

PARASITOLOGÍA

Guías de Laboratorio

Visión

Ser una de las 10 mejores universidades privadas del Perú al año 2020, reconocidos por nuestra excelencia académica y vocación de servicio, líderes en formación integral, con perspectiva global; promoviendo la competitividad del país.

Misión

Somos una universidad privada, innovadora y comprometida con el desarrollo del Perú, que se dedica a formar personas competentes, íntegras y emprendedoras, con visión internacional; para que se conviertan en ciudadanos responsables e impulsen el desarrollo de sus comunidades, impartiendo experiencias de aprendizaje vivificantes e inspiradoras; y generando una alta valoración mutua entre todos los grupos de interés.

Índice

VISIÓN	2
MISIÓN	2
ÍNDICE	3
INTRODUCCIÓN	4
REGLAMENTO DE BIOSEGURIDAD.	5
PRACTICA 1 MÉTODOS COPROPARASITOSCÓPICOS EN FRESCO Y DIRECTO.	13
PRACTICA 2 TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN ESPONTÁNEA EN TUBO.	19
PRACTICA 3 METODO DE FLOTACION DE WILLIS.	23
PRACTICA 4 COLORACION ZIEHL NEELSEN MODIFICADO.	27
PRACTICA 5 PROTOZOARIOS FLAGELADOS - COLORACION GIEMSA.	31
PRACTICA 6 LEISHMANIA spp. - COLORACION GIEMSA	36
PRACTICA 7 Plasmodium spp. - COLORACION GIEMSA	41
PRACTICA 8 PROTOZOARIOS INTESTINALES, HEMATICOS, TISULARES.	55
PRACTICA 9 METODO HARADA- MORI.	60
PRACTICA 10 METODO DE KATO-KATZ.	64
PRACTICA 11 CONCENTRACIÓN POR SEDIMENTACIÓN SIN CENTRIFUGACIÓN.	69
PRACTICA 12 TECNICA DE CUENTA DE HUEVOS EN HECES LA TECNICA DE STOLL.	73
PRACTICA 13 MÉTODO DE CONCENTRACIÓN POR SEDIMENTACIÓN DE RITCHIE.	78
PRACTICA 14 VISUALIZACION DE ARTROPODOS.	83
PRACTICA 15 REPASO DE IDENTIFICACION DE PARASITOS UNIDAD I – II.	86
PRACTICA 16 REPASO DE IDENTIFICACION DE PARASITOS UNIDAD III – IV.	89

INTRODUCCIÓN

Todas las personas que trabajan con materiales que contengan agentes infecciosos deben estar conscientes de los peligros potenciales asociados a su manipulación; además, deben estar entrenadas en las prácticas y técnicas requeridas para manejar estos materiales biológicos de una manera segura.

Es por ello que antes de comenzar con las actividades prácticas, todas las personas involucradas (estudiantes, personal técnico y profesores) tenemos la obligación de conocer cuáles son las normas de seguridad a seguir en el laboratorio, de manera tal, que el trabajo se realice con un riesgo mínimo de exposición, tanto para las personas que lo ejecutan como para el medio ambiente y los demás seres vivos.

El objetivo general de esta lectura, es ofrecerle al estudiante una guía para que realice sus actividades prácticas en el Laboratorio de Microbiología - Parasitología de una manera adecuada y segura.

REGLAMENTO INTERNO LABORATORIO DE CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA Y TECNOLOGIA MÉDICA

I. ALCANCE

Laboratorio de Ciencia de la Salud de la Universidad Continental SAC

II. OBJETIVOS

1. Proporcionar los lineamientos generales para un trabajo armonioso y ordenado durante el desarrollo de las prácticas de laboratorio Ciencias de la Salud de la Universidad Continental SAC.
2. Mejorar la gestión de equipos, materiales reactivos, insumos, instalaciones y otros recursos empleados en las diferentes prácticas de los cursos de Microbiología, Micología, Virología Bioquímica Clínica, Biología, Histología, laboratorio clínico y cursos afines.
3. Proporcionar la infraestructura, materiales y recursos con que cuenta el almacén del laboratorio de Ciencias de la Salud, para los trabajos de investigación autorizados por los órganos pertinentes de la Universidad, que los docentes y estudiantes desarrollen.

III. DISPOSICIONES GENERALES

3.1. DE LOS MATERIALES Y REACTIVOS

1. La adquisición de materiales y reactivos químicos, que requieran los docentes para la ejecución de las prácticas, serán solicitados al Jefe del laboratorio de Salud y coordinador de carrera, él mismo realizará las coordinaciones con el área de logística para su adquisición.
2. El suministro y control de materiales y reactivos químicos, será mediante el sistema de kardex; y será de responsabilidad del Jefe del laboratorio de Salud.
3. Un material se considerará inservible cuando se ha deteriorado o malogrado durante la práctica bajo condiciones normales de uso y cuidado. En caso contrario será repuesto por el (los) usuario(s).

3.2. DE LOS DOCENTES

PARA CURSOS PROGRAMADOS EN EL SEMESTRE ACADEMICO Los docentes de las asignaturas que hacen uso del laboratorio:

1. Deben enviar su requerimiento de equipos, materiales, reactivos e insumos; en forma virtual al correo: Escuela Profesional de Medicina

labmedicina@continental.edu.pe, Escuela Profesional de Tecnología Médica labtecmed@continental.edu.pe, con copia a la jefatura de salud jefaturalabsalud@continental.edu.pe. o en forma personal acercándose a la proveeduría de salud, para dejar su requerimiento de sus prácticas programadas, según formato correspondiente; PARA AMBOS CASOS DEBE SER CON UNA ANTICIPACIÓN MÍNIMA DE 48 HORAS, CASO CONTRARIO NO SE ATENDERÁ. Para la correcta asignación de recursos.

2. Deben ingresar al laboratorio con la indumentaria adecuada a la práctica programada. (Uso de Guardapolvo, Mascarillas, Guantes, Gorro, etc.)
3. Coordinar y verificar el uso correcto de los equipos, materiales, reactivos e insumos utilizados en las prácticas de su asignatura.
4. Utilizar los ambientes del laboratorio adecuadamente según el horario asignado, respetando las normas de bioseguridad.
5. Programar adecuadamente su práctica de laboratorio, con la finalidad de terminar las clases 5 minutos antes de la hora programada.
6. En caso de requerimiento de horas adicionales de uso de laboratorio, coordinar con el Jefe del Laboratorio de Salud, para su atención.
7. Informar sobre algún percance y/o incidente importante, que se pudiese presentar durante la práctica programada, al personal de laboratorio de Ciencias de la Salud.
8. Dar los alcances sobre las normas de bioseguridad, higiene y sus usos; a los estudiantes de su asignatura, el primer día de clase de laboratorio.
9. Presentar un informe al final de semestre con énfasis en incidencias y recomendaciones de mejora de la atención del laboratorio de Ciencias de la Salud.

PARA TRABAJOS DE INVESTIGACION

1. Los docentes que desarrollen trabajos de investigación durante el semestre, deben presentar una copia de la constancia de aprobación del trabajo de investigación otorgado por la oficina de Investigación de la Universidad Continental SAC.
2. Los docentes deberán coordinar con una anticipación de 1 semana, los horarios disponibles para realizar sus ensayos en los laboratorios de la universidad.
3. Debe enviar su requerimiento de equipos, materiales, reactivos e insumos; en forma virtual al correo: Escuela Profesional de Medicina labmedicina@continental.edu.pe, Escuela Profesional de Tecnología Médica labtecmed@continental.edu.pe; con copia a la jefatura de salud jefaturalabsalud@continental.edu.pe. O en forma personal acercándose a la proveeduría de laboratorio de salud, para dejar su requerimiento de sus prácticas programadas, según formato correspondiente; PARA AMBOS CASOS DEBE SER CON UNA ANTICIPACIÓN MÍNIMA DE 48

labmedicina@continental.edu.pe, Escuela Profesional de Tecnología Médica labtecmed@continental.edu.pe, con copia a la jefatura de salud jefaturalabsalud@continental.edu.pe. o en forma personal acercándose a la proveeduría de salud, para dejar su requerimiento de sus prácticas programadas, según formato correspondiente; PARA AMBOS CASOS DEBE SER CON UNA

ANTICIPACIÓN MÍNIMA DE 48 HORAS, CASO CONTRARIO NO SE ATENDERÁ. Para la correcta asignación de recursos.

2. Deben ingresar al laboratorio con la indumentaria adecuada a la práctica programada. (Uso de Guardapolvo, Mascarillas, Guantes, Gorro, etc.)
3. Coordinar y verificar el uso correcto de los equipos, materiales, reactivos e insumos utilizados en las prácticas de su asignatura.
4. Utilizar los ambientes del laboratorio adecuadamente según el horario asignado, respetando las normas de bioseguridad.
5. Programar adecuadamente su práctica de laboratorio, con la finalidad de terminar las clases 5 minutos antes de la hora programada.
6. En caso de requerimiento de horas adicionales de uso de laboratorio, coordinar con el Jefe del Laboratorio de Salud, para su atención.
7. Informar sobre algún percance y/o incidente importante, que se pudiese presentar durante la práctica programada, al personal de laboratorio de Ciencias de la Salud.
8. Dar los alcances sobre las normas de bioseguridad, higiene y sus usos; a los estudiantes de su asignatura, el primer día de clase de laboratorio.
9. Presentar un informe al final de semestre con énfasis en incidencias y recomendaciones de mejora de la atención del laboratorio de Ciencias de la Salud.

PARA TRABAJOS DE INVESTIGACION

1. Los docentes que desarrollen trabajos de investigación durante el semestre, deben presentar una copia de la constancia de aprobación del trabajo de investigación otorgado por la oficina de Investigación de la Universidad Continental SAC.
2. Los docentes deberán coordinar con una anticipación de 1 semana, los horarios disponibles para realizar sus ensayos en los laboratorios de la universidad.
3. Debe enviar su requerimiento de equipos, materiales, reactivos e insumos; en forma virtual al correo: Escuela Profesional de Medicina labmedicina@continental.edu.pe, Escuela Profesional de Tecnología Médica labtecmed@continental.edu.pe; con copia a la jefatura de salud jefaturalabsalud@continental.edu.pe. o en forma personal acercándose a la proveeduría de laboratorio de salud, para dejar su requerimiento de sus prácticas programadas, según formato correspondiente; PARA AMBOS CASOS DEBE SER CON UNA ANTICIPACIÓN MÍNIMA DE 48 HORAS, CASO CONTRARIO NO SE ATENDERÁ. Para la correcta asignación de recursos.
4. Utilizar adecuadamente los equipos, materiales, reactivos e insumos utilizados en los ensayos de investigación.
5. En el caso de que los materiales y/o equipos utilizados en los ensayos del trabajo de investigación, sufrieran daño; se procederá a:
 - a. Se identificarán las causas del daño causado al material y/o equipo.
 - b. Se establecerá el grado de responsabilidad entre las personas que hubiesen manipulado el material y/o equipo.
 - c. Informar a las técnicas del laboratorio de salud, sobre el percance y/o incidente.

- d. De acuerdo al grado de responsabilidad, se repondrá el material y/o equipo; con las mismas características y/o superior; caso contrario, firmará la autorización de recargo a su cuenta personal, por el monto del material y/o equipo.
6. Utilizar los ambientes del laboratorio adecuadamente según el horario asignado, respetando las normas de seguridad, bioseguridad.
7. Informar sobre algún percance y/o incidente importante, que se pudiese presentar durante la práctica programada, a las técnicas del laboratorio de Salud.
8. Presentar un informe al final del trabajo de investigación sobre los ensayos realizados en los laboratorios de la Universidad Continental

PARA USO DE LOS EQUIPOS

1. Debe enviar su requerimiento de equipos, en forma virtual al correo: Escuela Profesional de Medicina labmedicina@continental.edu.pe, Escuela Profesional de Tecnología Médica labtecmed@continental.edu.pe; con copia a la jefatura de salud jefaturalabsalud@continental.edu.pe o en forma personal acercándose a la proveeduría de laboratorios de salud, para dejar su requerimiento de sus prácticas programadas, según formato correspondiente; PARA AMBOS CASOS DEBE SER CON UNA ANTICIPACIÓN MÍNIMA DE 48 HORAS, CASO CONTRARIO NO SE ATENDERÁ. Para la correcta asignación de recursos.
2. El uso de los equipos en su totalidad es de uso exclusivo dentro del Laboratorio.
3. En el caso que a merite la salida de un equipo fuera de la universidad, se realizará las coordinaciones respectivas con el área de control patrimonial de la Universidad.
4. Los equipos serán entregados a los docentes operativos y funcionando correctamente.
5. El docente es el que maneja y opera el equipo dentro del laboratorio de la universidad.
6. En el caso de descalibración o deterioro del equipo por mal manejo, los gastos de calibración y reparación corre a cuenta del docente.

3.3. DEL JEFE DEL LABORATORIO DE QUÍMICA Y BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD CONTINENTAL

1. Establecer con los coordinadores de todas las carreras de Ciencias Médicas las políticas para el desarrollo de las prácticas de laboratorio de los cursos de Química General, Química Orgánica, Bioquímica, Microbiología, Toxicología, Biología Humana, Biología Molecular, Hematología, Citología, Histología, Patología, Embriología, y otras asignaturas que necesita utilizar el laboratorio.
2. Solicitar a los docentes de los cursos que utilicen los laboratorios, sus requerimientos de reactivos, materiales y equipos al finalizar cada semestre académico.
3. Coordinar con el área de Logística para la adquisición de materiales y reactivos para el laboratorio de Salud.

4. Coordinar con los decanos de Ingeniería y Ciencias Médicas la adquisición de equipos, de acuerdo a los requerimientos que se puedan dar en cada curso
5. Coordinar el requerimiento de horas adicionales para el uso de laboratorio que los docentes lo soliciten.
6. Coordinar con las técnicas del laboratorio de salud, sobre las tareas a realizar durante cada semana.
7. Presentar al Decano de Ingeniería y al Decano de Ciencias de la Salud, un informe al final de semestre con énfasis en incidencias y recomendaciones de mejora del Laboratorio de Salud.

3.4. DE LOS JEFES DE PRÁCTICAS DEL LABORATORIO DE CIENCIAS DE LA SALUD

1. Atender los requerimientos enviados al correo Escuela Profesional de Medicina labmedicina@continental.edu.pe, Escuela Profesional de Tecnología Médica labtecmed@continental.edu.pe. con copia a la jefatura de salud jefaturalabsalud@continental.edu.pe. o presentados personalmente, con UNA ANTICIPACIÓN DE 48 HORAS, CASO CONTRARIO, NO SE PODRÁ ATENDER.
2. Apoyar al Jefe inmediato de laboratorio de Ciencias de las Salud, en la Gestión del laboratorio de Ciencia de la Salud
3. Preparar reactivos, indicadores y otros, que soliciten los docentes para sus prácticas.
4. Proporcionar los equipos, materiales reactivos, insumos y otros, al docente, según el formato correspondiente.
5. Preparar medios de cultivo en placas, tubos de manera estéril según el requerimiento del docente para el buen uso durante las prácticas de microbiología y micología.
6. Verificar el buen estado de los materiales en la entrega y recepción de los mismos.
7. Velar por el orden, limpieza de equipos, mesas, gavetas, materiales didácticos y otros que estén a su cargo (inherentes al laboratorio).
8. Presentar un informe mensual al Responsables del Laboratorio, con énfasis en incidencias y recomendaciones de mejora.

3.5. DE LOS ALUMNOS

A. INGRESO AL LABORATORIO.

- 1.El ingreso de los estudiantes de Medicina Humana y Tecnología Médica - Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica al laboratorio debe ser con la indumentaria adecuada según la practica programada, caso contrario, No Se Permitirá El Ingreso Del Alumno Al Laboratorio.
2. Para el curso de Microbiología y Micología los estudiantes deben ingresar al laboratorio con la indumentaria adecuada y el cabello recogido en el caso de mujeres (Uso de scraft, guardapolvo, mascarilla, guantes y gorro), ya que tienen contacto con bacterias y hongos patógenos.

3. Deberán mantener las uñas recortadas y limpias.
4. No portar accesorios personales que puedan comprender riesgos de accidentes mecánicos, químicos o por fuego, como son anillos, pulseras, collares y sombreros.

