómetros.

Comparar la lectura contra concentración del control aplicando la fórmula. Si la lectura es inferior a 1.0 se hace una dilución agregando 8ml de agua destilada mezclar y al resultado de esta lectura diluida, se multiplica por dos.

Fórmula

Absorbancia		Valor	Absorbancia	Concentración
del	\mathbf{X}	del •	del =	= del
Problema		Estándar	Estándar	Problema

Valores normales 16-32mg/di

Creatinina:

Pipetear 0.2ml de suero o plasma más 0.9ml de ácido tricloroacético al 3%, agitar y centrifugar por 15 minutos a 1500rpm, del sobrenadante, tomar 1.5ml y añadir 0.5ml de hidróxido de sodio 0.75 N más 0.5ml de ácido pícrico 0.04 N.

Agitar por inversión y reposar 30 minutos a 37°C. Leer en absorbancia a 490 nanómetros con cubeta chica y blanco de creatinina.

Estándar:

0.2ml de estándar (1mg/dl) igual que muestra.

Blanco:

1.5ml de ácido tricloroacetico al 3% más 0.5ml de ácido pícrico al 0.4 N.

Cálculo:

Absorbancia	Valor Absorbancia	Concentración
	on the control of the	사용 (1995년) 1985년 - 198 - 1985년 - 1985
del X	del del	del
Problema	Estándar Estándar	Problema

Valores normales: 0.5 a 1.5mg/dl

RESULTADOS

Glucosa:	mg/dl
Urea	mg/dl
Creatinina	ma/dl

ESIS/CUCBA

ACTIVIDADES

- 1. Elaborar la curva de calibración de los métodos glucosa, urea y creatinina.
- 2. Fotografiar o dibujar tubos de reacción con diferentes concentraciones.

PREGUNTAS

INI	C	ΙΔΙ	FS	

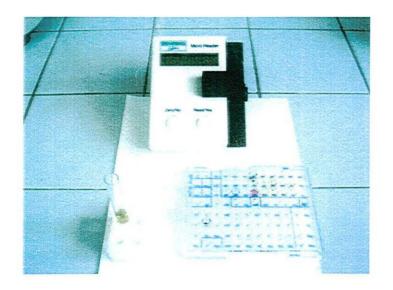
INICIA	ALES
-	¿Existen otros metabolitos diferentes a la glucosa capaz de reaccionar cor el método de la glucosa oxidasa?
-	¿Cuál es el fundamento de las mediciones espectrofotométricas?
-	¿La creatinina es metabolito intra o extra celular?
FINAL	ES
-	¿Hubo valores altos de glucosa en su grupo de trabajo?
-	¿Qué es el nitrógeno uréico?
	¿Existe relación entre los valores de urea y creatinina?

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

EVALUACIÓN

Serología



SEROLOGÍA

MÉTODO DE ELISA PARA CISTICERCOSIS

ANTECEDENTES

En La estructuración de algunos laboratorios de análisis clínicos está el departamento de serología que comprende la elaboración de diversos métodos antigénicos en suero de pacientes que acuden para diagnosticarles su enfermedad, entre estos métodos está el de ELISA.

ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorvent Assay)

Elisa: análisis de inmunoadsorción ligados a enzimas.

La técnica de Elisa, se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización, emplea reactivos económicos, y consigue, mediante una separación fácil una fracción retenida y una fracción libre.

Los métodos inmunológicos utilizados para cuantificar la concentración de un antígeno poseen una sensibilidad y una especificidad extraordinarias y se han convertido en técnicas habituales tanto en aplicaciones clínicas como en investigación. La base de todos los métodos inmunoquímicos de cuantificación modernos consiste en disponer de un antígeno o un anticuerpo puro cuya cantidad puede medirse mediante una molécula indicadora. Cuando la molécula indicadora se une de forma covalente a una enzima, es posible cuantificarla determinando la tasa con que la enzima convierte en sustrato incoloro en un producto coloreado con un espectrofotómetro.

La extraordinaria especificidad de los anticuerpos por sus antígenos correspondientes los convierte en reactivos útiles para detectar, purificar y cuantificar antígenos. Dado que es posible producir anticuerpos frente a casi cualquier tipo de macromoléculas y pequeñas sustancias químicas, las técnicas en que se utilizan anticuerpos permiten estudiar la práctica totalidad de las moléculas

presentes en soluciones o sobre las células. El equipo que utilizaremos será para la determinación de cisticercosis.

OBJETIVO GENERAL

Efectuar determinación por ELISA de Cisticercosis

OBJETIVOS PARTICULAES

- 1. Aplicar la técnica de Elisa en sueros de alumnos y controles.
- 2. Interpretar resultados colorimétricamente.
- 3. Diagnosticar probabilidad de enfermedad.

