MINISTERIO DE SALUD

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL
DIRECCIÓN DE REGULACIÓN
DIRECCIÓN DE VIGILANCIA DE LA SALUD
LABORATORIO CENTRAL
"DR. MAX BLOCH"

# Manual de Procedimientos Técnicos de Laboratorio Clínico del Primer Nivel de Atención

EL SALVADOR, C.A.
PRIMERA EDICIÓN, AGOSTO 2007

EL SALVADOR
un gobierno con sentido humano

## AUTORIDADES DEL MINISTERIO DE SALUD

**DR. JOSÉ GUILLERMO MAZA BRIZUELA**
MINISTRO DE SALUD

**DR. JOSÉ ERNESTO NAVARRO MARÍN**
VICEMINISTRO DE SALUD

**DR. HUMBERTO ALCIDES URBINA**
DIRECTOR GENERAL DE SALUD

**DR. JOSÉ ROBERTO RIVAS AMAYA**
DIRECTOR DE REGULACIÓN

**DR. MARIO VICENTE SERPAS MONTOYA**
DIRECTOR DE VIGILANCIA DE LA SALUD

**DRA. ENA GARCÍA**
DIRECTORA DE PLANIFICACIÓN.

**LIC. JUDITH ZARATE DE LÓPEZ**
DIRECTORA ADMINISTRATIVA

**LIC. MARÍA GUADALUPE DE GUZMÁN**
JEFE LABORATORIO CENTRAL “DR. MAX BLOCH”

| CRÉDITOS | |
|---|---|
| Lic. María Guadalupe de Guzmán | Jefe Laboratorio Central “Dr. Max Bloch” |
| Lic. Patricia Lissette Mira Gómez | Sub-Jefe, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch” |
| Lic. Ana Vilma Guevara de Aguilar | Jefe Área Clínica, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |
| Lic. Blanca Sonia Velásquez de Pérez | Coordinadora de Gestión de la Calidad, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |
| Lic. Ana Telma Méndez de Pineda | Coordinadora Área Inmunohematología, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch” |
| Lic. Ana Vilma de Vásquez | Coordinadora de Proyectos, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |
| Lic. Amada Gloria de Baires | Jefe Sección de Coprología y Urianálisis, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |
| Lic. Zandra Jiménez de Fuentes | Jefe Sección de Bacteriología, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |
| Lic. Ana Patricia Amaya | Jefe Sección de Química Cínica, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |
| Lic. Marmin Ruth Carrillo de Sosa | Jefe Sección Malaria y Serología e Inmunología, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |
| Lic. Jéssica Carolina de Rivera | Profesional de Laboratorio Clínico, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |
| Lic. Lisette Esmeralda Ruiz | Supervisora de Laboratorios de la Región Central de Salud. |
| Lic. Ana María de Mendoza | Supervisora de Laboratorios de la Región Metropolitana de Salud. |
| Lic. Jorge Julio Méndez León | Supervisor de Laboratorios de la Región Occidental de Salud. |
| Lic. Herminia Vásquez de López | Supervisora de Laboratorios de la Región Paracentral de Salud. |

| | |
|---|---|
| Lic. Lorena Angélica Villacorta | Supervisora de Laboratorios de la Región Oriental de Salud. |
| Lic. María Victoria Martínez | Jefe de Laboratorio de la Unidad de Salud Díaz del Pinal, Región Central de Salud. |
| Lic. Mercedes Arely Ramos | Jefe de Laboratorio de la Unidad de Salud Lourdes Colón, Región Central de Salud. |
| Tec. Ana María Chachagua | Jefe de Laboratorio de la Unidad de Salud El Refugio, Región Occidental de Salud. |
| Lic. Elia Luz Estrada | Jefe de Laboratorio de la Unidad de Salud Cara Sucia, Región Occidental de Salud. |
| Profesionales de Laboratorio Clínico y Laboratoristas | Unidades de Salud del primer nivel de atención. |
| COORDINACIÓN | |
| Lic. Blanca Sonia Velásquez de Pérez | Coordinadora de Gestión de la Calidad, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |
| ASESORÍA TÉCNICA | |
| Dra. Carla María Schönenberg | Colaborador Técnico, Dirección de Regulación del MSPAS. |
| DIAGRAMACIÓN Y DISEÑO | |
| Julio Adalberto Castillo | Coordinador Centro de Cómputo, Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. |