B.PERMANENCIA EN EL LABORATORIO

1. No guardar sus prendas, objetos personales, sobre la mesa de trabajo, guardarlas en sus gavetas para evitar contaminación.
2. Verificar el estado de los equipos, materiales y frascos de reactivos, ANTES Y DESPUÉS DE LA PRACTICA PROGRAMADA. En el caso de tener alguna observación sobre el estado de ellos, informar inmediatamente al docente y/o a las técnicas del laboratorio; caso contrario se presumirá que fue causado por el y/o los manipuladores, lo que conllevará a su responsabilidad y reposición del bien.
3. Si realizarán extracción de muestra sanguínea deberán utilizar guantes en cada procedimiento para su protección personal contra riesgos de contagio con fluidos corporales.
4. Si en la práctica utilizaran materiales punzocortantes (agujas, jeringas, vacutainer, bisturí, etc), deberán eliminarlas en la caja de desechos punzocortantes.
5. Si se realiza la practica con fluidos corporales ya sean secreciones, sangre completa, Suero, plasma, así como los recipientes y materiales con los que entró en contacto, tales como: apósitos, torundas, gasas, algodón, entre otros deberán ser eliminados en el lugar de desechos de residuos peligrosos.
6. Después de cada práctica lavarse las manos con abundante agua y jabón.
7. Si hará uso de microscopio, limpiar los objetivos con xilol antes y después de las prácticas.
5. Si hace uso del autoclave deberá fijarse si contienen agua destilada, asegurar bien la tapa, controlar la presión y el tiempo para evitar algún daño o accidente.
6. Si hace uso de asas de siembra en el curso de Microbiología esterilizarlas al finalizar la práctica para evitar la contaminación y contagio con bacterias patógenas.
7. Trabajar adecuadamente y con responsabilidad obedeciendo las normas de bioseguridad.
8. Durante el curso de Microbiología está prohibido que los estudiantes ingirieran alimentos y bebidas en el interior del laboratorio para evitar contaminación ya que el estudiante está en contacto con las bacterias.
9. No usar los celulares dentro de las prácticas para evitar las distracciones durante las prácticas.

B. AL CONCLUIR LA PRÁCTICA

1. Al finalizar la práctica los estudiantes deberán entregar los materiales limpios y en buen estado, dejando limpio el área o mesa de trabajo y bancos ordenados.
2. Disponer de los residuos y reactivos, sólidos; utilizados de manera indicada por las normas. Tacho de color rojo para residuos peligrosos, tacho de color negro para residuos generales.

3. Verter los residuos líquidos en el lavadero, previamente neutralizados, dejando correr abundante agua para diluirlos.

4. Antes de salir del laboratorio retírese el guardapolvo y demás equipo de seguridad y guárdelo en una bolsa de plástico exclusiva para este uso.

C. EQUIPOS DE PROTECCIÓN INDIVIDUAL OBLIGATORIO DE ACUERDO AL TIPO DE PRÁCTICA.

1. Guardapolvo blanco largo de algodón 100% y manga larga.
2. Anteojos de seguridad.
3. Mascarilla simple, excepto el Curso de Microbiología (Mascarilla N°95)
4. Gorros y/o recogedores de cabello.
5. Guantes de seguridad.

D. DE LOS MATERIALES Y EQUIPOS DETERIORADOS

1. En caso que el alumno deteriore algún material y/o equipo, que impidan su buen estado y funcionamiento, POR MALA UTILIZACIÓN DEL MISMO; se registrara los datos del alumno responsable, quien tiene un plazo de 48 horas para la reposición del material y/o equipo, de las mismas características o superior, del bien deteriorado.

2. En el caso que se incumpla lo anterior, el alumno firmará un formato de autorización de recargo a su cuenta personal; el mismo que debe hacer efectivo en caja de la universidad.

E. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN

1. Coordinar con el docente responsable de la investigación a realizar para las prácticas experimentales a realizar en el laboratorio de química y biología.

2. Coordinar con el Jefe del laboratorio para ver los horarios disponibles del laboratorio.

3. Enviar su requerimiento de equipos, materiales, reactivos e insumos; en forma virtual al correo: Escuela Profesional de Medicina labmedicina@continental.edu.pe, Escuela Profesional de Tecnología Médica labtecmed@continental.edu.pe; con copia a la jefatura de salud jefaturalabsalud@continental.edu.pe. o en forma personal acercándose al proveeduría de laboratorios, para dejar su requerimiento de sus prácticas programadas, según formato correspondiente; PARA AMBOS CASOS DEBE SER CON UNA ANTICIPACIÓN MÍNIMA DE 48 HORAS, CASO CONTRARIO NO SE ATENDERÁ.

4. Presentar el formato de requerimiento, debidamente relleno y adjuntar su documento de identidad DNI y carnet Universitario; los mismos que serán devueltos con la entrega de los materiales en buenas condiciones.

5. Llegar puntualmente a las practicas programadas, se prohíbe el ingreso después del horario establecido.

Caso de no contar con ésta, no podrá ingresar al desarrollo de la práctica en el Laboratorio de Salud.

7. Verificar que los equipos antes de su utilización estén funcionando bien, en caso contrario comunicarlo inmediatamente al personal a cargo del laboratorio.

8. Leer con atención los avisos e indicaciones que se encuentran en los lugares visibles del laboratorio.

9. Aplicar las normas de bioseguridad.

10. No usar los celulares dentro de las prácticas.

11. Antes de abandonar el laboratorio, dejar limpio el área de trabajo.

12. Devolver los materiales completamente limpios, lavados con detergente, enjuagados con agua corriente y luego con agua destilada.

3.6. DE LAS SANCIONES

1. El Jefe de Laboratorio, llevara un record de incidencias para aquellos docentes y estudiantes reincidentes.

2. En caso de ser estudiante y/o docente reincidente, por más de 2 reportes, se procederá a la firma de una carta de responsabilidad.

El presente reglamento entra en vigencia a partir 13 de Marzo del 2017

Huancayo, 13 de Marzo del 2016

Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Primera unidad: PROTOZOARIOS INTESTINALES

Práctica N° 1: MÉTODOS COPROPARASITOSCÓPICOS EN FRESCO Y DIRECTO

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

1. **TEMA: METODOS COPROPARASITOSCÓPICOS EN FRESCO Y DIRECTO**
2. **PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.**

Desarrollar las técnicas coproparasitológicas en fresco y directo, para diferenciarlas como también establecer la importancia de cada uno de ellos y adquirir el criterio para saber cuándo usarlas.

3. **CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).**

El examen coproparasitológico en fresco, es el método más antiguo que se conoce, probablemente Antón Van Leeuwenhoek a mediados del siglo XVII, fue el primero en utilizarlo.

Estos exámenes en fresco y directo son sencillos, rápidos y económicos, pues requieren poco material.

-Son excelentes para la búsqueda de trofozoítos y protozoos.

-Son eficaces en la búsqueda e identificación de quistes, huevos y larvas.

-Sin embargo, la muestra utilizada es muy pequeña y poco representativa.

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 la movilidad de los trofozoítos, sin embargo, es difícil la observación de las estructuras internas, pues con frecuencia son poco definidas. Mientras que en el método directo se puede utilizar una solución de lugol para destacar las estructuras internas de las formas parasitarias (quistes, huevos) presentes, pero inmoviliza trofozoítos.

4. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Microscopio eléctrico binocular con objetivos 5x, 10x y 40x.
- Guantes de Látex.
- Guardapolvo o Mandilones.
- Mascarilla.
- Lentes Protectores.
- Jabón Líquido.
- Papel toalla.
- Solución salina 0.9% (SSF)
- Solución de Iugol Parasitológico
- Láminas Portaobjetos.
- Laminillas Cubreobjetos
- Aplicadores de madera
- Recipientes para desechos de laminillas y portaobjetos
- Frasco pequeño de Lejía al 4% - 5%.

OBSERVACIONES:

1. Cada alumno debe trabajar por lo menos con dos especímenes diferentes (heces), además de la muestra testigo que proporcione el profesor. Una muestra debe ser propia del alumno y una segunda puede ser de otra persona.

2. Las heces son potencialmente infectantes. Se deben extremar las precauciones universales contempladas en criterios de Bioseguridad durante todo el procedimiento.

5. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

6. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

NO CONTEMPLA

7. MUESTRA Y MUESTREO

- Muestra: Heces.
- Debe colocar un trozo de deposición del tamaño de una nuez (entre 3 y 6 gramos) dentro del frasco de boca ancha con tapa rosca. En el caso de deposiciones líquidas colocar lo equivalente a una cuchara sopera (5 ml). La muestra debe ser obtenida lo más fresca posible (máximo 90 minutos, si se busca *Entamoeba histolítica*).
- Son preferibles las muestras evacuadas de manera natural.
- No debe haber ingerido en días anteriores antibióticos, quimioterápicos, purgantes oleosos, fármacos a base de bismuto, bario o carbono, ni medicamentos específicos, contra la o las parasitosis que se investigan.
- La muestra no debe estar contaminada con orina, cremas, talco.
- Deben estar perfectamente etiquetadas; nombre, edad y sexo.
- Son preferibles muestras seriadas.

8. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

- a) De las muestras recolectadas en recipiente, con un aplicador, se toma un pequeño fragmento aproximadamente 1 mm de diámetro.
- b) En un portaobjeto el cual contiene una gota de sol. Salina al 0.9%, se emulsiona perfectamente. Se coloca un cubre objeto, para su observación al microscopio.(Fig.1)

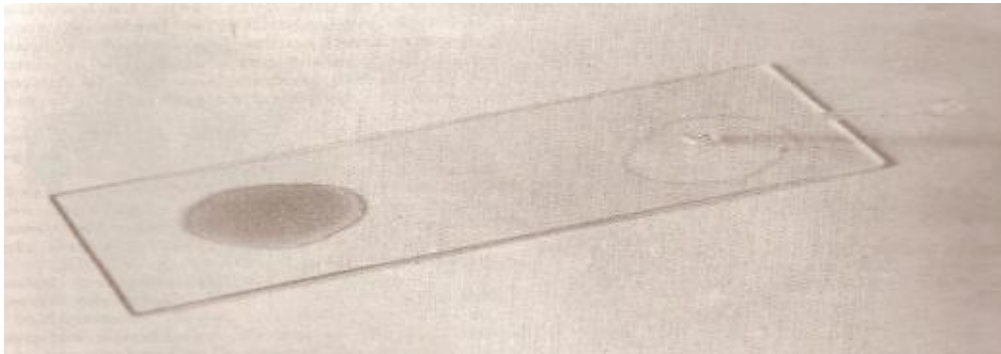


Fig.1 Método directo. Fuente: Tay J. Lara, Gutiérrez, Velazco, Parasitología Médica.

- c) Examinar toda la preparación de manera sistemática, con objetivos de 10 X y 40X. , utilizando el microscopio.
- d) 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. 2-a y 2-b)

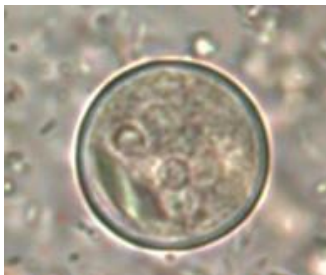


Fig.2-a Método en Fresco (Sol. Salina Fisiológica)

Fig.2-b Método directo (Sol. Lugol)

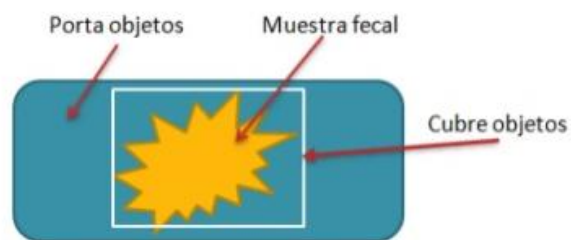
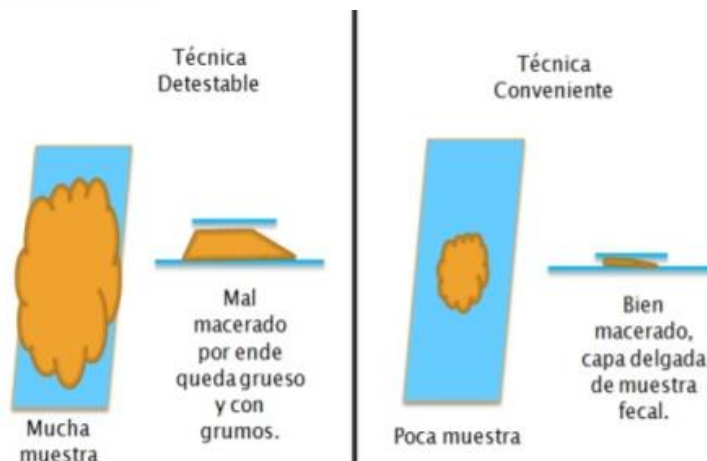
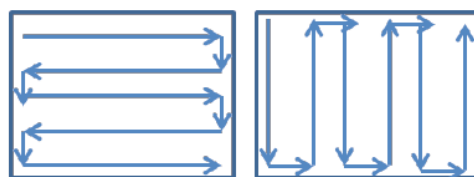
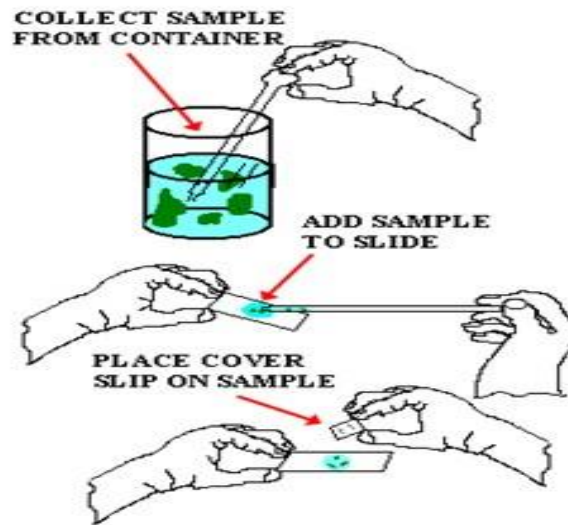


Figura 3 Forma de cómo se ve terminado.



MODO DE OBSERVACION DE LOS CAMPOS OPTICOS

NOTA: Para las muestras obtenidas con cucharilla rectal o hisopo, se depositan en un tubo con Sol. Salina Fisiológica (SSF), del cual se toma una muestra con una pipeta Pasteur y se deposita entre portaobjetos y cubre objeto para su observación al microscopio (10X, 40X).



9. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; estadio parasitario, género y especie del parásito.

10. CONCLUSIONES.

-
-
-
-

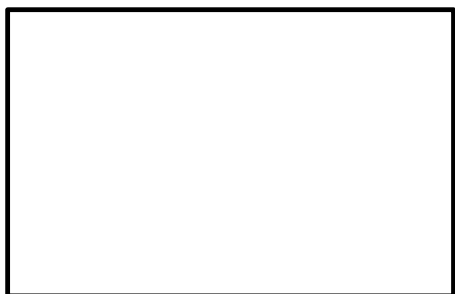
11. CUESTIONARIO.

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- ATTIAS A. (2006). Parasitología y Medicina Tropical. (2a.ed.) Colombia: Editorial Mediterráneo...
- Biagi F. (2000). Enfermedades parasitarias (17ª reimp.) México D.F: Editorial la Prensa Medica Mexicana.

- Haro Arteaga I., Salazar Schettino P., Cabrera Bravo M. (1995), Diagnostico morfológico de las parasitosis. (2a.ed.) México D. F: Méndez editores.
- MANUAL DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO [en línea]. [Consulta: 03 de Agosto de 2016]. Disponible en web: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Primera unidad: PROTOZOARIOS INTESTINALES

Práctica N° 2: TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN ESPONTÁNEA EN TUBO

Sección :	Apellidos :
Docente : Mg. Velasquez Hinostraza, Carlos	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

1. TEMA: TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN ESPONTÁNEA EN TUBO

2. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Desarrollar las técnicas coproparasitológicas (Técnica de Sedimentación Espontanea en Tubo) para detección de quistes, Trofozoitos de protozoarios.

3. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Se basa en la gravidez que presentan todas las formas parasitarias para sedimentar espontáneamente en un medio menos denso y adecuado como la solución fisiológica. En este método es posible la detección de quistes, trofozoitos de protozoarios, huevos y larvas de helmintos.

4. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Tubos de vidrio o plástico de 13 x 100, 16 x 150, o tubos de 50 mL de capacidad que terminen en forma cónica.
- Láminas portaobjetos.
- Laminillas de celofán recortadas adecuadamente (22 x 22 mm ó 22 x 30 mm.).
- Solución Salina fisiológica.
- Pipetas de vidrio o plástico.
- Agua destilada, hervida o de lluvia.
- Gasa recortada en piezas de 9 x 9 cm.
- Frasco pequeño de Lejía al 4% - 5%.

OBSERVACIONES:

1. Cada alumno debe trabajar por lo menos con dos especímenes diferentes (heces), además de la muestra testigo que proporcione el profesor. Una muestra debe ser propia del alumno y una segunda puede ser de otra persona.

5. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

6. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

La Técnica de Sedimentación Espontanea en Tubo es más sensible que el método de montaje directo o en fresco.

7. MUESTRA Y MUESTREO

Muestra: Heces.

- Debe colocar un trozo de deposición del tamaño de una nuez (entre 3 y 6 gramos) dentro del frasco de boca ancha con tapa rosca. En el caso de deposiciones líquidas colocar lo equivalente a una cuchara sopera (5 ml). La muestra debe ser obtenida lo más fresca posible (máximo 90 minutos, si se busca Entamoeba hystolítica).
- Son preferibles las muestras evacuadas de manera natural.
- No debe haber ingerido en días anteriores antibióticos, quimioterápicos, purgantes oleosos, fármacos a base de bismuto, bario o carbono, ni medicamentos específicos, contra la o las parasitosis que se investigan.
- La muestra no debe estar contaminada con orina, cremas, talco.
- Deben estar perfectamente etiquetadas; nombre, edad y sexo.
- Son preferibles muestras seriadas.

8. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

- Tomar una porción de heces (1 - 2 g) y homogeneizar con suero fisiológico en un tubo limpio o en el mismo recipiente en que se encuentra la muestra.
- Colocar una gasa, hundiéndola en la abertura del tubo y sujetándola con una liga alrededor de ella.
- Filtrar el homogeneizado a través de la gasa, llenando el tubo hasta la cuarta parte de su contenido.
- Agregar suero fisiológico hasta 1 cm por debajo del borde del tubo.
- Ocluir la abertura del tubo con una tapa, parafilm o celofán.
- Agitar enérgicamente el tubo por 15 segundos aproximadamente.
- Dejar en reposo de 30 a 45 minutos. En caso que el sobrenadante esté muy turbio, eliminarlo y repetir la misma operación con solución fisiológica o agua filtrada.
- Aspirar la parte media del tubo con una pipeta y colocar 1 o 2 gotas en una lámina portaobjeto.
- Aspirar el fondo del sedimento con una pipeta y depositar 1 o 2 gotas del aspirado en los extremos de la otra lámina portaobjeto.
- Agregar 1 o 2 gotas de solución lugol a una de las preparaciones.
- Cubrir ambas preparaciones con las laminillas de celofán y observar al microscopio.

OBSERVACIÓN:

Examinar primero la preparación con solución fisiológica para observar formas móviles y de menor peso específico (trofozoítos, quistes y larvas) y luego la preparación con lugol para observar sus estructuras internas, de estos y de otros parásitos de mayor peso específico (huevos, larvas).

9. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Gestión Curricular

Los resultados indicarán el(los) método(s) empleado(s), el género o la especie del parásito observado y su estadio evolutivo. La densidad parasitaria puede expresarse como el número de formas parasitarias observadas por campo de microscopio con objetivo de 10X y 40X.

Todo formato de respuesta de resultados debe contener los datos de identificación: nombre, edad, sexo, fecha, las características organolépticas de las heces (consistencia, color, presencia de sangre y moco), datos de la observación microscópica (presencia de leucocitos, eritrocitos, levaduras, fibras musculares no digeridas y parénquima de células vegetales en cantidad considerable), ya que esta información facilitará un mejor diagnóstico clínico.

RESULTADO POSITIVO

El informe debe contener el nombre del paciente, los agentes observados y su estadio o forma evolutiva: quistes (q), ooquistes (o), trofozoítos (t), esporas (e), huevos (h) o larvas (l).

La intensidad parasitaria puede expresarse cualitativa o semicuantitativamente:

Cualitativamente:

Escaso, regular o buena cantidad, según sea el grado de facilidad o dificultad para ubicarlos.

Semicuantitativamente:

Contando las formas parasitarias:

Si se observan 1 ó 2 elementos en toda la lámina, escribir el nombre del agente y su estadio evolutivo.

(+) Si se observan de 2 a 5 elementos por campo microscópico 10x ó 40x.

(++) Si se observan de 6 a 10 elementos por campo microscópico 10x ó 40x.

(+++)
Si se observan >10 elementos por campo microscópico 10x ó 40x.

RESULTADO NEGATIVO

Informar que no se observaron quistes, ooquistes, trofozoítos, huevos o larvas de parásitos.

10. CONCLUSIONES.

-
-
-
-

11. CUESTIONARIO.

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- ATTIAS A. (2006). Parasitología y Medicina Tropical. (2a.ed.) Colombia: Editorial Mediterráneo...
- Biagi F. (2000). Enfermedades parasitarias (17ª reimp.) México D.F: Editorial la Prensa Medica Mexicana.

Gestión Curricular

- Haro Arteaga I., Salazar Schettino P., Cabrera Bravo M. (1995), Diagnostico morfológico de las parasitosis. (2a.ed.) México D. F: Méndez editores
- Ash, L. R. y Oriol, T. C. (1987). Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification., Chicago. ASCP Press



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología**Primera unidad: PROTOZOARIOS INTESTINALES****Práctica N° 3: METODO DE FLOTACION DE WILLIS (SOLUCION SATURADA DE CLORURO DE SODIO)**

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

1. TEMA: METODO DE FLOTACION DE WILLIS**2. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.**

Aprender a realizar diferentes métodos para la identificación y estudio de los parásitos en este caso la búsqueda de quistes y en otros casos huevos de parásitos.

3. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Willis en 1921, describe este método basado en la propiedad que tienen las soluciones de densidad mayor de hacer flotar objetos menos densos. Este método está recomendado específicamente para la investigación de protozoarios y helmintos, consiste en la preparación de la materia fecal con solución saturada de cloruro de sodio.

Método de concentración por flotación simple. Se usa para la búsqueda e identificación de formas parasitarias como quistes, huevos y helmintos.

- Se evalúa una gran porción de la muestra.
- Sensibilidad alta.
- Fácil rápida y económica.

Es un método de concentración por flotación simple: en este caso se usa salmuera. Consiste en preparar el material fecal con solución saturada de cloruro de sodio.

4. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Microscopio
- Centrifuga para tubos.
- Balanza analítica o de dos brazos.
- Vaso de precipitado
- Embudo
- Tubo de ensayo 13x100
- Portaobjetos

- Cubreobjetos
- Baja lenguas
- Sol. Saturada de NaCl (salmuera)
- Sol. de yodo lugol.

5. OBSERVACIONES:

Cada alumno debe trabajar por lo menos con dos especímenes diferentes (heces), además de la muestra testigo que proporcione el profesor. Una muestra debe ser propia del alumno y una segunda puede ser de otra persona.

6. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

7. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

NO APLICA.

8. MUESTRA Y MUESTREO

- Muestra: Heces.
- Debe colocar un trozo de deposición del tamaño de una nuez (entre 3 y 6 gramos) dentro del frasco de boca ancha con tapa rosca. En el caso de deposiciones líquidas colocar lo equivalente a una cuchara sopera (5 ml). La muestra debe ser obtenida lo más fresca posible.
- Son preferibles las muestras evacuadas de manera natural.
- No debe haber ingerido en días anteriores antibióticos, quimioterápicos, purgantes oleosos, fármacos a base de bismuto, bario o carbono, ni medicamentos específicos, contra la o las parasitosis que se investigan.
- La muestra no debe estar contaminada con orina, cremas, talco.
- Deben estar perfectamente etiquetadas; nombre, edad y sexo.
- Son preferibles muestras seriadas.

9. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

- a) Tomar aproximadamente 1-2 gr de heces fecales con una baja lenguas.
- b) Colocar la muestra en un vaso de precipitado y mezclar con 10ml de solución saturada de cloruro de sodio.
- c) En un tubo de ensayo, filtre la mezcla con una gasa, llenando completamente el tubo.
- d) Coloque un portaobjetos sobre el tubo de manera que el líquido haga contacto con portaobjetos.
- e) Esperamos de 5 a 10 minutos.
- f) Los quistes o huevos flotarán y quedarán adheridos a la cara del portaobjetos que está en contacto con la mezcla.
- g) Colocar una gota de yodo lugol en el porta objetos y colocar el cubreobjetos.
- h) Examinar la muestra al microscopio con el objetivo 40x, buscamos quistes o huevos.

Limitaciones

Los huevos y quistes de peso específico menor que la solución saturada de cloruro de sodio tienden a adherirse a un cubreobjetos colocado.

** No indicado en la búsqueda de huevos pesados ni de larvas.*

10. RESULTADOS O PRODUCTOS.

RESULTADO POSITIVO

Los resultados indicarán el(los) método(s) empleado(s), el género o la especie del parásito observado y su estadio evolutivo. La densidad parasitaria puede expresarse como el número de formas parasitarias observadas por campo de microscopio con objetivo de 40X.

De 1 a 4 formas parasitarias por campo (+).
De 4 a 8 formas parásitas por campo (++)
De 9 a 13 formas parásitas por campo (+++).
Más de 13 por campo (++++).

RESULTADO NEGATIVO

Informar que no se observaron quistes, ooquistes, trofozoítos, huevos o larvas de parásitos.

11. CONCLUSIONES.

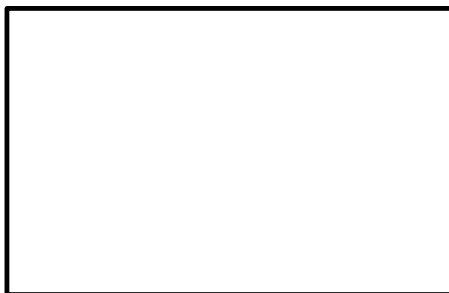
-
-
-
-

12. CUESTIONARIO.

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- BOTERO DAVID. Parasitosis Humana. 5ta. Ed. Colombia: editorial CIB, 2012. CÓDIGO DE BÚSQUEDA: 00009513- 616.96/B76/2012.
- PRATS, Guillem. Microbiología y parasitología médicas. 1° ed. Madrid: Médica Panamericana, 2012. CÓDIGO DE BÚSQUEDA: 000010256 - 616.01 / P84 .
- GEO. F. BROOKS [et.al]. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. 26° ed. México, D.F.: McGraw-Hill, 2014. CÓDIGO DE BÚSQUEDA:000009604 - 616.9041 B84.
- ASH, L. R. Y ORIEL, T. C. (1987). Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification., Chicago. ASCP Press



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Primera unidad: PROTOZOARIOS INTESTINALES

Práctica N° 4: COLORACION ZIEHL NEELSEN MODIFICADO

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

1. TEMA: COLORACION ZIEHL NEELSEN MODIFICADO

2. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Adquirir los conocimientos y destrezas necesarias para identificar las entidades parasitarias correspondientes a coccidios de interés clínico, empleando métodos de coloración de Ziehl Neelsen modificado

3. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Los ooquistes de *Cyclospora cayetanensis*, *Isospora belli* y *Cryptosporidium* sp. Poseen una membrana quística resistente a la tinción, por lo que es necesario aplicar calor o tiempos de tinción prolongados para que el colorante pueda penetrar. Con esta tinción los ooquistes se observan como esférulas de un color fucsia contra un fondo de color azul. En el método modificado no se aplica calor al frotis durante el paso de tinción con carbol fucsina sino que se utiliza una tinción con este colorante durante 20 minutos con un menor tiempo de decoloración

4. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Microscopio eléctrico binocular con objetivos 5x, 10x y 40x. para cada estudiante.
- Guantes de Latex.
- Guardapolvo o Mandilones.
- Mascarilla.
- Lentes Protectores.
- Jabón líquido.
- Papel toalla.
- Batería para coloración Ziehl Neelsen modificado.
- Baja lenguas
- Portaobjetos Nuevos
- Metanol

BATERIA PARA COLORACIÓN ZIEHL NEELSEN MODIFICADO.

Solución de carbol-fucsina

- 25 ml de solución saturada de fucsina alcohólica (2.0 g de fucsina básica en 25 ml de etanol 96°).
- 25 gr. de fenol, 500 ml de agua destilada.

Decolorante

- Ácido clorhídrico al 0.5 %.

OBSERVACIONES:

Cada alumno debe trabajar por lo menos con dos especímenes diferentes (heces), además de la muestra testigo que proporcione el profesor. Una muestra debe ser propia del alumno y una segunda puede ser de otra persona.

5. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

6. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

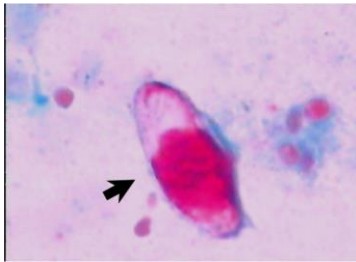
No aplica

7. MUESTRA Y MUESTREO

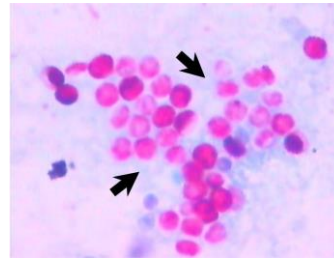
- Muestra: Heces.
- Debe colocar un trozo de deposición del tamaño de una nuez (entre 3 y 6 gramos) dentro del frasco de boca ancha con tapa rosca. En el caso de deposiciones líquidas colocar lo equivalente a una cuchara sopera (5 ml). La muestra debe ser obtenida lo más fresca posible (máximo 90 minutos, si se busca *Entamoeba histolytica*).
- Son preferibles las muestras evacuadas de manera natural.
- -No debe haber ingerido en días anteriores antibióticos, quimioterápicos, purgantes oleosos, fármacos a base de bismuto, bario o carbono, ni medicamentos específicos, contra la o las parasitosis que se investigan.
- La muestra no debe estar contaminada con orina, cremas, talco.
- Deben estar perfectamente etiquetadas; nombre, edad y sexo.

8. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

- Elaborar frotis finos de heces, dejar secar seguidamente fijar con metanol sumergiendo en koplín o cubriendo todo el frotis por espacio de 5 minutos.
- Sumergir en carbol-fucsina por 10 minutos.
- Lavar con agua de la caño.
- Decolorar con alcohol-ácido clorhídrico por 30 segundos.
- Lavar con agua de la caño.
- Dejar que se seque a la intemperie.
- Observar al microscopio con objetivos de 40x y/o 100x (de inmersión).



Ooquistes de isospora belli



Ooquistes de Cryptosporidium parvum

9. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del Parásito como también el método empleado.

10. CONCLUSIONES.

-
-
-
-

11. CUESTIONARIO.

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- Pakandl, Michal (2009). [Coccidia : a review»](#). *Folia parasitologica* 56 (3): 153-166.
- Acuña AM; Combol A; Fernández N; Alfonso A; González M; Zanetta E. (2001). Parasitosis intestinales en población VIH +/SIDA .Jorn Brasil Patología , Supl Científ 37(4): 99.
- Ash, L. R. y Oriol, T. C. (1987). Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification., Chicago. ASCP Press



Primera unidad: PROTOZOARIOS FLAGELADOS TISULARES**Práctica N° 5: IDENTIFICACION MICROSCOPICA DE PROTOZOARIOS FLAGELADOS
- COLORACION GIEMSA**

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

1. **TEMA:IDENTIFICACION DE PROTOZOARIOS FLAGELADOS - COLORACION GIEMSA**
2. **PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.**

Adquirir los conocimientos necesarios para identificar las diferentes fases de los tripanosomas mediante el estudio microscópico de frotis teñidos con Giemsa.

3. **CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).**

La tinción con Giemsa es la preferida en el diagnóstico de las infecciones con flagelados sanguíneos y tisulares, debido a que tiñe bien las estructuras con carácter diagnóstico (núcleos, cinetoplasto, etc.). Se estudiarán frotis sanguíneos teñidos con Giemsa, en los que se podrán observar tanto células sanguíneas como tripanosomas. El colorante de Giemsa es el que se utiliza habitualmente para teñir las extensiones sanguíneas (frotis y gota gruesa) en busca de parásitos hemáticos. Como representantes del género *Trypanosoma* se estudiará al *Trypanosoma cruzi*.

4. **EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.**

- Microscopio eléctrico binocular con objetivos 5x, 10x y 40x. para cada estudiante.
- Guantes de Latex.
- Guardapolvo o Mandilones.
- Mascarilla.
- Lentes Protectores.
- Jabón líquido.
- Papel toalla.
- Colorante Giemsa
- Alcohol metílico
- Portaobjetos
- Batería para coloración Giemsa.
- Portaobjetos Nuevos

- Metanol

5. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

6. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

7. MUESTRA Y MUESTREO

- Muestra: Sangre periférica.
- Muestreo: Punción venosa.

8. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

COLORACION GIEMSA

- Colocar las láminas sobre la varilla de coloración.
- Preparar el volumen necesario de solución Giemsa diluida, aproximadamente 2 mL por lámina.
 - En la probeta colocar 0,1 mL (2 gotas) de solución Giemsa stock por cada mL de solución amortiguadora.
 - Homogeneizar la solución colorante.
- Cubrir la muestra con la solución Giemsa diluida
- Dejar actuar el colorante durante 30 minutos.
- Lavar con agua corriente y dejar secar a temperatura ambiente.