MATERIAL

Biológico:

Un tubo de sangre sin anticoagulante

De laboratorio:

Matraz o vaso de precipitado de 125 ml

Tubos de ensayo 13 x 100 mm

Pipeta Eppendorf de 1ml

Pipeta Pasteur tallo corto

Puntas azules para micropipeta

Reactivos:

Tira desmontable con antígeno de célula celulosa para 96 pruebas

Control positivo

Control negativo

Solución lavadora 20X

Conjugado enzimático anti IgG humana o de borrego acoplada a fosfatasa alcalina.

Amortiguador de sustrato con dietanolamina y p-nitrofenol fosfato.

Solución para detener la reacción NaOH 2 molar

Agua destilada

Equipo

Lector para ELISA

METODOLOGIA

Colocar una gota del control positivo, control negativo y de la muestra diluida en los pozos 1, 2 y 3.

Colocar una gota de las muestras a analizar en los pozos siguientes.

Incubar 30 minutos a 37°c.

Lavar tres veces con solución de lavado diluida.

Poner una gota de conjugado enzimático.

Incubar 30 minutos a 37° C

Lavar tres veces.

Agregar dos gotas de sustrato.

Incubar 30 minutos a 37°C

Poner una gota de NaOH 2M.

Leer absorbancia a 405 nm. Con el lector para ELISA.

Espectrometria: una lectura menor de 0.40 indica que la muestra es negativa para cisticercosis.

Si la lectura es mayor de 0.40 la muestra se considera positiva para cisticercosis.

La lectura se multiplica por 100 para expresarse en Unidades Elisa (UE/ml.)

Visual: Una muestra es positiva si en el pozo se observa un color amarillo verdoso.

RESULTADOS

ACTIVIDADES

- 1. Fotografiar la gradilla de reacción con muestras positivas y negativas.
- 2. Elaborar una tabla de frecuencia de resultados positivos o negativos a cisticercosis.
- 3. Investigar la morbilidad de la cisticercosis en el estado de Jalisco.

PREGUNTAS

INICIALES

- ¿Qué factores afectan a un resultado óptimo enzimático?
- ¿A qué se refiere el término especificidad antigénica?
- ¿Qué quiere decir memoria específica?

FINALES

- ¿Consideras a esta método rápido y útil?
- ¿Hubo algún valor que evidenciara cisiticercosis?

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

EVALUACIÓN

Coproparasitoscópico



COPROPARASITOSCÓPICO

ANTECEDENTES

El examen de las heces, se limita, en la mayoría de los casos, a la investigación de parásitos intestinales en la presencia de quistes o huevecillos.

MÉTODO DIRECTO

Existen dos métodos de concentración:

1. Flotación (Faust)

El método de concentración por flotación es importante ya que con una solución saturada de sulfato de zinc ascienden a la superficie los quistes y/o huevos de los parásitos.

2. Sedimentación

A diferencia del de flotación en este caso son soluciones salinas hipotónicas con una densidad menor que la de los quistes o huevos.

El examen de heces tiene su máxima indicación clínica en las diarreas crónicas, y en general interesa en aquellos procesos que cursan con insuficiencia digestiva o en aquellos en los que se busca el germen o parásito de la enfermedad.

Uno de los aspectos que menos difusión ha tenido en la prevención del riesgo biológico es quizás el trabajo con parásitos. Téngase en cuenta que la manipulación de estos organismos en alguna de sus fases infecciosas puede comportar un riesgo para el personal del laboratorio si no se realiza en las condiciones de seguridad biológicas adecuadas.

Este método puede aplicarse en muestras de excremento de animales, se recomienda contar con referencias de los parásitos animales comunes en esta área geográfica. También se puede utilizar el método flotación en solución salazúcar previa solubilización de la grasa con éter.

OBJETIVO GENERAL

Efectuar examen coproparasitoscópico.

OBJETIVOS PARTICULAES

- 1. Efectuar examen coproparasitoscópico de flotación.
- 2. Identificar los parásitos (quistes y huevos) más frecuentes en nuestra localidad.

MATERIAL

Biológico

Heces fecales (en frasco limpio y bien tapado)

De laboratorio

Tubos de ensayo de 13X100 mm

Gradilla

Portaobjetos

Cubreobjetos

Asa de nicromo

Aplicadores de madera

Guantes

Densimetro (1.000 – 2.000)

Mortero de porcelana pequeño

Colador

Gasas

Mechero de Bunsen

Reactivos

Sulfato de zinc al 33%

Solución salina fisiológica

Solución sal-azúcar (densidad 1.266)

Solución saturada de sal (densidad 1208)

Aqua destilada

Ácido acético al 3%

Éter etilico

Equipo

Centrifuga

Espectrofotómetro

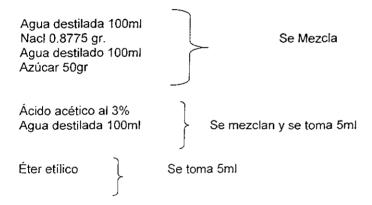
Microscópio

METODOLOGÍA

COPROPARASITOSCÓPICO

Método de Sal-Azúcar

Este método es un procedimiento recomendado para exámenes de <u>heces</u> <u>animales</u> que consiste en diluir las heces en una solución de densidad elevada para que los huevos y quistes floten y se concentren en la superficie, además el tratamiento con éter hace que se disuelva la grasa que puede entorpecer la visualización en las heces con alto contenido de lípidos.