| Red de Laboratorios Clínicos de Región Occidental: | |
|---|---|
| **SIBASI Santa Ana** | |
| Téc. Marta Isabel Morán | U/S Candelaria Frontera |
| Lic. José Elías Morales | U/S Casa del Niño |
| Lic. Ena Elizabeth Alfaro de Ochoa | U/S Coatepeque |
| Téc.Luis Alberto Hernández | U/S El Congo |
| Téc .Luisa Beatriz Castro Santamaría | U/S El Palmar |
| Téc. Oscar Oswaldo Aviles | U/S Santa Bárbara |
| Lic. Alma Carpio de Rivas | U./S. San Rafael |
| Lic .Emma Victoria Campos | U/S Tomás Pineda |
| Lic. Erika Barrera de Sigüenza | U.S Texistepeque |
| **SIBASI Ahuachapán** | |
| Lic. Regina Elizabeth Callejas | U/S Ahuachapán |
| Téc. Carmen Isabel de Portillo | U/S Apaneca |
| Téc. Juan Carlos Linares Ibarra | U/S Ataco |
| Lic. Claudia M. Lipe Vizcarra | U/S Atiquizaya |
| Lic. Elia Luz Estrada Chamul | U/S Cara Sucia |
| Téc .Ana Maria Chachagua | U/S El Refugio |
| Lic. José Roberto Salazar | U/S Guaymango |
| Lic .Sandra Elizabeth Gutiérrez | U/S Las Chinamas |
| Lic. Digna Esperanza Escobar | U/S La Hachadura |
| Téc .Carlos Alberto Carpio Brizuela | U/S. Tacuba |
| **SIBASI Sonsonate** | |
| Lic. Xiomara Marleny Turcios Luna | U/S Acajutla |
| Lic .Norma Álvarez de Álvarez | U/S Armenia |
| Téc .Silvia Guadalupe Ramírez | U/S Izalco |
| Lic. Guadalupe de García | U/S Sonzacate |
| Lic. Nuria del Carmen Morales | U/S San Julián |
| Lic. Irma Velásquez de Aguirre | U/S Juayua |
| | |
| **Financiado por: Agencia Española de Cooperación Internacional** | |
| ASISTENCIA TECNICA AGENCIA ESPAÑOLA DE COOPERACION INTERNACIONAL | Dra. Margarita Valencia Aráuz<br>Ing. Javier Espejo |

## PRESENTACIÓN

El Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social a través de la Dirección de Vigilancia de la Salud y a iniciativa del Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”, ha elaborado el presente manual que contiene los procedimientos técnicos que deben realizarse en los Laboratorios Clínicos del Primer Nivel de Atención de este Ministerio.

Este documento se ha desarrollado con la finalidad de contar con un instrumento que contenga la secuencia de los pasos necesarios, que aseguren la correcta ejecución de todos los procedimientos técnicos de cada uno de los Laboratorios, y de esta manera contribuir al ordenamiento y estandarización de los mismos.

Por lo anterior, este Despacho Ministerial pone a disposición de todos los profesionales involucrados en los procesos descritos, el presente documento denominado: “Manual de Procedimientos Técnicos de Laboratorio Clínico del Primer Nivel de Atención”.

Los contenidos de esta publicación deben incorporarse en las actividades diarias de los Laboratorios Clínicos de los establecimientos del Primer Nivel de Atención, a fin de garantizar la emisión de resultados confiables, comparables y oportunos, que colaboren a mejorar la condición de salud de la población.

MINISTERIO DE SALUD PUBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL
SAN SALVADOR, EL SALVADOR, C.A.

Dr. José Guillermo Maza Brizuela.

Ministro de Salud.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN
2.0 OBJETIVOS ..... 1
2.1. OBJETIVO GENERAL ..... 1
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 1
3. BIOSEGURIDAD ..... 2
4. CONTROL DE CALIDAD ..... 4
4.1. CONTROL DE CALIDAD EN COPROLOGÍA ..... 5
4.2. CONTROL DE CALIDAD EN URIANÁLISIS ..... 5
4.3. CONTROL DE CALIDAD EN QUÍMICA CLÍNICA ..... 6
4.4. CONTROL DE CALIDAD EN HEMATOLOGÍA ..... 6
4.5. CONTROL DE CALIDAD EN INMUNOLOGÍA ..... 6
4.6. CONTROL DE CALIDAD EN MICROBIOLOGÍA ..... 7
5. COPROLOGÍA ..... 8
5.1. EXAMEN FÍSICO DE HECES ..... 9
5.2. EXAMEN MICROSCÓPICO DE HECES ..... 11
5.3. PRUEBA DE AZUL DE METILENO ..... 14
5.4. COLORACIÓN DE ZIELH NEELSEN MODIFICADA PARA LA INVESTIGACIÓN DE COCCIDIOS ..... 17
6. URIANÁLISIS ..... 20
6.1. TOMA DE MUESTRA PARA ANÁLISIS DE ORINA ..... 21
6.2. EXAMEN FÍSICO DE ORINA ..... 22
6.3. EXAMEN QUÍMICO DE ORINA ..... 24
6.4. EXAMEN MICROSCÓPICO DEL SEDIMENTO URINARIO ..... 27
7. QUÍMICA CLÍNICA ..... 30
7.1. TOMA DE MUESTRA DE SANGRE VENOSA PARA EXÁMENES DE QUÍMICA CLÍNICA ..... 31
7.2. GLUCOSA SANGUÍNEA ..... 34
7.3. COLESTEROL ..... 37
7.4. TRIGLICÉRIDOS ..... 40
7.5. ÁCIDO ÚRICO ..... 43
8. HEMATOLOGÍA ..... 46
8.1. TOMA DE MUESTRA DE SANGRE CAPILAR PARA EXÁMENES HEMATOLÓGICOS ..... 47
8.2. TOMA DE MUESTRA DE SANGRE VENOSA PARA EXÁMENES HEMATOLÓGICOS ..... 49