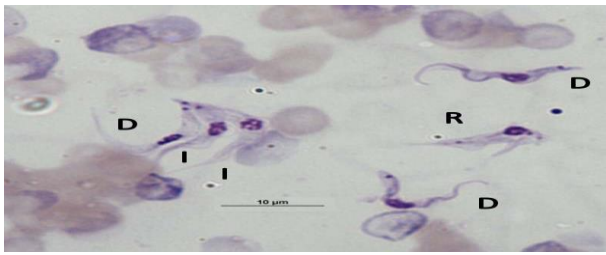
- Examinar toda la preparación de manera sistemática, con objetivo de inmersión de 100x con el microscopio.

TRIPANOSOMA ssp.

Características de la forma tripomastigoto en sangre

Gestión Curricular

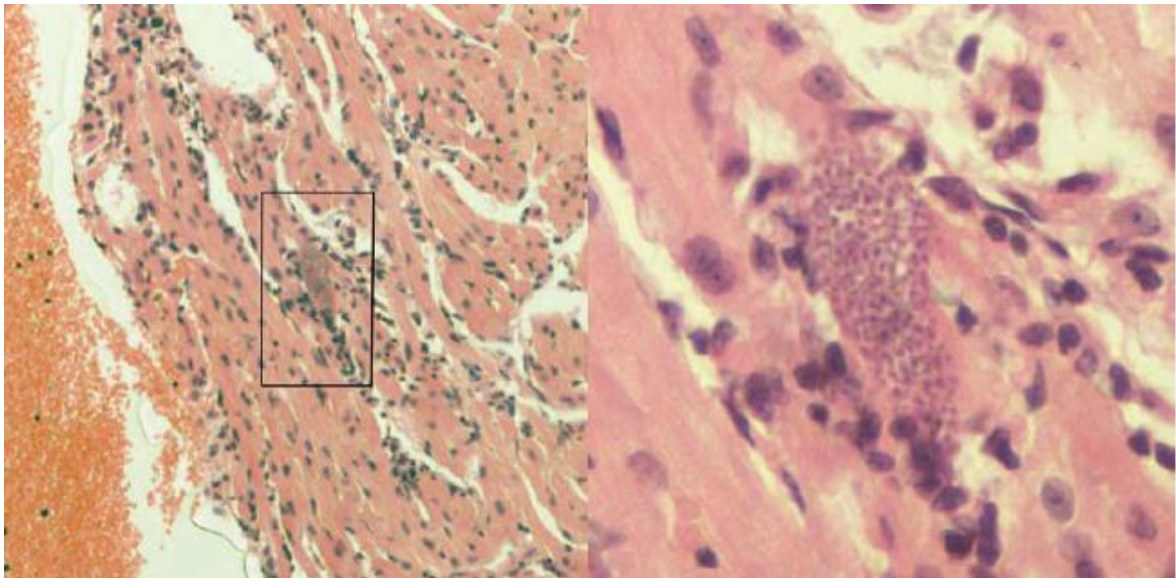
- Polimórfica, con formas: a) largas y delgadas, b) cortas y rechonchas, y c) formas intermedias (19 x 1,5 μm). En las extensiones de sangre teñidas suele presentar forma de C o de interrogación. El número de tripanosomas en el frotis es reducido, debido a que nunca se divide en la sangre.
- Extremo posterior puntiagudo.
- Cinetoplasto grande y sub terminal.
- Membrana ondulante bien desarrollada.
- Núcleo central.
- flagelo libre.



Frotis sanguíneo con formas tripomastigoto. D: forma delgada, R: forma rechoncha, I: forma intermedia

Características de las formas amastigotos (formas tisulares)

Estudio de una sección histológica de corazón de ratón. Los amastigotos son organismos ovales, de aproximadamente 4 μm de diámetro, que se multiplican dentro de las células, para después transformarse en formas tripomastigotos que son liberados a la sangre. En las fibras musculares los cúmulos de amastigotos forman los llamados pseudoquistes.



T. cruzi en músculo cardíaco. En la imagen izquierda, amastigotos formando pseudoquiste (encuadrado). En la imagen derecha, el pseudoquiste aumentado.

9. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del Parásito como también el método empleado.

10. CONCLUSIONES.

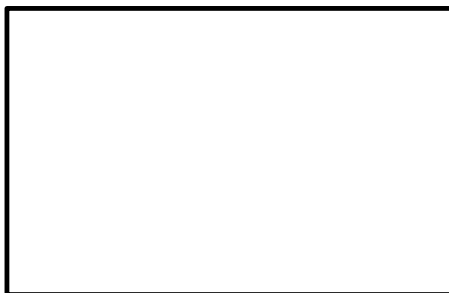
-
-
-
-

11. CUESTIONARIO.

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- Perez CJ, Lymbery AJ, Thompson RCA (2015). Reactivation of Chagas Disease: Implications for Global Health. Review. Trends in Parasitology, November 2015;31(11):595–603.
- Vega S, Náquira C.. (2006).Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la trypanosomiosis americana (enfermedad de Chagas) 2da ed. Serie de Normas Técnicas N.º 26. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Ash, L. R. y Oriel, T. C. (1987). Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. Chicago. ASCP Press



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Primera unidad: PROTOZOARIOS FLAGELADOS TISULARES

Práctica N° 6: IDENTIFICACION MICROSCOPICA DE PROTOZOARIOS FLAGELADOS (LEISHMANIA spp.) - COLORACION GIEMSA

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

1. **TEMA: IDENTIFICACION DE PROTOZOARIOS FLAGELADOS (LEISHMANIA spp.)- COLORACION GIEMSA**
2. **PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.**

Adquirir los conocimientos necesarios para identificar las diferentes fases de la leishmaniosis mediante el estudio microscópico de frotis teñidos con Giemsa.

3. **CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).**

La tinción con Giemsa es la preferida en el diagnóstico de las infecciones con flagelados sanguíneos y tisulares, debido a que tiñe bien las estructuras con carácter diagnóstico (núcleos, cinetoplasto, etc.). Por otra parte se realizara revisión de láminas fijadas y/o improntas de bazo de hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) infectado con *Leishmania donovani* teñidas con Giemsa, en las que se podrán observar células del SRE (macrófagos) con el citoplasma invadido de amastigotos. La impronta se realiza aplicando una porción del tejido obtenido por biopsia sobre una porta; parte de las células del tejido quedarán adheridas al vidrio y podrán, tras la fijación y tinción, estudiarse como si se tratase de un frotis.

4. **EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.**

- Microscopio eléctrico binocular con objetivos 5x, 10x y 40x. para cada estudiante.
- Guantes de Latex.
- Guardapolvo o Mandilones.

- Mascarilla.
- Lentes Protectores.
- Jabón líquido.
- Papel toalla.
- Colorante Giemsa
- Alcohol metílico
- Portaobjetos
- Batería para coloración Giemsa.
- Portaobjetos Nuevos
- Metanol
- Lancetas, mondadientes , bisturí
- Gasa

5. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

6. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

7. MUESTRA Y MUESTREO

- Muestra: exudado de la lesión (linfa dérmica).
- Muestreo: Raspado de la lesión.

8. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

COLORACION GIEMSA

- Colocar las láminas sobre la varilla de coloración.
- Preparar el volumen necesario de solución Giemsa diluida, aproximadamente 2 mL por lámina.
 - En la probeta colocar 0,1 mL (2 gotas) de solución Giemsa stock por cada mL de solución amortiguadora.
 - Homogeneizar la solución colorante.
- Cubrir la muestra con la solución Giemsa diluida
- Dejar actuar el colorante durante 30 minutos.
- Lavar con agua corriente y dejar secar a temperatura ambiente.

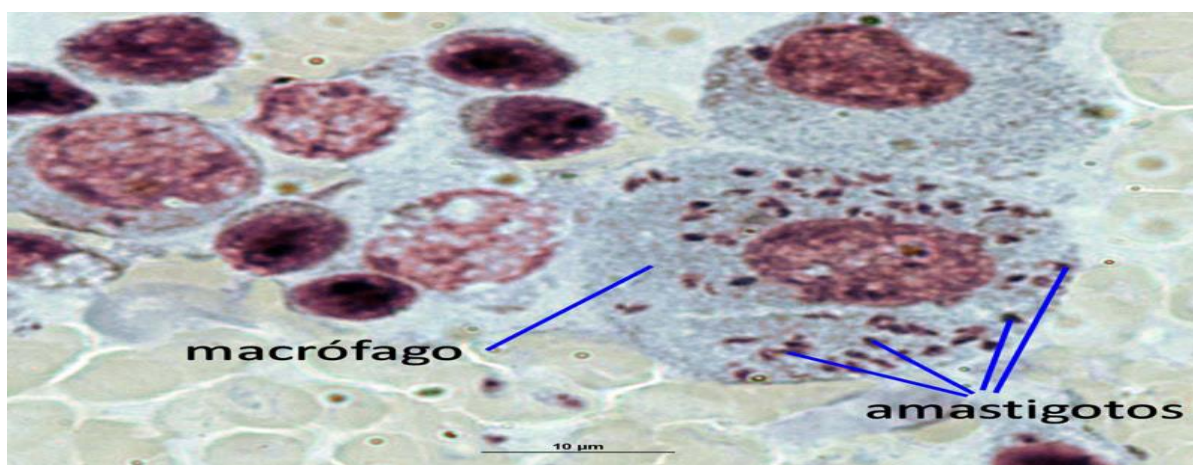


f) Examinar toda la preparación de manera sistemática, con objetivo de inmersión de 100x con el microscopio.

LEISHMANIA ssp.

Características de las formas amastigotos de Leishmania spp.

- Esféricas u ovals y de pequeñas dimensiones (2x4 μm de promedio). El núcleo es esférico y se tiñe de rojo púrpura con el colorante de Giemsa. El cinetoplasto aparece como un pequeño bastón, o puntiforme, que se tiñe intensamente de púrpura violeta. El citoplasma se tiñe de azul, siendo a menudo imprecisos sus límites, por lo que en muchas ocasiones sólo son apreciables dos puntitos próximos entre sí (núcleo y cinetoplasto), de distinto tamaño y teñidos de púrpura.
- Los amastigotos se encuentran exclusivamente en el interior del citoplasma del macrófago, pero la técnica de la impronta suele provocar la rotura de la célula hospedadora, por lo que en la mayoría de las ocasiones los parásitos se observan fuera de ésta.



Características de las formas promastigotos (formas en el vector)

Estudio de un frotis que contiene las formas que se desarrollan en el intestino del vector, un flebótomo hembra. Obsérvense la forma, la posición del cinetoplasto, del flagelo y del núcleo.



9. RESULTADOS O PRODUCTOS.

El Examen parasitológico directo es considerado (-) Negativo cuando no se observan parásitos (amastigotos en la lámina).

El Examen parasitológico directo es considerado (+) Positivo cuando se observan 1 o más parásitos (amastigotos) claramente identificados en la lámina.

El Programa ha adoptado el cuadro sugerido por la OPS para clasificación por cruces, basado en el número de parásitos por campo, que no solo refleja las densidades de parásitos en los casos de Leishmania Cutánea, también cuando el paciente padece Leishmania Visceral:

GRADO	MEDIA DE PARASITOS
6+	> a 100 por campo
5+	10 a 100 por campo
4+	1 a 10 por campo
3+	1 a 10 por 10 campos
2+	1 a 10 por 100 campos
1+	1 a 10 por 1000 campos
0	0 por 1000 campos

10. CONCLUSIONES.

-
-
-
-

11. CUESTIONARIO.

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- Sánchez L, Sáenz E, Chávez M. Leishmaniasis en el Perú. En: Sociedad Peruana de Dermatología: Infectología y Piel. Lima: Mad Corp Editores e Impresores, 2000:201-7.
- Ministerio de Salud. Oficina General de Epidemiología. Módulos Técnicos. Serie de Monografías. Leishmaniasis. Lima, Perú. 2000:08-83.
- Lucas CM, Franke ED, Cachay MI, et al. Leishmania (viannia) lainsoni :first isolation in Peru. Am J Trop Med Hyg 1994; 51:533-7.



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Primera unidad: PROTOZOARIOS FLAGELADOS TISULARES

Práctica N° 7: IDENTIFICACION MICROSCOPICA DE PROTOZOARIOS HEMATICOS (Plasmodium spp.) - COLORACION GIEMSA

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

1. **TEMA: IDENTIFICACION DE PROTOZOARIOS HEMATICOS (Plasmodium spp.)- COLORACION GIEMSA**
2. **PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.**

Adquirir los conocimientos y destrezas necesarias para identificar las entidades parasitarias correspondientes al género Plasmodium, a partir de frotis sanguíneos (de sangre periférica), teñidos con el colorante de Giemsa, para el estudio de la morfología parasitaria en sus diversos estadios.

3. **CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).**

Entre los diversos miembros del orden Eucoccidia, los representantes del suborden Haemosporina son, sin ninguna duda, los más interesantes. Este suborden está constituido por coccidios heteroxenos que utilizan en su ciclo vital dos hospedadores, un vertebrado y un invertebrado hematófago. En el vertebrado se realiza la esquizogonia y el principio de la gamogonia y en el invertebrado el resto de la gamogonia y la esporogonia. El cigoto que se forma al final de la gamogonia es móvil y recibe el nombre de oocineto. En el vertebrado, el parásito vive durante parte del ciclo vital en las células sanguíneas, siendo transmitido por un vector hematófago (hospedador invertebrado). El género más importante es Plasmodium, que contiene más de 150 especies parásitas de anfibios, reptiles, aves y mamíferos, a los que provoca el paludismo o malaria.

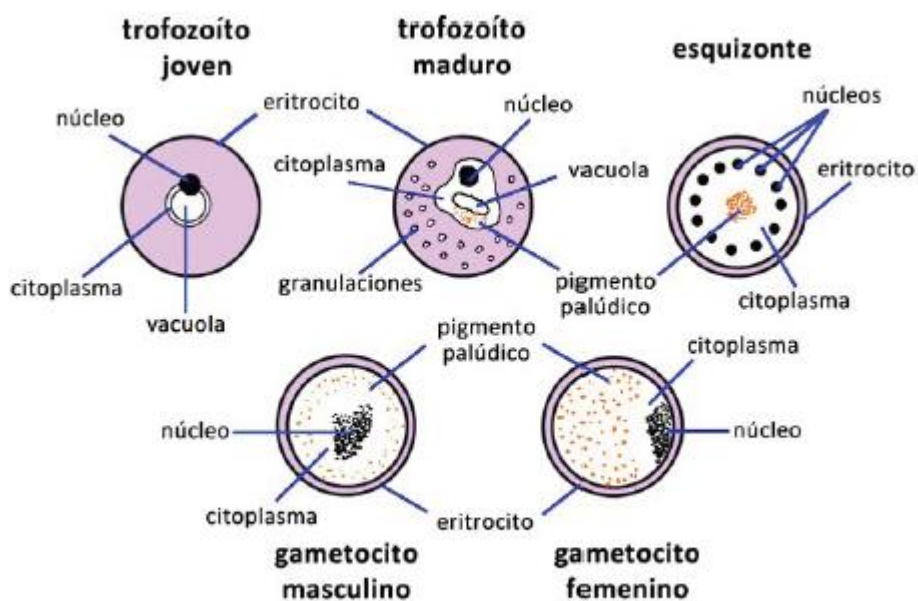
IDENTIFICACIÓN DEL PLASMODIUM

Las diversas especies de Plasmodium pueden ser separadas y diagnosticadas basándose en sus características morfológicas y el modo de desarrollarse durante la fase eritrocítica en el hombre.

Las características morfológicas del parásito a tener en cuenta para el diagnóstico son los siguientes:

a) Aspecto del eritrocito parasitado

- Aumento o no del tamaño.
- Coloración.
- Presencia de granulaciones (Schüffner, Maurer,...).
- Existencia de infecciones múltiples.