Tomar una cantidad de heces del tamaño de una avellana (peso aproximado 1g). Colocarla en un mortero de porcelana y emulsionarla con 5ml de ácido acético y 5ml de éter etílico, si hay residuos filtrar sobre colador de una capa de gasa. El filtrado suele reducir el número de huevos por quedar algunos retenidos entre los residuos y la grasa, poner la emulsión filtrada en el tubo previamente identificado, centrifugar de 8 a 10 minutos de 1500 a 2000 rpm.

Tirar el sobrenadante y resuspender el sedimento en solución sal-azúcar, terminar de rellenar el tubo con la solución sal-azúcar hasta formar un menisco convergente en la parte superior con mucho cuidado de no derramar ni una gota. Dejar reposar al tubo de 10 a 20 minutos en posición totalmente vertical.

Retirar la gota superior del menisco apoyando suavemente un cubre objetos.

Depositarlo sobre un portaobjetos con cuidado procurando que la extensión sea homogénea y no queden burbujas. Observar al microscopio en campo claro a 40X.

MÉTODO DE CONCENTRACIÓN:

MÉTODO DE FAUST (flotación), recomendado para heces humanas.

En un frasco se coloca una pequeña porción de heces del tamaño de una nuez y se diluye en aproximadamente 10ml de agua. Se agita el frasco para disolver lo más posible la materia fecal.

Se filtra la suspensión a través de una malla (coladera) y recibe en un tubo de ensayo hasta llenar las dos terceras partes de éste. Se centrifuga durante tres minutos a 2500 rpm y se desecha el líquido sobrenadante. Se agrega solución de sulfato de zinc al 33% hasta llenar nuevamente las dos terceras partes del tubo. Se tapa con un tapón de hule y se agita vigorosamente hasta desprender y emulsionar el sedimento, o bien emulsionar con dos aplicadores de madera.

Se vuelve a centrifugar durante tres minutos a 2500 rpm y de la nata sobrenadante se toma una pequeña porción con un extremo plano de una varilla de vidrio o con asa de nicromo. Se mezcla con una gota de lugol previamente colocada sobre un portaobjetos. Se tapa con cubreobjetos y se observa al microscopio con poca luz usando primero el objetivo seco de menor aumento para tener una vista general a la preparación y después el de mayor aumento para la identificación de los quistes o huevos encontrados.

Para los fines de aprendizaje de este Taller de análisis clínicos, sugerimos reportar de acuerdo a lo siguiente:

Ausencia = Negativo.

Presencia = Positivo, según parásito.

O bien se podrá reportar según la cantidad +,++, +++

RESULTADOS

ACTIVIDADES

- 1. Fotografiar o dibujar quistes o huevos encontrados.
- 2. Investigar la frecuencia de parásitos y cuáles parásitos existen en esta ciudad.

PREGUNTAS

INICIALES

-	¿Qué es un quiste?
_	Si un espécimen mide más de 20 micras ¿Será un quiste o un huevo?
-	¿Cuál es la función del sulfato de zinc al 33%?

FINALES

- ¿Qué tipos de parásitos encontraste en la realización de esta práctica?

- ¿Que cantidad de quistes o huevos en diferentes muestras?

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

71

EVALUACIÓN

BIBLIOGRAFIA

Análisis de orina Fundamentos y prácticas Argeri / Lopardo Panamericana

Métodos Clínicos H.K. Walker Interamericana 2ª edición

Apuntes de Análisis Clínicos Q.B. Beatriz Eugenia Bayardo Pérez Ed Libre 1971

Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico K. Morrison Tresler Manual moderno

Introducción a la hematología S.I. Rapaport Biblioteca médica de bolsillo

Hematología básica Dr. Abel Bello Edit., Prado 3ª edición

Hematología clínica D. Gómez Almaguer Edit., Cuellar, 2000

Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico K. Morrison Tresler Manual moderno

Guía de pruebas diagnósticas y de laboratorio Pagana Hartcourt / Mosby 5ª edición

Métodos clínicos H.K. Walker Interamericana 2ª edición Introducción a la hematología S. I. Rapaport Biblioteca médica de bolsillo

Hematología clínica J. Saus - Sabrafen Hartcourt

Hematología clínica H. J. Woodliff El Manual moderno

Hematología clínica D. Gómez Almaguer Edit., Cuellar, 2000

Introducción a la hematología S. I. Rapaport Biblioteca médica de bolsillo

Inmunología básica y clínica T. J. Parslow Manual moderno

Microbiología y parasitología médicas Tay, Gutiérrez Molina Méndez editores 3ª edición

Enfermedades parasitarias Biagi La Prensa Médica Mexicana S.A., de C.V.

Microbiología y parasitología médicas Tay, Gutiérrez Molina Mendez editores 3ª edición

TESIS/CUCBA