8.3. PREPARACIÓN Y TINCIÓN DEL FROTIS SANGUÍNEOS ..... 52
8.4. EXAMEN MICROSCÓPICO DEL FROTIS SANGUÍNEO PARA FÓRMULA DIFERENCIAL ..... 55
8.5. FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA ..... 58
8.6. HEMATOCRITO ..... 61
8.7. HEMOGLOBINA ..... 63
8.8. RECUENTO DE LEUCOCITOS ..... 66
8.9. RECUENTO DE PLAQUETAS (Método directo en cámara) ..... 69
8.10. ESTIMADO DEL NÚMERO DE PLAQUETAS ..... 72
8.11. RECUENTO DE RETICULOCITOS ..... 74
8.12. VELOCIDAD DE ERITROSEDIMENTACIÓN ..... 76
8.13. TIEMPO DE SANGRAMIENTO ..... 78
8.14. TIEMPO DE COAGULACIÓN ..... 80
8.15. CONCENTRADO DE STROUT ..... 82
8.16. GOTA GRUESA ..... 84
9. INMUNOLOGÍA ..... 85
9.1. TOMA DE MUESTRA DE SANGRE VENOSA PARA EXÁMENES DE INMUNOLOGÍA ..... 86
9.2. PRUEBA RÁPIDA DE REAGINA (Método RPR) ..... 89
9.3. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (Prueba rápida) ..... 93
9.4. ANTÍGENOS FEBRILES ..... 96
9.5. TIPEO SANGUÍNEO ..... 99
9.6. DETERMINACIÓN DE VARIANTE Du ..... 102
9.7. PRUEBA DE EMBARAZO ..... 105
10. MICROBIOLOGÍA BÁSICA ..... 108
10.1. PREPARACIÓN DE UN EXTENDIDO DE MUESTRA ..... 109
10.2. EXAMEN MICROSCÓPICO (Coloración de Gram) ..... 111
10.3. DIRECTO AL FRESCO DE SECRECIÓN VAGINAL ..... 114
10.4. DIRECTO DE SECRECIÓN VAGINAL COLOREADO CON GRAM ..... 116
10.5. DIRECTO DE SECRECIÓN URETRAL COLOREADO CON GRAM ..... 118
10.6. DIRECTO PARA ÁCIDO ALCOHOL RESISTENTE (Tuberculosis) ..... 120
11. REVISIÓN Y ACTUALIZACIÓN ..... 121
12. GLOSARIO DE TÉRMINOS ..... 122
13. ABREVIATURAS ..... 126
14. ANEXOS ..... 127
15. BIBLIOGRAFIA ..... 145

# 1. INTRODUCCIÓN

Los laboratorios clínicos representan un apoyo primordial para el área médica, ya que a través de los análisis realizados en ellos se pueden diagnosticar diferentes patologías y establecer el tipo de tratamiento que se debe administrar al paciente. Es por eso, que conscientes de la gran importancia y con la finalidad de alcanzar un trabajo de calidad, es indispensable contar con un manual que presente de manera formal y sistemática los procedimientos de la Red de Laboratorios de los establecimientos del Primer Nivel de Atención en Salud.

El siguiente manual se ha elaborado de forma sencilla y práctica para que su contenido sea de fácil aplicación por el personal que desarrolla estas actividades diarias. Su contenido esta dividido en ocho apartados: en el primero están contenidos los aspectos más importantes de bioseguridad en el Laboratorio; en el segundo se describe el control de calidad que debe llevarse en los diferentes análisis; y en los seis apartados siguientes se detallan los procedimientos que se realizan en las diferentes áreas, en el siguiente orden: Coprología, Urianálisis, Química Clínica, Hematología, Inmunología y Microbiología básica.

Se espera que este manual sea una guía efectiva y útil para lograr la estandarización de los procedimientos y calidad de los resultados obtenidos en los Laboratorios Clínicos del Ministerio de Salud.

# 2. OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GENERAL

- Proporcionar a la Red de Laboratorios clínicos del Ministerio de Salud, un instrumento que facilite el desarrollo adecuado, sistematizado y estandarizado de los procedimientos técnicos que se realizan en los laboratorios del Primer Nivel de Atención.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Brindar una herramienta que permita realizar los procedimientos técnicos de laboratorio uniformemente, de manera que se eviten desviaciones en su desarrollo.

- Ordenar todos los procedimientos técnicos de los Laboratorios Clínicos del Primer Nivel de Atención, en un solo documento apropiado para responder a las necesidades de este nivel.

- Contribuir a la aplicación de las medidas de bioseguridad y controles de calidad que deben cumplirse, cuando se desarrolle un procedimiento técnico.

- Contar con un instrumento que sirva de guía para la evaluación y monitoreo de las actividades de laboratorio.

## 3. BIOSEGURIDAD

El elemento más importante de la bioseguridad es el cumplimiento estricto de las prácticas y técnicas de laboratorio estándar, pues ninguna medida, ni siquiera un excelente equipo sustituyen el orden y cuidado con el que deben ejecutarse los procedimientos.

Todas las personas que trabajan en un laboratorio deben conocer los riesgos potenciales a los que se exponen y ser versados en las prácticas y técnicas requeridas para manipular materiales infecciosos en forma segura.

Cuando ocurre un accidente es fundamental que se haga un análisis de sus causas y se adopten medidas correctivas para evitar su repetición.

Los accidentes biológicos se producen generalmente por:

- Aerosoles.
- Inoculación accidental.
- Derrames y salpicaduras:
- Salpicaduras en cara y ojos.
- Derrames en la recepción de muestras.
- Heridas causadas por objetos punzantes o cortantes.
- Salpicaduras en la superficie de trabajo y fuera de la zona de trabajo.