Morfología de los estadios de Plasmodium sp.

b) Características del trofozoíto

- tamaño, forma y número de parásitos por eritrocito.
- número de núcleos por anillo.
- presencia de formas con disposición especial.
- aspecto y distribución del pigmento palúdico.

c) Características del esquizonte

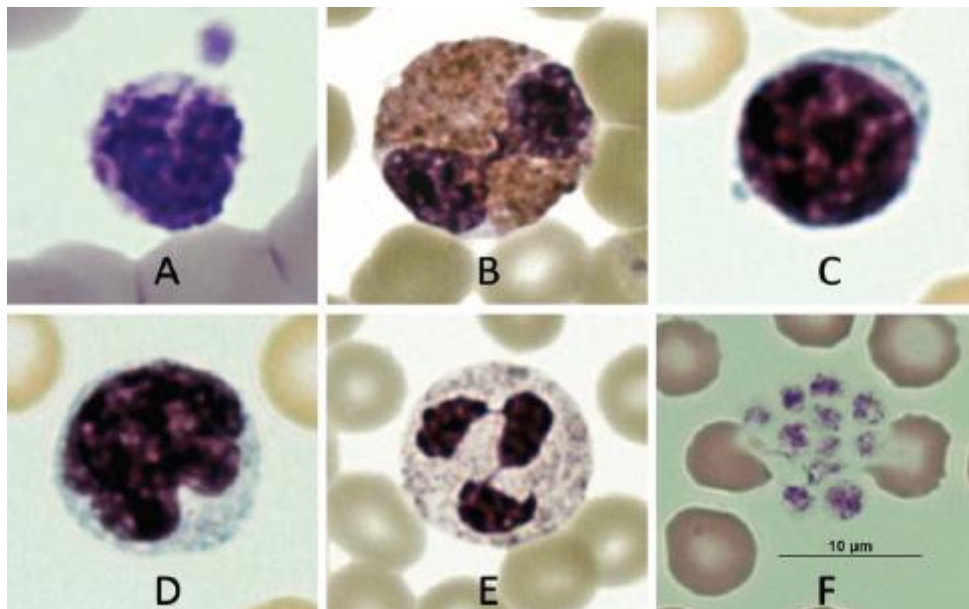
- tamaño y forma.
- número y disposición de los merozoítos.
- forma y distribución del pigmento palúdico.

d) Características de los gametocitos

- tamaño y forma.
- forma y distribución del pigmento palúdico.

Los caracteres morfológicos antes mencionados se aprecian bien cuando se utiliza, para teñir las extensiones sanguíneas, alguno de los colorantes de Romanowsky, como Giemsa, May-Grundwald o Leishman. Estos colorantes tiñen el parásito diferencialmente: de rojo la cromatina nuclear, de azul el citoplasma y pardo negrozco el pigmento palúdico.

Todo Tecnólogo medico en Laboratorio Clínico que intente diagnosticar el paludismo debe estar familiarizado con los diferentes elementos sanguíneos y sus alteraciones, a fin de evitar una desafortunada confusión.



Diferentes elementos sanguíneos (A) basófilo, (B) eosinófilo, (C) linfocito, (D) monocito, (E) neutrófilo y (F) plaquetas (flechas).

Plasmodium vivax

En un único frotis sanguíneo puede observarse todos los estadios del parásito, es decir, trofozoítos, esquizontes y gametocitos.

Características del plasmodio y del eritrocito parasitado

a) Célula hospedadora

Aspecto (dimensión y forma): más grande de lo normal (1½ a 2 veces); oval o redondo.

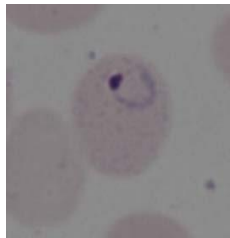
Granulaciones: puntos de Schüffner presentes generalmente en todos los eritrocitos parasitados, excepto en las primeras formas anulares.

Color del citoplasma: decolorado, pálido.

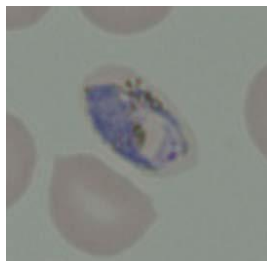
Infecciones múltiples: en ocasiones.

b) Trofozoíto

Joven: forma de anillo con un diámetro aproximado de 1/3 del diámetro del eritrocito. El citoplasma formando círculo alrededor de la vacuola. El núcleo aparece como un gránulo denso de cromatina.



Maduro: forma amebode irregular que ocupa casi todo el citoplasma del eritrocito. El citoplasma encierra una o dos vacuolas pequeñas. En el citoplasma se pueden apreciar finos gránulos de pigmento pardo.



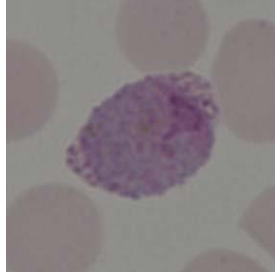
c) Esquizonte

Maduro: grande e irregular, ocupando casi todo el citoplasma del eritrocito. Con 16 (12 a 24) merozoítos, dispuestos irregularmente.

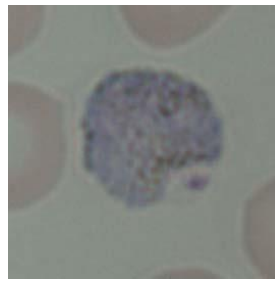


d) Gametocitos

Macrogametocito: grande, redondeado u oval. Núcleo compacto y excéntrico. Citoplasma homogéneo. Con pigmento fino de color pardo claro difundido por todo el citoplasma.



Microgametocito: grande, redondeado u oval. Núcleo con cromatina sin compactar central, que suele teñirse débilmente de rosa o púrpura. Citoplasma reducido a un halo pálido o incoloro. Pigmento uniformemente distribuido en pequeños gránulos.



Plasmodium malariae

Todos los estadios del parásito pueden estar presentes en un mismo frotis, pero las formas anulares jóvenes suelen ser escasas.

Características del plasmodio y del eritrocito parasitado

a) Célula hospedadora

Aspecto (dimensión y forma): no suele haber modificación de las dimensiones; a veces pueden verse eritrocitos parasitados ligeramente más pequeños.

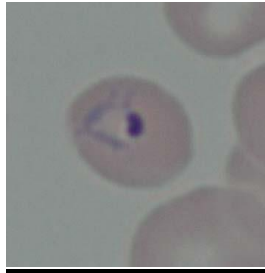
Granulaciones: ninguna. En preparaciones teñidas en exceso puede observarse un punteado muy fino de color rosa pálido (puntos de Ziemann).

Color del citoplasma: normal.

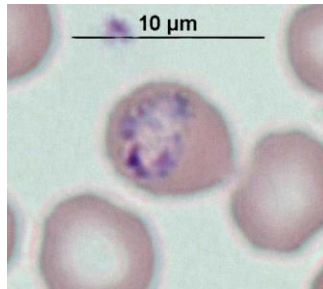
Infecciones múltiples: raramente.

b) Trofozoíto

Joven: los anillos son muy parecidos a los de *P. vivax*. Ocasionalmente pueden observarse formas en "ojo de pájaro" (un anillo de citoplasma rodea al núcleo situado centralmente). El pigmento palúdico aparece en las primeras formas como gránulos gruesos de color pardo negruzco.

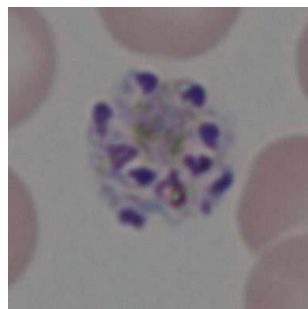


Maduro: citoplasma compacto, oval, redondo o en banda, ocupando gran parte de la célula hospedadora. Pigmento abundante en forma de gránulos pardo negruzcos voluminosos.



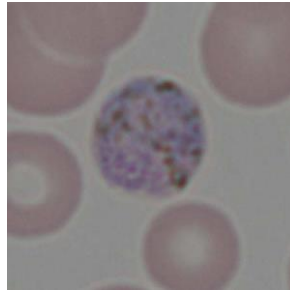
c) Esquizonte

Maduro: con 8 (6 a 12) merozoítos dispuestos, típicamente, en roseta y con el pigmento palúdico en posición central.

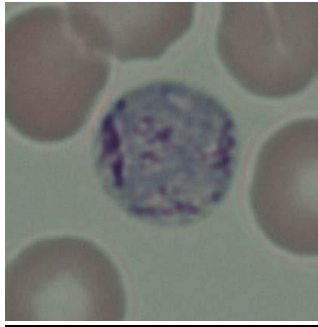


d) Gametocitos

Macrogametocito: redondeado. Núcleo excéntrico. Citoplasma homogéneo. Pigmento palúdico en granos finos difundido por todo el citoplasma.



Microgametocito: redondeado. Núcleo con cromatina sin compactar, teñido muy débilmente y difícil de discernir; ocupa gran parte del citoplasma. Pigmento palúdico distribuido uniformemente.



Plasmodium falciparum

En la sangre periférica normalmente sólo se observan trofozoítos y gametocitos. Los esquizontes no suelen detectarse (salvo que el paciente se encuentre en extrema gravedad) debido a que se adhieren a las paredes de los vasos internos (no se verán en la práctica).

Características del plasmodio y del eritrocito parasitado

a) Célula hospedadora

Aspecto (dimensión y forma): no hay modificación ni en dimensiones ni en tamaño.

Granulaciones: las células que contienen trofozoítos maduros pueden presentar gránulos de Maurer, elementos rojos en forma de coma.

Color del citoplasma: normal, pero a veces presenta un tinte azulado.

Infecciones múltiples: comúnmente.

b) Trofozoíto

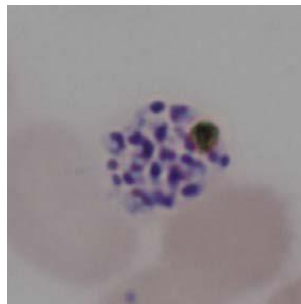
Joven: forma de anillo de pequeñas dimensiones. El citoplasma es escaso (delgado) y encierra una vacuola pequeña. El núcleo es pequeño. Son frecuentes las formas con dos núcleos. Puede haber varios anillos por eritrocito. A veces se observan anillos en el borde del eritrocito (formas aplicadas o accolè). El pigmento palúdico se observa en forma de gránulos finos repartidos por el citoplasma.



Maduro: no se suele observar en sangre periférica, salvo en infecciones graves, ya que el desarrollo de esta fase se realiza en los capilares de las vísceras.

c) Esquizonte

No se suele observar en sangre periférica, salvo en infecciones graves, ya que el desarrollo de esta fase se realiza en los capilares de las vísceras.

**d) Gametocitos**

Macrogametocito: forma característica de media luna o banana con los extremos puntiagudos o redondeados. El núcleo es compacto y ocupa el tercio medio del citoplasma. El pigmento se distribuye principalmente alrededor del núcleo, en forma de gránulos negros.



Microgametocito: forma de media luna, similar al macrogametocito, con el que a veces se confunde. El núcleo presenta cromatina difusa y suele ocupar las dos terceras partes del organismo. El pigmento palúdico se presenta como en los macrogametocitos.



Plasmodium ovale

Todos los estadios del parásito pueden estar presentes en un mismo frotis.

Características del plasmodio y del eritrocito parasitado

a) Célula hospedadora

Aspecto (dimensión y forma): hasta un 60% de los eritrocitos parasitados son ovales y tienen mayor diámetro de lo normal y algunos (20-30%) tienen los extremos irregulares y rasgados.

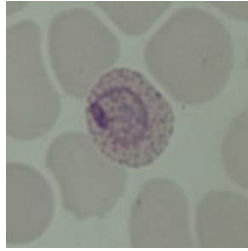
Granulaciones: granulaciones de Schüffner en todas las etapas, desde la aparición de los primeros anillos.

Color del citoplasma: decolorado, pálido.

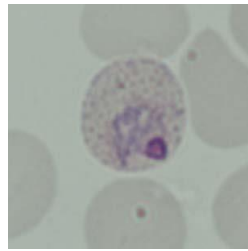
Infecciones múltiples: en ocasiones.

b) Trofozoíto

Joven: es muy parecido al de *P. vivax*, pero más grande y más ameboide. Pigmento formando pequeñas masas de color pardo oscuro (menos que en *P. vivax*).

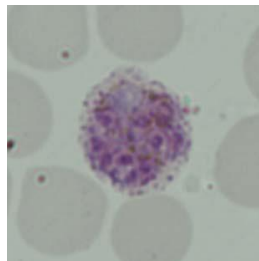


Maduro: generalmente compacto, sin vacuola. Pigmento como en el Trofozoíto joven.



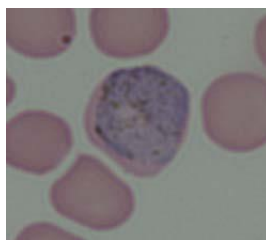
c) Esquizonte

Maduro: relativamente grandes, ocupando hasta 3/4 partes del citoplasma del eritrocito. Con 8 (8 a 12) merozoítos colocados en racimos irregulares. Pigmento concentrado en una masa.

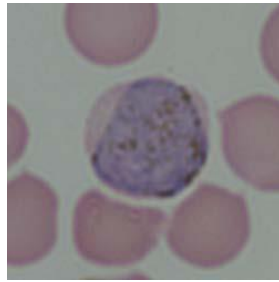


d) Gametocitos

Macrogametocito: similar al de *P. vivax* pero más pequeño.



Microgametocito: similar al de *P. vivax* pero más pequeño.



4. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Microscopio eléctrico binocular con objetivos de 40x y 100x.
- Guantes de Latex.
- Guardapolvo o Mandilones.
- Mascarilla.
- Lentes Protectores.
- Jabón líquido.
- Papel toalla.
- Colorante Giemsa
- Alcohol metílico
- Portaobjetos
- Batería para coloración Giemsa.
- Portaobjetos Nuevos
- Metanol
- Lancetas, mondadientes , bisturí
- Gasa

5. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

6. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

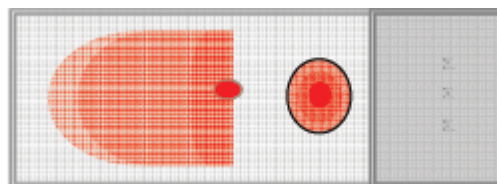
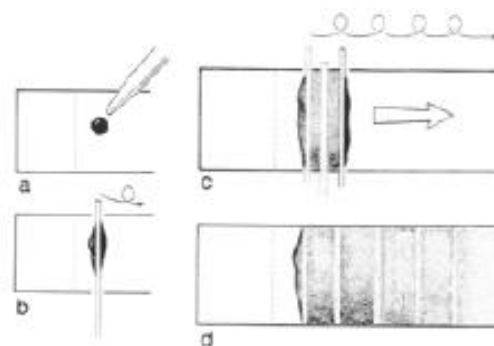
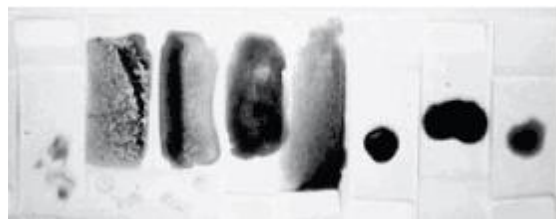
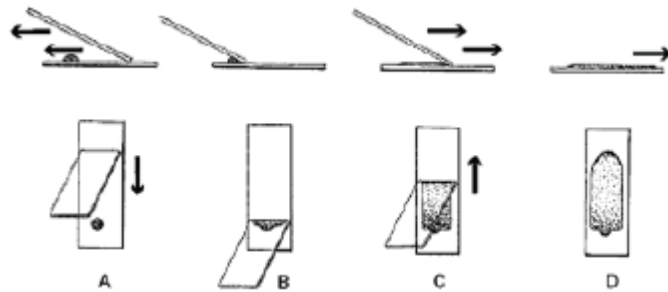
No aplica

7. MUESTRA Y MUESTREO

- Muestra: sangre periférica.
- Muestreo: punción venosa.

8. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

FROTIS – GOTA GRUESA



COLORACION GIEMSA

- a) Colocar las láminas sobre la varilla de coloración.
- b) Preparar el volumen necesario de solución Giemsa diluida, aproximadamente 2 mL por lámina.
 - En la probeta colocar 0,1 mL (2 gotas) de solución Giemsa stock por cada mL de solución amortiguadora.
 - Homogeneizar la solución colorante.
- c) Cubrir la muestra con la solución Giemsa diluida
- d) Dejar actuar el colorante durante 30 minutos.
- e) Lavar con agua corriente y dejar secar a temperatura ambiente.
- f) Examinar toda la preparación de manera sistemática, con objetivo de inmersión de 100x con el microscopio.

9. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del parásito, como también la parasitemia por microlitro de sangre y el porcentaje de eritrocitos parasitados.

Fórmula 1. Cálculo de la parasitemia por microlitro de sangre.

$$\text{Parásitos}/\mu\text{L} = \frac{\text{Número de leucocitos del paciente}/\mu\text{L}^*}{\text{Número de leucocitos contados}} \times \text{Número de parásitos en la gota gruesa}$$

* En caso de no contar con el recuento de leucocitos del paciente, se puede asumir una concentración promedio de 8.000 leucocitos/ μL .

Fórmula 2. Cálculo del porcentaje de eritrocitos parasitados.

$$\% \text{ Eritrocitos parasitados} = \frac{\text{Eritrocitos parasitados en 33 campos}}{100}$$

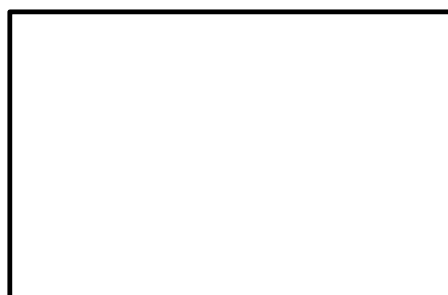
* En caso de no contar con el recuento de eritrocitos del paciente, se puede asumir una concentración promedio de 4×10^6 eritrocitos/ μL .

10. CONCLUSIONES.**11. CUESTIONARIO.**

- 1.
- 2.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- Warhurst C, Williams JE: Laboratory procedures for diagnosis of malaria, in Abdalla SH, Pasvol G (series eds): Malaria: A Hematological Perspective. G Pasvol, SL Hoffman (eds): Tropical Medicine: Science and Practice, vol 4. London, Imperial College Press, 2004
- Ministerio de Salud. Doctrina, normas y procedimientos para el control de la malaria en el Perú. Lima: MINSA; 1994.
- Najera JA, Liese BH, Hammer J. Malaria: new patterns and perspectives. Geneva: World Bank; 1992. Technical Paper Number 183. p.7



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología**Segunda unidad: hemoparásitos, histoparasitos y amebas de Vida libre****Práctica N° 8: REPASO IDENTIFICACION MICROSCOPICA DE PROTOZOARIOS INTESTINALES, HEMATICOS, TISULARES Y AMEBAS DE VIDA LIBRE**

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

1. TEMA: REPASO IDENTIFICACION MICROSCOPICA DE PROTOZOARIOS INTESTINALES Y DE CAVIDADES, HEMATICOS, TISULARES Y AMEBAS DE VIDA LIBRE

2. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Adquirir los conocimientos y destrezas necesarias para identificar las entidades parasitarias correspondientes a Protozoarios intestinales y de cavidad, hemáticos, tisulares y amebas de vida libre, haciendo uso de montajes y coloraciones permanentes.

3. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Entre los diversos miembros de protozoos intestinales, hemáticos, tisulares y de cavidades, así como también las amebas de vida libre, es de gran importancia el adquirir destrezas en el reconocimiento de los diferentes estadios infectantes como de diagnóstico, que nos permitirá una acertado informe laboratorio.

4. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Microscopio eléctrico binocular con objetivos de 40x y 100x.
- Guantes de Latex.
- Guardapolvo o Mandilones.
- Mascarilla.
- Lentes Protectores.
- Jabón líquido.
- Papel toalla.
- Portaobjetos

- Láminas fijadas con estadios parasitarios
- Láminas coloreadas permanentemente

5. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

6. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

7. MUESTRA Y MUESTREO

- Muestra:
 - * Heces.
 - * sangre periférica.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

PROCEDIMIENTO N°01

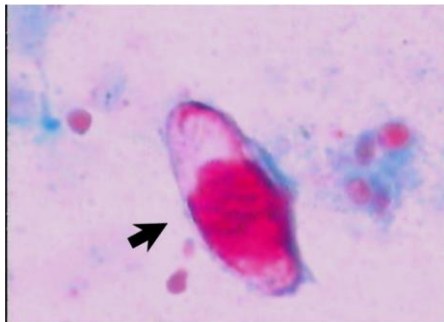
Muestra: Heces

- a) De las muestras recolectadas en recipiente, con un aplicador, se toma un pequeño fragmento aproximadamente 1 mm de diámetro.
- b) En un portaobjeto el cual contiene una gota de sol. Salina al 0.9%, se emulsiona perfectamente. Se coloca un cubre objeto, para su observación al microscopio.
- c) Examinar toda la preparación de manera sistemática, con objetivos de 10 X y 40X. , utilizando el microscopio.
- d) Se puede realizar una preparación con sol. Salina (para la observación de trofozoitos) y otra con lugol (para la observación de quistes).

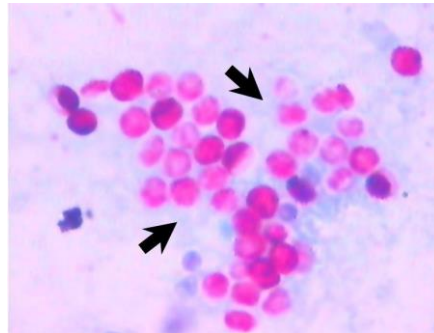
PROCEDIMIENTO N°02

Muestra: Heces

- a) Elaborar frotis finos de heces, dejar secar seguidamente fijar con metanol sumergiendo en koplín o cubriendo todo el frotis por espacio de 5 minutos.
- b) Sumergir en carbol-fucsina por 10 minutos.
- c) Lavar con agua de la caño.
- d) Decolorar con alcohol-ácido clorhídrico por 30 segundos.
- e) Lavar con agua de la caño.
- f) Dejar que se seque a la intemperie.
- g) Observar al microscopio con objetivos de 40x y/o 100x (de inmersión).



Ooquistes de *isospora belli*

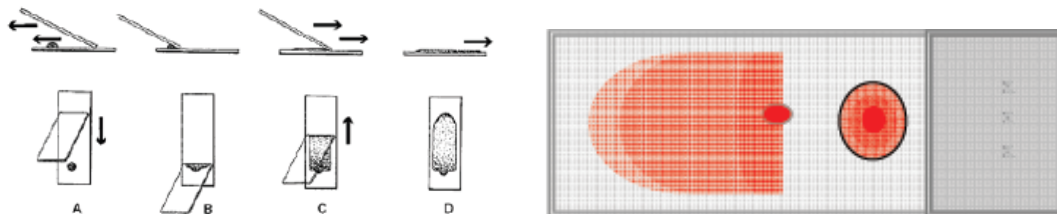


Ooquistes de *Cryptosporidium parvum*

PROCEDIMIENTO N°03

Muestra : Sangre periférica

FROTIS – GOTA GRUESA

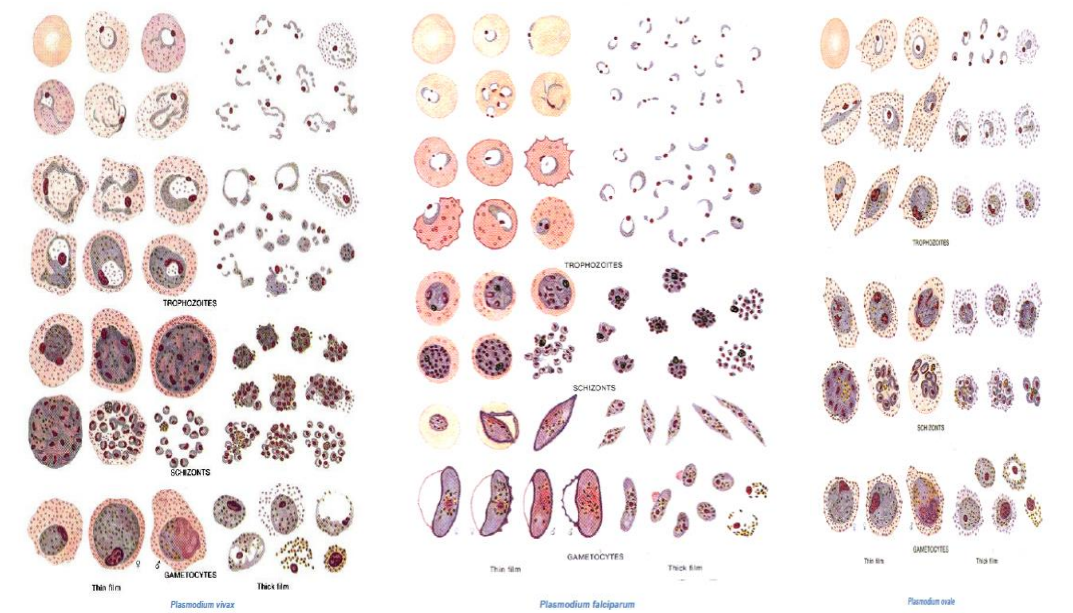


COLORACION GIEMSA

- a) Colocar las láminas sobre la varilla de coloración.
- b) Preparar el volumen necesario de solución Giemsa diluida 10%, aproximadamente 2 mL por lámina.
 - En la probeta colocar 0,1 mL (2 gotas) de solución Giemsa stock por cada mL de solución amortiguadora.
 - Homogeneizar la solución colorante.
- c) Cubrir la muestra con la solución Giemsa diluida
- d) Dejar actuar el colorante durante 30 minutos.
- e) Lavar con agua corriente y dejar secar a temperatura ambiente.



f) Examinar toda la preparación de manera sistemática, con objetivo de inmersión de 100x con el microscopio.



PROCEDIMIENTO N°04

Observación microscópica de láminas coloreadas sobre amebas de vida libre.

8. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del parásito,

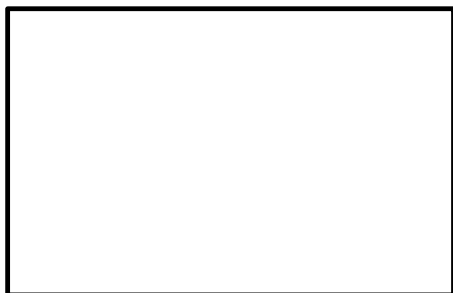
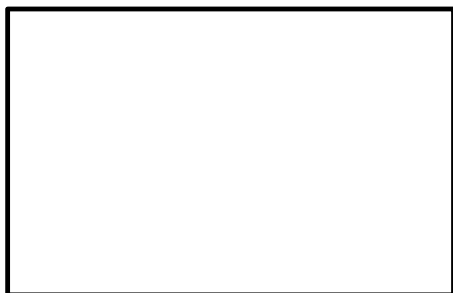
9. CONCLUSIONES.

10. CUESTIONARIO.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- ATTIAS A.. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial Mediterráneo. Colombia 2006. 2da. Edición.
- Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana, 17ª reimpresión, 2000, México D.F.
- Haro Arteaga I., Salazar Schettino P., Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.

- Ash, L. R. y Oriol, T. C. 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. ASCP Press, Chicago.
- Peters, W. y Gilles, H. M. 1989. A Colour Atlas of Tropical Medicine and Parasitology. Wolfe Medical Publications, London.



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Tercera unidad: nematodos, cestodos, métodos de Coproparasitoscópicos de concentración

Práctica N° 9: METODO DE DESARROLLO LARVARIO (HARADA- MORI)

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

1. **TEMA: METODO DE DESARROLLO LARVARIO (HARADA- MORI)**
2. **PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.**

Adquirir los conocimientos y destrezas necesarias para ejecutar métodos que permitan el desarrollo larvario de algunos nematodos.

3. **CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).**

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. **EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.**

- Tubos de ensayo de preferencia cónica, de 15 mL de capacidad, en su defecto, tubos de ensayo de 25 X 175 mm
- Tiras de papel filtro (Whatman #2 u otro similar) cortadas 2 mm menos anchas que el diámetro del tubo y 2 cm más largas, con un extremo más afinado.
- Agua destilada, en una pizeta
- Baja-lenguas, palos de paleta o aplicadores de madera.
- Gradilla o soporte para tubos
- Guantes
- Lente de aumento o lupa de mano (opcional)
- Pipetas Pasteur
- Bulbo de goma o perilla para pipetas
- Lápiz de grafito
- Cajas de Petri de 5 cm de diámetro
- Porta-objetos de 7.5 x 2.5 cm (3 X 1 pulgada)
- Cubre-objetos 22 X 22 No.1 ó No.2
- Frasco con desinfectante para descartar material- Microscopio.

- Guantes de Latex.
- Guardapolvo o Mandilones.
- Mascarilla.
- Lentes Protectores.
- Jabón líquido.
- Papel toalla.
- Portaobjetos
- Laminas fijadas con estadios parasitarios
- Laminas coloreadas permanentemente

5. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

6. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

7. MUESTRA

- Heces.

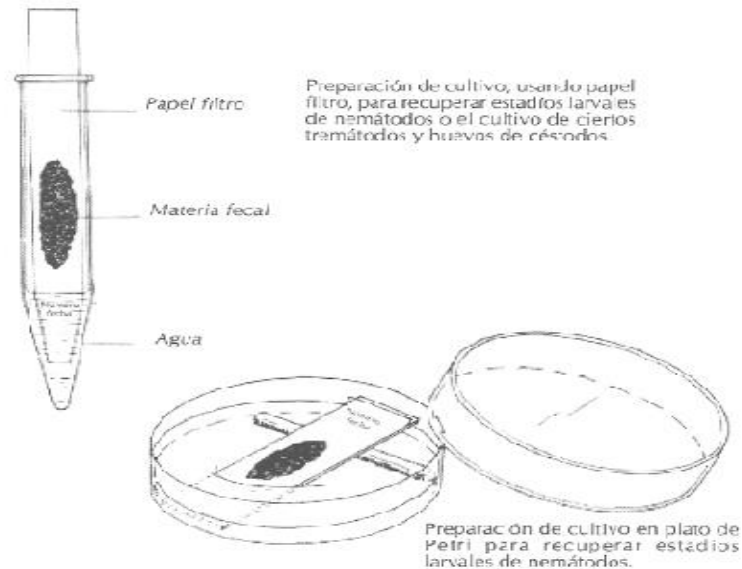
PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

- Con un lápiz de grafito, escribir la identificación de la muestra en el extremo más delgado de la tira de papel filtro.
- Con un aplicador o palo de paleta tomar y extender unos 0.5-1.0 g de heces sobre el tercio medio de la tira; descartar aplicador.
- Insertar esta tira con la parte escrita dentro del tubo de ensayo. Quedará una porción extendida fuera del tubo por la que pasarán elementos solubles de las heces.
- Con todo cuidado agregar agua destilada hasta que el nivel llegue por debajo del extendido de heces. Tener cuidado de no mojar las heces. (Aunque no es necesario tapar los tubos, en lugares muy calientes se prefiere hacerlo para evitar la evaporación rápida del agua).
- Colocar los tubos así preparados en una gradilla y mantener en lugar seguro a temperatura ambiente.
- **Revisar diariamente el nivel de agua. Reemplazar aquella perdida por evaporación, con mucho cuidado. Para verificar si hay larvas móviles en el sedimento:**
 - Colocarse los guantes.
 - Obtener una porción del sedimento con una pipeta Pasteur, colocarlo en la caja de Petri y observar al microscopio estereoscópico.
 - Para estudiar la morfología diferencial, deberá aspirar larvas con la pipeta y colocar las larvas entre porta y pubre, calentar suavemente o agregar solución de Lugol para inmovilizarlas; observar al microscopio óptico. Identificar por morfología.
 - Descartar material en frasco con desinfectante. Descartar guantes.

Variante PLACA PETRI

- Extender las heces sobre la tira de papel, la que se coloca sobre el porta-objetos u soporte.
- Colocar esta preparación en la caja de Petri soportada en un extremo por aplicadores o por una varilla de vidrio para lograr una inclinación.
- Agregar agua destilada a la caja de Petri asegurando que el agua ascienda por capilaridad en la tira de papel con heces.

- Tapar y dejar a temperatura ambiente por 2-3 días. Asegurar que la preparación no se seque.
- Al cabo de 2-3 días, colocarse los guantes:
 - Colocar la preparación en el microscopio estereoscópico y buscar larvas en el agua. Si no se observan, Con una pipeta Pasteur obtener una porción del agua de la caja y examinar entre porta y cubre en un microscopio óptico buscando larvas. O bien, verter el líquido en un tubo de ensayo, centrifugar y recobrar las larvas del sedimento. Identificarlas según características morfológicas específicas. Todo material se descarta en la solución desinfectante. Consultar con los diagramas provistos para identificar larvas.



8. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del parásito,

9. CONCLUSIONES.

- .
- .
- .
- .

10. CUESTIONARIO.

- .
- .
- .
- .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- ATTIAS A.. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial Mediterráneo. Colombia 2006. 2da. Edición.
- Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana, 17ª reimpresión, 2000, México D.F.
- Haro Arteaga I., Salazar Schettino P., Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.
- Ash, L. R. y Oriol, T. C. 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. ASCP Press, Chicago.
- Peters, W. y Gilles, H. M. 1989. A Colour Atlas of Tropical Medicine and Parasitology. Wolfe Medical Publications, London.
- Beaver PC, Malek E, and Little MD. Development of Spirometra and Paragonimus eggs in Haradamori cultures. Journal of Parasitology 1964, 50:664-666.