Es de primordial importancia que todos los profesionales de Laboratorio conozcan:

- Los agentes, sustancias y productos peligrosos que existen en el laboratorio.
- La metodología de trabajo del laboratorio.
- El equipamiento del laboratorio.
- Las medidas a tomar en caso de emergencia.
- Los lineamientos y procedimientos contenidos en el “Manual de Bioseguridad de los

Laboratorios Clínicos" edición actualizada, al cual deben referirse.

La importancia de respetar y hacer cumplir todo lo anterior.

El Jefe de Laboratorio es responsable de velar por el cumplimiento de las normas y reglamentos que aseguren la protección del personal; pero todo el personal es responsable no sólo de su propia seguridad sino también la de sus compañeros de trabajo y el medio ambiente.

## 4. CONTROL DE CALIDAD

El Control de calidad del laboratorio implica todo un conjunto de medidas encaminadas a lograr una adecuada confiabilidad de los resultados de laboratorio y tiene como propósito garantizar que los resultados obtenidos sean acordes al estado de salud del paciente. El control de calidad es, por tanto, el método mediante el cual se mide la calidad real, compararla con los estándares y actuar sobre la diferencia. Tiene dos objetivos fundamentales: mantener bajo control el proceso y eliminar las causas de errores.

La calidad se obtiene y se mejora a lo largo de todo el proceso por lo que el control de calidad debe ejercerse en las tres fases del proceso: la fase pre-analítica, analítica y post-analítica.

La mayoría de las técnicas analíticas cuantitativas implican diversas operaciones que están sujetas a cierto grado de imprecisión y cierta posibilidad de error. El objetivo del control de calidad radica en asegurar que los productos finales, es decir los valores analíticos que son producidos por un laboratorio clínico, sean suficientemente fiables y adecuados a la finalidad que persiguen. Este objetivo se cumple a medida que todo el personal del laboratorio sea consciente de las causas de las imprecisiones analíticas y de las técnicas disponibles para su detección, corrección y control.

Entre las principales variables que pueden evitar imprecisiones podemos citar:

- Forma adecuada de obtención de las muestras.
- Calidad y estabilidad de los reactivos analíticos.
- Preparación y capacitación del personal técnico.
- Limpieza, mantenimiento y uso adecuado de las pipetas automáticas.
- Manuales para el usuario y mantenimiento de los equipos a utilizar.
- Transferencia de los resultados sin pérdidas, ni alteraciones, para la elaboración de los informes.

A continuación se detallan aspectos principales de control de calidad en las diferentes áreas:

## 4.1 CONTROL DE CALIDAD EN COPROLOGÍA

- El tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y la observación microscópica debe ser no mayor de tres horas para observar formas activas.
- Tener especial cuidado en la utilización de frascos adecuados y limpios.
- Efectuar el control de calidad del lugol y solución salina 0.85% en el Laboratorio Central.
- Todos los laboratorios deben enviar al Laboratorio Central para control de calidad el 10% de láminas de azul de metileno (PAM) realizadas.
- Los laboratorios del Primer Nivel de Atención deben participar en el control de calidad externo que le envíe el Nivel Central.

## 4.2 CONTROL DE CALIDAD EN URIANÁLISIS

- Correlacionar de lo observado en el examen químico y microscópico de los siguientes Sparámetros:

  a)Nitritos positivos con bacterias presentes en el sedimento.

  b)Leucocitos por µL con leucocitos presentes en el sedimento.

- Correlacionar la presencia de leucocitos con la presencia de bacterias observadas en el sedimento urinario.

- El tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y el procesamiento de la misma debe ser idealmente no mayor de dos horas.

## 4.3 CONTROL DE CALIDAD EN QUÍMICA CLÍNICA

- Llevar un registro diario del control de temperatura de las refrigeradoras y baños de María.
- Calibrar el espectrofotómetro cada vez que se cambie la fuente de luz y al menos cada mes.
- Registrar diariamente todas las lecturas de estándares y sueros controles internos los cuales serán procesados en cada corrida.
- La separación del suero del paquete globular no debe ser mayor de dos horas después de obtenida la muestra. Una vez separados los sueros se deben refrigerar si no se procesan inmediatamente.
- Observar diariamente los reactivos en busca de turbidez o cambio de color. En caso de deterioro se recomienda no utilizar.
- Los laboratorios del Primer Nivel de Atención deben participar en el control de calidad externo que le envíe el Nivel Central cada año.

## 4.4 CONTROL DE CALIDAD EN HEMATOLOGÍA

- Investigar los resultados de hemoglobina cuando que no se correlacionen con el valor del hematocrito.
- Determinar los tiempos de coloración de los frotis con colorante Wright, siempre que se cambie el lote de colorante.
- Los laboratorios del Primer Nivel de Atención deben participar en el control de calidad externo de hematología que les envíe el Nivel Central cada año.

## 4.5 CONTROL DE CALIDAD EN INMUNOLOGÍA

- Seguir rigurosamente las instrucciones del fabricante para la preparación de los reactivos.
- Dejar que las muestras y reactivos lleguen a temperatura ambiente antes de iniciar los procedimientos.
- Evitar la combinación de reactivos de diferentes Set.
- Llevar un registro diario del control de temperatura de las refrigeradoras y baños de María.
- Procesar los controles de las casas comerciales y el control interno en cada tiraje de muestras.