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Tercera unidad: nematodos, cestodos, métodos de Coproparasitoscópicos de concentración

Práctica N° 10: METODO DE KATO-KATZ (DENSIDAD PARASITARIA – HUEVOS DE HELMINTOS)

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

TEMA: METODO DE KATO-KATZ (DENSIDA PARASITARIA – HUEVOS DE HELMINTOS)

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Adquirir los conocimientos y destrezas necesarias para ejecutar métodos que permitan determinar la densidad parasitaria a través del recuento de huevos de helmintos.

2. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Se basa en la técnica de Kato y que permite cuantificar la presencia de huevos de helmintos. Se expresa en número de huevos por gramo de heces (hpg).

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Cuadrados de celofán que miden 22 X 30 mm. Sumergir durante 24 horas o más en la solución de glicerina.
- Espátulas plásticas de madera o palos de paletas o de helados.
- Templete de plástico del tamaño seleccionado, de 6 mm de diámetro x 1.5 mm de grosor.
- Cuadrados de 4 cm x lado de tela metálica o nylon de trama 210 o de nitrel de Papel absorbente.
- Papel de periódico
- Pinzas
- Frasco con desinfectante para descartar material
- Porta-objetos 7.2 x 2.5 cm (3 X 1 pulgada) ó 7.5 x 5 cm (3 X 2 pulgadas)
- Marcador
- Baja-lenguas o palo de paleta o de helados, que es más barato
- Contador manual.



Materiales indispensables para la realización del método de Kato-Katz .

4. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

6. MUESTRA

- Heces.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN DE GLICERINA Y AGUA:

- Glicerina pura 100 ml.
- Agua destilada 100 ml.
- Verde de malaquita al 3% 1 mL (Solución acuosa).

Mezclar bien en frasco de boca ancha con tapadera e introducir los cuadrados de celofán para sumergir en esta solución 24 horas o más antes de usar. (El verde de malaquita no es indispensable en caso que no se cuente con él).

MÉTODO KATO-KATZ CUANTITATIVO

- Con un aplicador (baja lengua) transferir la muestra fecal (0,5-1g) sobre el papel absorbente.
- Colocar una malla o nylon de 2 x 3 cm. sobre la muestra.
- Con el aplicador, comprimir la malla para tamizar la muestra.
- Colocar el molde de plástico sobre la lámina portaobjeto y rellenar la perforación con la muestra tamizada.
- Levantar el molde dejando el "cilindro" de la muestra en la lámina portaobjeto.
- Colocar la laminilla glicerina con verde de malaquita sobre la muestra, voltear o invertir el porta y presionar sobre la laminilla, buscando extender la muestra.
- Dejar para la diafanización a temperatura ambiente de 30 a 45 minutos.

Observación

Observar los huevos de helmintos, tal como se muestra en la siguiente figura.



Huevos Ancylostoma /Necator y Trichuris trichiura por el método de Kato Katz (400X)

7. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del parásito. El número de huevos encontrados en la lámina se multiplica por k ($k= 24$), el resultado es el número de huevos por gramo de heces (hpg) (Tabla N° 01).

Observación 1: Deben contarse todos los huevos del preparado.

Observación 2: Un templete de 9 mm X 1 mm entrega 50 mg de heces. El factor de multiplicación para determinar huevos por gramo será de 20. Un templete de 6 mm de diámetro X 1.5 mm de grosor entrega 41.7 mg de heces. El factor de multiplicación será de 24.

TABLA N° 01

Cálculo del número de huevos por gramo (hpg): Método de Kato – Katz

Nº huevos observados en lámina	Nº huevos por gramo de heces (hpg)	Nº huevos observados en lámina	Nº huevos por gramo de heces (hpg)
1	24	38	912
2	48	39	936
3	72	40	960
4	96	41	984
5	120	42	1008
6	144	43	1032
7	168	44	1056
8	192	45	1080
9	216	46	1104
10	240	47	1128
11	264	48	1152
12	288	49	1176
13	312	50	1200
14	336	51	1224
15	360	52	1248
16	384	53	1272
17	408	54	1296
18	432	55	1320
19	456	56	1344
20	480	57	1368
21	504	58	1392
22	528	59	1416
23	552	60	1440
24	576	61	1464
25	600	62	1488
26	624	63	1512
27	648	64	1536
28	672	65	1560
29	696	66	1584
30	720	67	1608
31	744	68	1632
32	768	69	1656
33	792	70	1680
34	816	71	1704
35	840	72	1728
36	864	73	1752
37	888	74	1776

Observación 3: Intensidad de la infección (hpg). El Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica la intensidad de la infección por helmintos según los rangos indicados en la Tabla N° 02.

TABLA N° 02
Intensidad de la infección: Método de Kato – Katz

AGENTES	LEVE	MODERADA	SEVERA
<i>A. lumbricoides</i>	1 - 4,999	5,000 - 4999	> 50,000
<i>T. trichiura</i>	1 - 999	1,000 - 9,999	> 10,000
<i>A. duodenale</i> <i>N. americanus</i>	1 - 1,999	2,000 - 3,999	> 4,000

8. CONCLUSIONES.

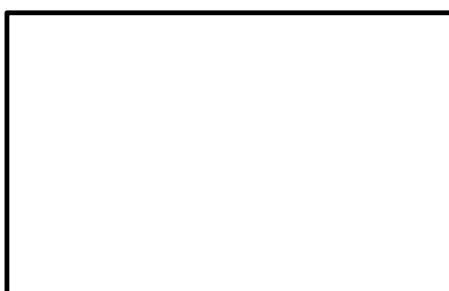
- .
- .
- .
- .

9. CUESTIONARIO.

- .
- .
- .
- .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- ATTIAS A.. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial Mediterráneo. Colombia 2006. 2da. Edición.
- Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana, 17^a reimpresión, 2000, México D.F.
- Haro Arteaga I., Salazar Schettino P., Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.
- Ash, L. R. y Oriol, T. C. 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. ASCP Press, Chicago.
- Peters, W. y Gilles, H. M. 1989. A Colour Atlas of Tropical Medicine and Parasitology. Wolfe Medical Publications, London.
- Martin LK, Beaver PC. Evaluation of Kato thick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1978, 17: 382-391



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Tercera unidad: nematodos, cestodos, métodos de Coproparasitoscópicos de concentración

Práctica N° 11: MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN RÁPIDA (TSR, MSR - CONCENTRACIÓN POR SEDIMENTACIÓN SIN CENTRIFUGACIÓN)

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

TEMA: MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN RÁPIDA (TSR, MSR - CONCENTRACIÓN POR SEDIMENTACIÓN SIN CENTRIFUGACIÓN).

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Observar a través de montajes la presencia de Huevos de Cestodos luego de ejecutar el Método de sedimentación rápida.

2. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Se basa en la gravedad de los huevos que, por su tamaño y peso sedimentan rápidamente cuando se suspenden en agua.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA

- Copa o vaso de vidrio o plástico, cónico de 150 a 200 mL.
- Coladera de malla metálica o plástico.
- Placas Petri o lunas de reloj.
- Aplicador de madera (1/3 de baja lengua).
- Pipeta Pasteur.
- Gasa.
- Agua corriente filtrada.
- Microscopio.

4. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

NO APLICA.

6. MUESTRA Y MUESTREO

- Muestra: Heces.

7. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

- Homogeneizar 3 a 6 g de heces con unos 10 a 20 mL de agua filtrada
- Colocar la coladera y dos capas de gasa en la abertura del vaso y a través de ella, filtrar la muestra.
- Retirar la coladera y llenar la copa con agua filtrada hasta 1 cm. debajo del borde, esto es 15 a 20 veces el volumen de la muestra.
- Dejar sedimentar la muestra durante 30 minutos.
- Decantar las 2/3 partes del contenido del vaso y agregar nuevamente agua.
- Repetir los pasos anteriores cada 5 a 10 minutos por 3 a 4 veces, hasta que el sobrenadante quede limpio.
- Transferir el sedimento a una placa petri o luna de reloj, por incorporación o con ayuda de una pipeta Pasteur.
- Observar al estereoscopio o microscopio, a menor aumento.



! Materiales para la aplicación del método de sedimentación rápida: vasos, gasa, pipeta de transferencia, desinfectada, etc.

8. RESULTADOS O PRODUCTOS.

RESULTADO POSITIVO

Los resultados indicarán el(los) método(s) empleado(s), el género o la especie del parásito observado y su estadio evolutivo.

RESULTADO NEGATIVO

Informar que no se observaron huevos de parásitos.

9. CONCLUSIONES.

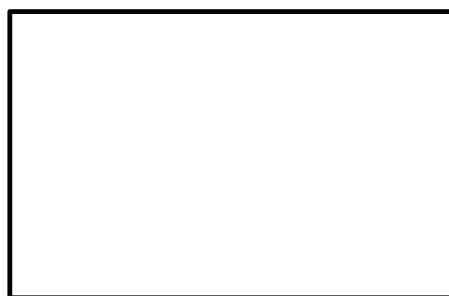
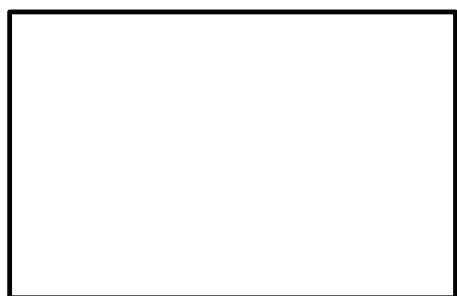
- .
- .
- .
- .

10. CUESTIONARIO.

- .
- .
- .
- .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- BOTERO DAVID. Parasitosis Humana. 5ta. Ed. Colombia: editorial CIB, 2012. CÓDIGO DE BÚSQUEDA: 00009513- 616.96/B76/2012.
- PRATS, Guillem. Microbiología y parasitología médicas. 1° ed. Madrid: Médica Panamericana, 2012. CÓDIGO DE BÚSQUEDA: 000010256 - 616.01 / P84 .
- GEO. F. BROOKS [et.al]. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. 26° ed. México, D.F.: McGraw-Hill, 2014. CÓDIGO DE BÚSQUEDA:000009604 - 616.9041 B84.
- ASH, L. R. Y ORIEL, T. C. (1987). Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification., Chicago. ASCP Press
- ATTIAS A.. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial Mediterráneo. Colombia 2006. 2da. Edición.
- BIAGI F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana, 17ª reimpresión, 2000, México D.F.
- HARO ARTEAGA, I., Salazar Schettino P.,Cabrera Bravo M., Diagnostico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Tercera unidad: nematodos, cestodos, métodos de Coproparasitoscópicos de concentración

Práctica N° 12: TECNICA DE CUENTA DE HUEVOS EN HECES LA TECNICA DE STOLL.

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha :/..../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

TEMA: TECNICA DE CUENTA DE HUEVOS EN HECES LA TECNICA STOLL

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Adquirir los conocimientos y destrezas necesarias en la aplicación del método cuantitativo sobre la presencia de huevecillos.

2. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Esta técnica fue ideada y desarrollada por Stoll en 1923, debido a sus características de accesibilidad en costo y material a utilizar es uno de los más empleados de manera exitosa en encuestas epidemiológicas.

Este método forma parte de los exámenes considerados cuantitativos, por lo que es necesario tener el antecedente de que la muestra se encuentra positiva, para su posterior cuantificación.

Los métodos coproparasitoscópicos se dividen en:

- Cualitativos: Son aquellos que solo nos informan si hay o no formas parasitarias en el producto estudiado.

- Cuantitativos: Nos dan a conocer numéricamente cuantas formas parasitarias están presentes, las cuales se reportan por gramo o mililitro de heces, según la técnica que se utilice.

La técnica es de utilidad para hacer una evaluación de la intensidad de ciertas helmintiasis, se debe recordar que los helmintos son metazoarios y dentro de esta clasificación se encuentran los nematelmintos gusanos redondos tales como: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, uncinarias (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*) y *Strongyloides stercoralis*. Además también se pueden cuantificar platelmintos (gusanos planos) como: *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta* y otras teniasis.

El fundamento de este método es básicamente aritmético, los cálculos se basan en las diluciones empleadas. Debido a que la cantidad de muestra es muy pequeña en comparación con el volumen de hidróxido de sodio, las helmintiasis moderadas son más difíciles de evaluar. Por el hecho de no utilizar tinción temporal y debida a que los huevos se aclaran con el hidróxido es una técnica específica para la cuantificación de helmintiasis.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Tubo cónico.
- Aplicadores.
- Cuentas o perlas de vidrio.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Microscopio.
- REACTIVOS: Hidróxido de sodio.

4. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

6. MUESTRA

- Heces.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

- Llenar el tubo cónico con hidróxido de sodio 0.1N hasta la marca 5.6 ml.



-Con un aplicador agregar heces hasta llegar a la marca 6ml del tubo cónico.

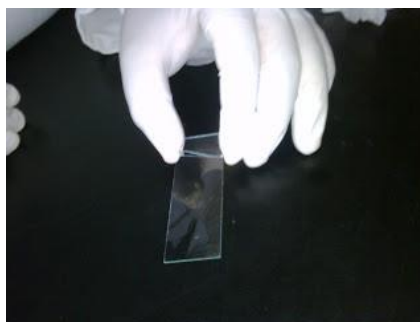
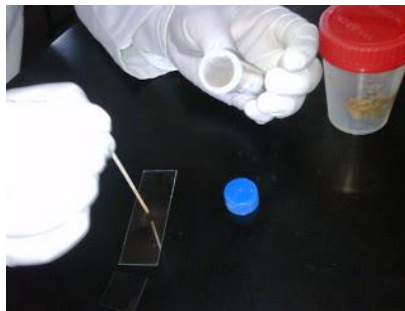


-Se añaden 5 cuentas de vidrio se tapa y se agita por 1 minuto hasta que se produzca una solución homogénea de heces.



- Dejar en reposo por 15 minutos, los restos fecales y huevos comienzan a irse al fondo.

-Tomar la pipeta serológica e introducirla a la parte media de la suspensión. Tomar 0.075 ml (75 ul) y colocarlos entre porta y cubre objeto.



-Se observa en el microscopio con objetivos de 10x, 40x.

Se observarán absolutamente todos los campos de la preparación y se contarán los huevos encontrados.

7. RESULTADOS O PRODUCTOS.

El número de huevos o larvas contados en toda la preparación se multiplican por los siguientes factores, según se haya tomado 0.075 ó 0.15 ml de la suspensión y también en consideración con la consistencia de la muestra:

HECES	MUESTRA	FACTOR
Duras	0.075	200
Pastosas	0.075	400
Líquidas	0.075	800
Duras	0.150	100
Pastosas	0.150	200
Líquidas	0.150	400

El resultado se expresa en huevos o larvas por mililitro de heces (ml ó lmlh).

Por ejemplo si la materia fecal es pastosa y se encontraron 4 huevos de uncinarias en toda la preparación en cuyo montaje para la visualización de estadios parasitarios se tomó 0.15ml:

$$4 \times 200 = 800$$

Se reportará: 800 hmlh de uncinarias.

8. CONCLUSIONES.

- .
- .
- .
- .

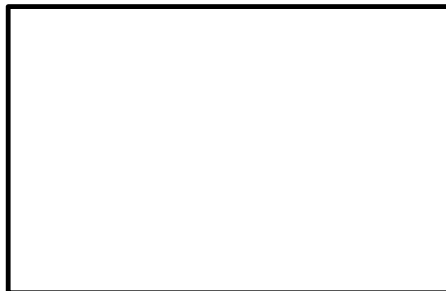
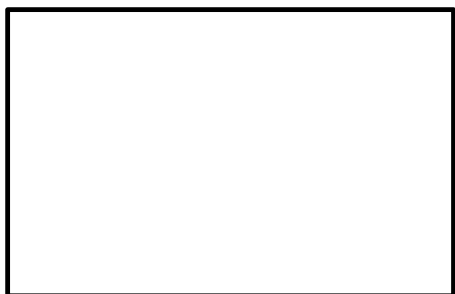
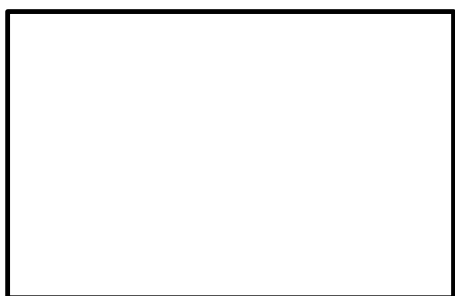
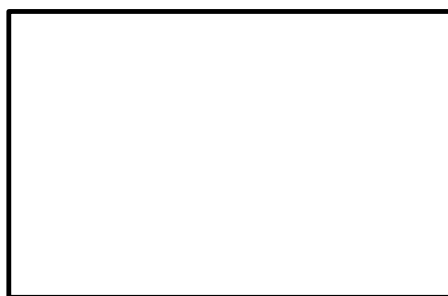
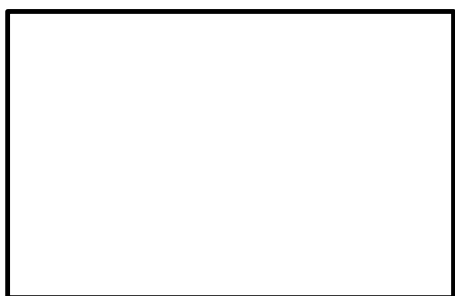
9. CUESTIONARIO.