Elaborar un protocolo de trabajo por cada tiraje de muestras.

Los laboratorios del Primer Nivel de Atención deben participar en el control de calidad externo de inmunología que les envíe el Nivel Central cada año.

## 4.6 CONTROL DE CALIDAD EN MICROBIOLOGÍA

En la toma de muestra se deben controlar los siguientes aspectos:

- Tomar la muestra del sitio representativo del proceso infeccioso.

- Evitar la contaminación de la muestra.

- Coleccionar el volumen adecuado de la muestra y en el frasco apropiado.

En la coloración se deben controlar los siguientes aspectos:

- El control de calidad de los colorantes se debe realizar con cada nuevo lote (control de calidad ejercido por el Laboratorio Central).

- Tener especial cuidado con el alcohol – acetona, pues de este depende que la coloración sea excesiva o débil.

- Controlar la no contaminación de colorantes como la safranina o fucsina básica, los cuales se pueden contaminar fácilmente.

Controlar la fijación de la preparación pues el exceso de calor produce daño en la pared celular de las bacterias que pueden afectar, la retención de los colorantes.

# 5. COPROLOGÍA

## 5.1 EXAMEN FÍSICO DE HECES

### 5.1.1. PROPÓSITO:

Por medio de la observación macroscópica de la muestra de heces determinar el color la consistencia, presencia de mucus, sangre, restos alimenticios o parásitos en estado larvario.

### 5.1.2. MUESTRA REQUERIDA:

5 gramos de heces recién emitidas, instruir al paciente que colecte en el frasco la porción de muestra que evidencia el daño intestinal (Mucus, sangre, parásitos). No son recomendables las muestras obtenidas con laxantes o enemas.

### 5.1.3. MATERIALES:

- Frascos plásticos de boca ancha y tapón de rosca con capacidad para 2 onzas.
- Aplicadores de madera.
- Guantes descartables.
- Marcador de vidrio.
- Papel lente.

### 5.1.4. PROCEDIMIENTO:

- Observar el color de la muestra.
- Observar la consistencia de la muestra.
- Utilizar un aplicador de madera para buscar la presencia de mucus en la muestra.
- Observar la presencia de restos alimenticios en la muestra.
- Anotar los hallazgos.

### 5.1.5. FUENTES DE ERROR:

Ingesta de medicamentos y algunos alimentos con colorantes.

- Frascos sucios.
- Contaminación de las heces con orina.

### 5.1.6. FORMA DE REPORTE:

- COLOR: Café, amarillo, verde, rojo, acólico (blanco), negro.
- CONSISTENCIA: Dura, cíbalos, blanda, pastosa y líquida.
- PRESENCIA DE MUCUS: Negativo o Positivo.
- RESTOS ALIMENTICIOS: Escasos, moderados o abundantes.

Valores de referencia:

- COLOR: Café.
- CONSISTENCIA: Pastosa a blanda.
- PRESENCIA DE MUCUS: No debe observarse.
- RESTOS ALIMENTICIOS: Escasos.

### 5.1.7. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 5.2 EXAMEN MICROSCÓPICO DE HECES

### 5.2.1. PROPÓSITO:

Analizar microscópicamente una muestra de heces en busca de la presencia de leucocitos, parásitos protozoarios y metazoarios en sus diferentes estadios.

### 5.2.2. MUESTRA REQUERIDA:

5 gramos de heces recién emitidas. No son recomendables las muestras obtenidas con laxantes o enemas.

### 5.2.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Láminas porta objeto.
- Laminillas cubre objeto.
- Lápiz marcador de vidrio.
- Aplicaciones de madera.
- Guantes descartables.
- Solución salina 0.85%.
- Solución de Lugol para heces. (Anexo 1)
- Papel lente.

### 5.2.4. EQUIPO:

- Microscopio

### 5.2.5. PROCEDIMIENTO:

- Identificar la lámina porta objeto
- Colocar en un extremo de la lámina portaobjeto una gota de solución salina al 0.85%.
- Seleccionar la parte más representativa de la muestra (mucus o sangre, si hay presencia de estos).

- Agregar con un aplicador 1 a 2 mg de material fecal seleccionada y emulsionar.
- Cubrir la preparación con una laminilla cubreobjeto, colocándola en ángulo de 45° sobre el borde de la preparación y bajándolo con cuidado a fin de que no queden burbujas entre el cubre y el porta objeto.
- Colocar en el otro extremo del portaobjeto, una gota de lugol para heces y repetir el procedimiento anterior.
- Observar en forma sistemática al microscopio, con el objetivo 10x y luego con el 40x.
- Reportar todo lo observado. (Anexo 2)

Con solución salina 0.85%, los trofozoitos y quistes de los protozoarios se observan en forma natural y con lugol se visualizan las estructuras internas, núcleos y vacuolas.

### 5.2.6. FUENTES DE ERROR:

- Desecación de la preparación.
- Preparación muy gruesa o delgada.
- Intensidad de luz inadecuada.
- Contaminación de la muestra con orina.
- Dejar transcurrir más de 3 horas después de la recolección para observar formas activas en la muestra.
- Omitir la preparación y observación con lugol.
- No examinar en forma sistemática.
- Muestra de heces escasa o seca en el frasco.

### 5.2.7. FORMA DE REPORTE:

PARÁSITOS: Anotar el nombre del género y especie, así como su estado evolutivo.

LEUCOCITOS: Reportar el número de leucocitos por campo.

ERITROCITOS: Reportar el número de eritrocitos por campo.

RESTOS ALIMENTICIOS: Escasos, moderados o abundantes.

LEVADURAS: Escasas, moderadas o abundantes.

RESTOS DE GRASA: Reportar de moderado a abundante.

Valores de referencia:

PARÁSITOS: No se deben observar.

LEUCOCITOS: No se deben observar.

ERITROCITOS: No se deben observar.

RESTOS ALIMENTICIOS: de escasos a moderados.

LEVADURAS: No se deben observar.

RESTOS DE GRASA: Reportar de moderado a abundante.

### 5.2.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 5.3 PRUEBA DE AZUL DE METILENO

### 5.3.1. PROPÓSITO:

Es la búsqueda de leucocitos polimorfonucleares y mononucleares en una muestra líquida coloreada con azul metileno lo que permite identificar si se trata de un proceso viral o bacteriano.

### 5.3.2. MUESTRA REQUERIDA:

5gr. de heces frescas y líquidas, instruir al paciente sobre la forma de colectar la muestra.

### 5.3.3. MATERIALES Y REACTIVOS

- Lámina portaobjeto.
- Aplicadores de madera.
- Aceite de inmersión.
- Papel filtro.
- Embudo.
- Bandeja o soporte de coloración.
- Colorante de azul metileno 0.1%.
- Guantes descartables.
- Marcador de vidrio.
- Papel toalla.
- Fósforos.
- Papel lente.

### 5.3.4. EQUIPO:

- Contador diferencial de células.

- Microscopio.
- Mechero.

### 5.3.5. PROCEDIMIENTO

- Filtrar el colorante antes de utilizar.
- Identificar el portaobjeto a utilizar.
- Realizar el extendido de muestra en las dos terceras partes de la lámina.
- Dejar secar a temperatura ambiente.
- Fijar al calor pasándolo rápidamente sobre la llama de un mechero tres veces en forma horizontal.
- Cubrir la lámina con azul de metileno de 30 a 60 segundos.
- Eliminar el azúl de metileno tomando el portaobjeto por el extremo numerado inclinándolo hacia delante, y lavar dejando caer una corriente de agua a baja presión sobre la parte en que no hay extendido, la que escurrirá suavemente sobre la película.
- Dejar secar a temperatura ambiente.
- Observar al microscopio con objetivo de inmersión 100x.
- Contar 100 células blancas o leucocitos diferenciando los polimorfonucleares de los mononucleares.

### 5.3.6. FUENTES DE ERROR:

- Extendidos gruesos.
- Fijación con excesivo calor.
- Láminas sucias o grasosas.
- Arrastrar la prepración con un lavado brusco

## 5.3.7. FORMA DE REPORTE:

Reportar el porcentaje de leucocitos encontrados con el predominio del que tenga mayor porcentaje.

Polimorfonucleares ……..... por ciento.

Mononucleares ……..…….. por ciento.

### Interpretación:

Predominio de polimorfonucleares se asume que existe un proceso infeccioso de origen bacteriano.

Predominio de Mononucleares se asume que el proceso infeccioso es de origen viral.

## 5.3.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 5.4 COLORACIÓN DE ZIELH NEELSEN MODIFICADA PARA LA INVESTIGACIÓN DE COCCIDIOS

### 5.4.1. PROPÓSITO:

La búsqueda de los ooquistes de coccidios en una coloración teñida con Zielh Neelsen modificada, la cual se basa en el comportamiento ácido resistente de la cubierta de estos parásitos, que se tiñen de rojo, destacándose sobre un fondo azul.

### 5.4.2. MUESTRA REQUERIDA:

5 gr de heces fecales o esputo.

### 5.4.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Láminas portaobjeto esmerilada.
- Aplicadores de madera.
- Fucsina fenicada.
- Azúl de metileno.
- Papel filtro.
- Embudo.
- Alcohol ácido.
- Papel toalla.
- Marcador de vidrio.
- Aceite de inmersión.
- Fósforos.
- Guantes descartables.
- Papel lente.

### 5.4.4. EQUIPO:

- Mechero.
- Microscopio.

### 5.4.5. PROCEDIMIENTO

- Filtrar los colorantes antes de utilizar.
- Identificar la lámina en el extremo esmerilado.
- Hacer un extendido de materia fecal sobre un portaobjeto en las dos terceras partes de la lámina (No ejercer presión para hacer e extendido).
- Dejar secar el extendido a temperatura ambiente.
- Fijar con calor pasándolo rápidamente tres veces sobre la llama de un mechero en forma horizontal.
- Cubrir la preparación con Fucsina fenicada por 20 minutos.
- Eliminar la fucsina tomando el portaobjeto por el extremo numerado inclinándolo hacia delante, y lavar dejando caer una corriente de agua a baja presión sobre la parte en que no hay extendido, la que escurrirá suavemente sobre la película.
- Decolorar con alcohol ácido por 2 minutos.
- Lavar con agua de chorro hasta que no hayan restos de colorante.
- Cubrir la preparación con azul de metileno por 1 minuto.
- Lavar con agua de chorro hasta que no hayan restos de colorante.
- Dejar secar a temperatura ambiente.
- Observar al microscopio toda la preparación con el objetivo 40x en busca de estructuras semejantes a los ooquistes del coccidio. (Anexo 2)
- Identificar con el objetivo de inmersión 100x.