- .
- .
- .
- .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

Gestión Curricular

- Ash, L. R. y Oriol, T. C. 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. ASCP Press, Chicago.
- Haro Arteaga I., Salazar Schettino P., Cabrera Bravo M., Diagnóstico morfológico de las parasitosis. Méndez editores. 1995. México D. F.
- De Haro Irene, Salazar Paz María, Diagnóstico Morfológico de las Parasitosis, Edit. Méndez Editores México D.F.1999.
- Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana, 17ª reimpresión, 2000, México D.F.
- ATTIAS A.. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial Mediterráneo. Colombia 2006. 2da. Edición.
- Jiménez Cardoso Enequina, Control de calidad en Parasitología, 1ra edición, editorial Prado, 2006.



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Tercera unidad: trematodos, artrópodos y métodos Complementarios de identificación

Práctica N° 13: METODO DE FORMOL –ETER (MÉTODO DE CONCENTRACIÓN POR SEDIMENTACIÓN DE RITCHIE)

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

TEMA: METODO DE FORMOL-ETER.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Aumentar la sensibilidad del estudio parasitológico dado que, con frecuencia, las muestras fecales contienen escaso número de quistes o huevos de parásitos.

Existen diferentes métodos para concentrar las heces. Uno de los más utilizados es el de formalina – éter o formalina - acetato de etilo. Éste es un método que permite separar las heces en dos partes que no se mezclan, en una se localizarán restos fecales y en otra (sedimento) los elementos parasitarios.

2. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Existen diferentes métodos para concentrar las heces. Uno de los más utilizados es el de formalina – éter o formalina - acetato de etilo. Éste es un método que permite separar las heces en dos partes que no se mezclan, en una se localizarán restos fecales y en otra (sedimento) los elementos parasitarios.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Varillas o palillos de madera.
- Tubos de boca ancha.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Etiquetas, rotulador o material que permita etiquetar/identificar las muestras.
- Pipeta Pasteur.

- Formalina al 10%.
- Acetato de etilo o Eter o Gasolina.
- Tubos de centrifuga de 10 ó 15 ml.
- Centrifuga.
- Filtro o colador de café (diámetro poro de 425 μ).

4. NOTAS DE SEGURIDAD.

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

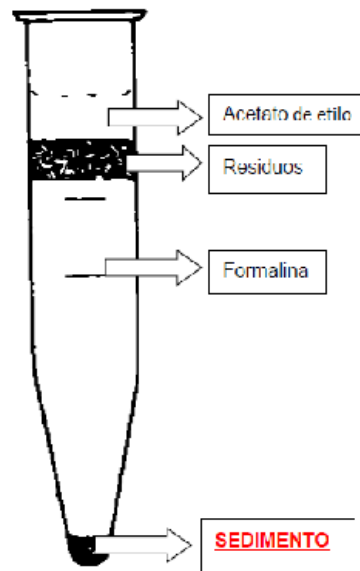
6. MUESTRA

- Heces

7. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

- Identificar los tubos y portaobjetos con el n° de identificación de cada una de las muestras que se vaya a examinar.
- En un tubo de boca ancha mezclar 7 ml de formalina al 10% o bien SAF (sodium acetato formalina) con 1 gr de heces aproximadamente (el tamaño de una avellana), ayudándose de varillas de madera, hasta conseguir una suspensión turbia. Tirar las varillas en el recipiente o contenedor acondicionado para desechar el material infeccioso.
- Dejar reposar 15 minutos la muestra.
- Colar la muestra utilizando un colador de café (diámetro de poro 425 μ) y verter el filtrado en un tubo limpio. Lavar cuidadosamente el colador para evitar contaminación cruzada entre las muestras.
- Añadir 3 ml de acetato de etilo (o en su defecto éter) y mezclar bien durante 15 segundos.
- Transferir a un tubo cónico de centrifuga y centrifugar durante 3 minutos a 3000 rpm. Si el equipo no alcanza esta velocidad, se harán 2 centrifugaciones consecutivas a 1500 rpm de 2 minutos cada una. Recuerde que la centrifuga debe estar equilibrada (tubos enfrentados con la misma cantidad).

- Una vez concluida la centrifugación deben observarse 4 capas en el tubo (acetato de etilo – tapón de residuos – formalina – sedimento) tal y como muestra la imagen.



Cuatro capas tras la última centrifugación:

- Despegar cuidadosamente el tapón de residuos para evitar que caiga en el sedimento y verter el contenido líquido del tubo (acetato de etilo y formalina) en un contenedor para residuos evitando que caiga el sedimento. En el sedimento se encontrarán las formas parasitarias a estudiar.
- Mezclar bien el sedimento con ayuda de una pipeta y transferir una gota a un portaobjetos limpio.
- Colocar sobre la preparación un cubreobjetos.
- Examinar al microscopio con objetivos 10x y 40x.
- De forma adicional, para una mejor visualización se puede añadir al portaobjetos, antes de la colocación del cubreobjetos una gota de lugol al 20% (diluido 1/5 en suero salino).
- Una vez terminado el estudio, introducir el material utilizado (tubos, portaobjetos....) en el recipiente acondicionado para desechar el material infeccioso.



8. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del parásito.

9. CONCLUSIONES.

- .
- .
- .
- .

10. CUESTIONARIO.

- .
- .
- .
- .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- Ash, L. R. y Oriol, T. C. 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. ASCP Press, Chicago.
- Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana, 17ª reimpresión, 2000, México D.F.
- ATTIAS A.. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial Mediterráneo. Colombia 2006. 2da. Edición.
- Jiménez Cardoso Enedina, Control de calidad en Parasitología, 1ra edición, editorial Prado, 2006.



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Cuarta unidad: trematodos, artrópodos y métodos Complementarios de identificación

Práctica N° 14: VISUALIZACION DE ARTROPODOS DE IMPORTANCIA MEDICA

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

TEMA: VISUALIZACION DE ARTROPODOS DE IMPORTANCIA MÉDICA

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Observar las diferencias morfológicas de los artrópodos más comunes de importancia médica, para aprender a identificarlos.

2. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Los animales de este phylum son segmentados, con simetría bilateral, el cuerpo incluido en una cubierta quitinosa rígida o exoesqueleto y llevan apéndices pares, articulados. El aparato digestivo está bien desarrollado. Los sexos están separados.

Los de interés médico pueden dividirse en dos grupos: aquellos que son auténticos parásitos, y los que por diferentes medios afectan la salud o al bienestar.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Laminas con montajes permanentes de artrópodos
- Microscopio compuesto
- Estereoscopio.
- Lupa.

4. NOTAS DE SEGURIDAD.

Guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas.

5. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

6. MUESTRA

- NO APLICA

7. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

Realice observaciones macroscópicas (a simple vista) de artrópodos montados en preparaciones permanentes. A continuación véalos con el microscopio estereoscópico. Los más pequeños puede observarlos bajo el microscopio compuesto. Haga dibujos detallados anotando el nombre científico correspondiente de cada ejemplar, acompañado del nombre popular. Compare y discuta las similitudes y diferencias.

8. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del parásito artrópodo.

9. CONCLUSIONES.

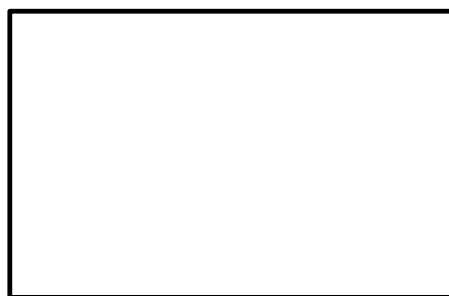
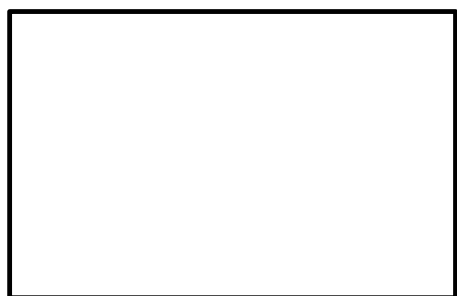
- .
- .
- .
- .

10. CUESTIONARIO.

- .
- .
- .
- .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- Ash, L. R. y Oriol, T. C. 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. ASCP Press, Chicago.
- Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana, 17^a reimpresión, 2000, México D.F.
- ATTIAS A.. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial Mediterráneo. Colombia 2006. 2da. Edición.



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Cuarta unidad: trematodos, artrópodos y métodos Complementarios de identificación

• Práctica N° 15: Repaso de identificación morfológica de Parásitos (unidad I y II)

Sección :	Apellidos :
Docente : Carlos Velasquez Hinostrza.	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

TEMA: REPASO IDENTIFICACION MORFOLOGICA DE PARASITOS (UNIDAD I y II)

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Observar la morfología de cada uno de los estadios parasitarios de agentes pertenecientes a protozoarios, hemoparásitos, histoparasitos y amebas de vida libre.

2. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Establecer las características morfológicas de los agentes parasitarios es de vital importancia ya que nos permitirá establecer desde su clasificación hasta el diagnóstico propiamente dicho.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Láminas con montajes momentáneos y/o permanentes de entidades parásitas.
- Microscopio compuesto

4. NOTAS DE SEGURIDAD.

Guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas.

5. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

6. MUESTRA

- NO APLICA

7. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

Realice observaciones con ayuda del microscopio compuesto de entidades parasitarias montado en preparaciones permanentes y no permanentes. Haga dibujos detallados anotando el nombre científico correspondiente de cada ejemplar, acompañado del nombre popular. Compare y discuta las similitudes y diferencias.

8. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del parásito.

9. CONCLUSIONES.

- .
- .
- .
- .

10. CUESTIONARIO.

- .
- .
- .
- .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- Ash, L. R. y Oriol, T. C. 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. ASCP Press, Chicago.
- Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana, 17ª reimpresión, 2000, México D.F.
- ATTIAS A.. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial Mediterráneo. Colombia 2006. 2da. Edición.



Guía de práctica de laboratorio de: Parasitología

Cuarta unidad: trematodos, artrópodos y métodos Complementarios de identificación

• Práctica N° 16: Repaso de identificación morfológica de Parásitos (unidad III y IV)

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : .../.../..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Siga las indicaciones del docente de asignatura, ceñirse a los protocolos de bioseguridad, en el caso que ocurra algún incidente, comunicar inmediatamente al docente responsable.

TEMA: REPASO IDENTIFICACION MORFOLOGICA DE PARASITOS (UNIDAD III y IV)

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Observar la morfología de cada uno de los estadios parasitarios de agentes pertenecientes a nematodos, cestodos, trematodos, artrópodos.

2. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

Establecer las características morfológicas de los agentes parasitarios es de vital importancia ya que nos permitirá establecer desde su clasificación hasta el diagnóstico propiamente dicho.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Láminas con montajes momentáneos y/o permanentes de entidades parásitas.
- Microscopio compuesto

4. NOTAS DE SEGURIDAD.

Guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad de cada laboratorio y seguir las buenas prácticas.

5. HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).

No aplica

6. MUESTRA

- NO APLICA

7. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

Realice observaciones con ayuda del microscopio compuesto de entidades parasitarias montado en preparaciones permanentes y no permanentes. Haga dibujos detallados anotando el nombre científico correspondiente de cada ejemplar, acompañado del nombre popular. Compare y discuta las similitudes y diferencias.

8. RESULTADOS O PRODUCTOS.

Se emitirá la hoja de reporte correspondiente, señalando; fase, género y especie del parásito.

9. CONCLUSIONES.

- .
- .
- .
- .

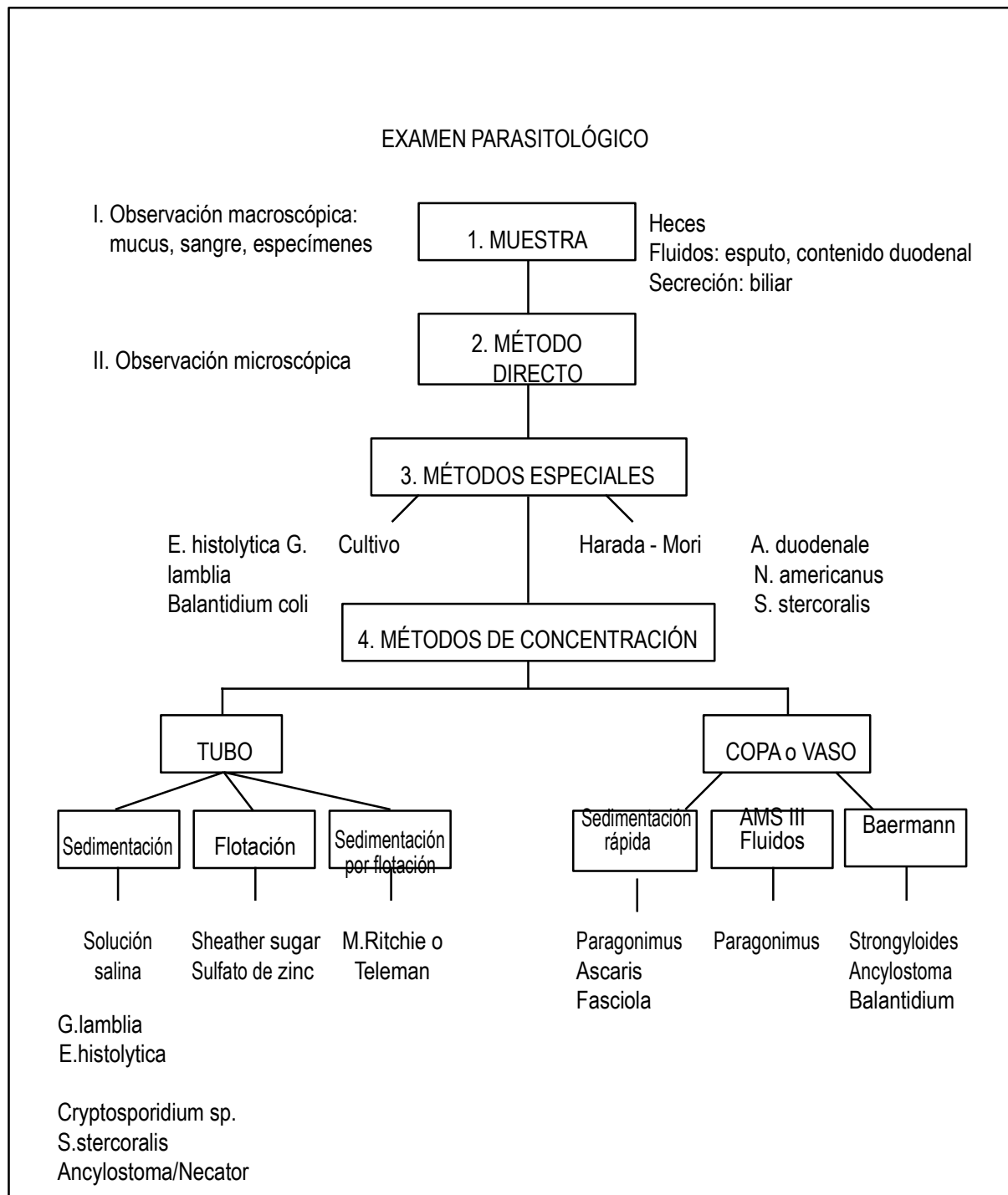
10. CUESTIONARIO.

- .
- .
- .
- .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

- Ash, L. R. y Oriol, T. C. 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. ASCP Press, Chicago.
- Biagi F., Enfermedades parasitarias, Editorial la Prensa Medica Mexicana, 17ª reimpresión, 2000, México D.F.
- ATTIAS A.. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial Mediterráneo. Colombia 2006. 2da. Edición.







MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA
LABORATORIO DE ENTEROPARASITOS

INFORME DE RESULTADO

Dr. (a):

ESTABLECIMIENTO:

REFERENCIA:

LIMA

LIMA

LIMA

Fecha recepción INS:

Medico solíc:

Fecha de emisión:

Fecha recepción Lab:

DIVISIÓN DE PARASITOLOGIA

N° de Muestra	Tipo de Muestra	Paciente	Prueba realizada	Resultado

t= trofozoito

q= quiste

PERSONAL RESPONSABLE

JEFE DE DIVISION

JEFE DE LABORATORIO