### 5.4.6. FUENTES DE ERROR:

- No filtrar los colorantes.
- Realizar extendidos muy gruesos.
- No dejar el tiempo suficiente para el secado del extendido.
- Omitir la fijación o excesivo calor al fijar la preparación.
- Incumplir los tiempos de coloración.
- Cubrir la preparación con insuficiente fucsina.

### 5.4.7. FORMA DE REPORTE:

En presencia de ooquistes:

Reportar: Se observan ooquistes de Isospora belli o Criptosporidium sp. o Cyclospora cayetanensis, según lo encontrado.

En ausencia de ooquistes en la preparación:

Reportar: No se observan ooquistes.

### 5.4.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

# 6. URIANÁLISIS

## 6.1 TOMA DE MUESTRA PARA ANÁLISIS DE ORINA

### 6.1.1. PROPÓSITO:

Obtener una muestra de orina con el volumen y condiciones adecuadas para realizar un análisis físico, químico y microscópico.

### 6.1.2. MUESTRA REQUERIDA:

30 mL de orina de chorro intermedio, recomendable la primera micción de la mañana.

### 6.1.3. MATERIALES:

Frascos plásticos transparente de boca ancha con capacidad de 30 mL limpio y seco.

### 6.1.4. PROCEDIMIENTO:

- Limpiar cuidadosamente los genitales.
- Descartar el inicio y el final de la micción; recolectar la orina de la porción intermedia. (En el caso de la mujer separar los labios genitales).
- Destapar y depositar la muestra de orina en un frasco plástico, transparente, limpio, de boca ancha con tapón de rosca y capacidad de 30 a 40 mL.
- Tapar el frasco inmediatamente.

### 6.1.5. FUENTES DE ERROR:

- Limpieza de genitales inadecuada.
- Frascos sucios.
- Tiempo prolongado entre la recolección y la entrega en el laboratorio.
- No descarte del inicio y final de la micción.

### 6.1.6. RESPONSABLE:

Paciente con instrucciones previas proporcionadas por el personal de laboratorio.

## 6.2 EXAMEN FÍSICO DE ORINA

### 6.2.1. PROPÓSITO:

Por medio de la observación directa de la muestra de orina determinar el color y el aspecto de ésta, lo cual puede sugerir una patología del tracto urinario u otras enfermedades que estén en diferente localización, pero que sus manifestaciones secundarias son a nivel del riñón.

### 6.2.2. MUESTRA REQUERIDA:

30 mL de orina. Preferible la primera de la mañana, 10 mL de orina en muestra de niños.

### 6.2.3. MATERIALES:

- Frascos plásticos transparente de boca ancha con capacidad de 30 mL.
- Bolsa pediátrica recolectora de orina.
- Papel toalla.
- Marcador de vidrio.
- Guantes descartables.

### 6.2.4. PROCEDIMIENTO:

- Verificar que el frasco esté bien identificado y completamente tapado.
- Agitar en forma circular sobre la mesa de trabajo.
- Observar color y aspecto.
- Anotar lo observado.

### 6.2.5. FUENTES DE ERROR:

- Frascos sucios.
- Toma de muestra inadecuada.
- Muestras medicamentosas.

Tiempo transcurrido desde la toma de la muestra hasta la observación (no mayor de 2 horas)

### 6.2.6. FORMA DE REPORTE:

Valores de referencia:

COLOR: Amarillo.

ASPECTO: limpia.

### 6.2.7. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 6.3 EXAMEN QUÍMICO DE ORINA

### 6.3.1. PROPÓSITO:

Determinar las sustancias químicas presentes en una muestra de orina, así como su densidad y pH, a través de las zonas de reacción presentes en una tira reactiva.

### 6.3.2 MUESTRA REQUERIDA:

30 mL de orina. Preferible la primera de la mañana, 10mL de orina en muestra de niños.

### 6.3.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Frascos plásticos transparente de boca ancha con capacidad de 30 mL.
- Bolsa pediátrica recolectora de orina.
- Tubos cónicos con capacidad de 15 mL.
- Gradilla para tubos.
- Papel toalla.
- Marcador de vidrio.
- Guantes descartables.
- Tiras reactivas para orina.

### 6.3.4. PROCEDIMIENTO:

- Identificar el tubo cónico.
- Agitar la muestra de orina en forma circular sobre la mesa de trabajo.
- Verter la orina en el tubo cónico.
- Introducir la tira reactiva en la orina.
- Eliminar el exceso de orina colocando la tira sobre un papel absorbente.
- Esperar el tiempo recomendado por el fabricante para su lectura.
- Anotar los resultados.

Los cambios de color que aparecen después de dos ó más minutos carecen de importancia diagnóstica.

## 6.3.5. FUENTES DE ERROR:

- Muestras medicamentosas.
- Frascos y tubos mal lavados.
- Tiras reactivas de mala calidad o vencidas.
- Cortar las tiras reactivas.
- Leer las tiras reactivas después del tiempo indicado por el fabricante.

## 6.3.6. FORMA DE REPORTE:

pH: de 5 a 9.

DENSIDAD: de 1.000 a 1.030.

LEUCOCITOS: 0 a 500 Leucocitos por µl.

NITRITOS: Positivo ó Negativo.

PROTEÍNA: 0 a 1000 mg por dL.

GLUCOSA: 0 - 1000 mg por dL

CUERPOS CETÓNICOS: de una cruz a tres cruces.

UROBILINÓGENO: de <1 a 12 mg por dL.

BILIRRUBINA: de una cruz a tres cruces.

SANGRE/HEMOGLOBINA: de 0 a 250 eritrocitos por µL

Siempre que en la tira reactiva no se observe un cambio de color se reportará como negativo.

Valores de referencia:

pH: de 5 a 6.

DENSIDAD: de 1.005 a 1.010 .

LEUCOCITOS: 0 Leucocitos por µl .

NITRITOS: Negativo.

PROTEÍNA: 0 mg por dL.

GLUCOSA: 0 mg por dL .

CUERPOS CETÓNICOS: Negativo.

UROBILINÓGENO: <1 mg por dL.

BILIRRUBINA: Negativa.

SANGRE: 0 eritrocitos por µL.

### 6.3.7. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 6.4 EXAMEN MICROSCÓPICO DEL SEDIMENTO URINARIO

### 6.4.1. PROPÓSITO:

Observar microscópicamente en el sedimento urinario elementos celulares, cilindros, cristales, parásitos, filamentos mucoides y bacterias. Con el fin de sugerir una patología del tracto urinario u otras enfermedades que estén en diferente localización.

### 6.4.2. MUESTRA REQUERIDA:

15 mL de orina.

### 6.4.3. MATERIALES:

- Tubos cónicos de 15 mL .
- Láminas portaobjetos.
- Laminillas cubreobjetos.
- Marcador para vidrio.
- Gradillas para tubos.
- Guantes descartables.

### 6.4.4. EQUIPO:

- Reloj marcador.
- Macrocentrífuga.
- Microscopio.

### 6.4.5. PROCEDIMIENTO:

- Centrifugar durante 5 minutos a 2,500 rpm .
- Descartar el liquido sobrenadante.
- Suspender el sedimento urinario golpeando ligeramente con la mano.
- Colocar una gota de sedimento entre un porta y un cubreobjeto.
- Observar la preparación con el objetivo 10x para lograr una visión general del sedimento. (Anexo 3)

Identificar los elementos formes a mayor aumento 40x.
Anotar lo observado.

### 6.4.6. FUENTES DE ERROR:

- Usar portaobjetos y cubreobjetos sucios.
- Desecación del sedimento urinario.
- Tiempo transcurrido desde la toma de la muestra hasta la observación microscópica.
- Uso excesivo de luz.
- Centrifugación inadecuada.

### 6.4.7. FORMA DE REPORTE:

CÉLULAS EPITELIALES, ESCAMOSAS Y REDONDAS: reportar escasas, moderadas o abundantes.

GLÓBULOS ROJOS: Reportar el número estimado por campo.

LEUCOCITOS: Reportar el número estimado por campo.

CILINDROS: se pueden encontrar en la orina los siguientes cilindros: hialinos, granulosos finos y gruesos, leucocitarios, hemáticos, grasos y céreos. Reportar el número de cilindros observados por campo.

FILAMENTOS MUCOIDES: reportar escasos, moderados o abundantes.

CRISTALES: se pueden encontrar en la orina los siguientes cristales: oxalatos de calcio, acido úrico, uratos amorfos, fosfatos amorfos, fosfatos triples, urato de amonio, leucina, cistina y tirosina. Reportar en la forma siguiente: escasos, moderados o abundantes.

LEVADURAS: Reportar escasos, moderada y abundantes.

PARÁSITOS: Se pueden encontrar en orina Trichomonas vaginalis, Phitirus pubis, huevos y quistes de parásitos por contaminación con heces.

BACTERIAS: Reportar la presencia de bacterias moderadas o abundantes, solamente cuando se observen más de 10 leucocitos por campo.

Valores de referencia

CÉLULAS EPITELIALES, ESCAMOSAS: Escasas a moderadas.

CÉLULAS EPITELIALES REDONDAS: No deben observarse.

GLÓBULOS ROJOS: No deben observarse.

LEUCOCITOS: .0-5 por campo.

CILINDROS: No deben observarse.

FILAMENTOS MUCOIDES: No deben observarse.

CRISTALES: Podrían observarse oxalatos, uratos y fosfatos amorfos de escasa a moderada cantidad.

LEVADURAS: No deben observarse.

PARÁSITOS: No deben observarse.

BACTERIAS: Escasas o no presentes.

### 6.4.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

# 7. QUÍMICA CLÍNICA

## 7.1 TOMA DE MUESTRA DE SANGRE VENOSA PARA EXÁMENES DE QUÍMICA CLÍNICA

### 7.1.1. PROPÓSITO:

Obtener sangre venosa para realizar pruebas de química sanguínea.

### 7.1.2. MUESTRA REQUERIDA:

de 5 a 10 mL. de sangre venosa sin anticoagulante.

### 7.1.3. MATERIALES:

- Jeringa estéril para extraer 5 - 10 mL. con aguja 21 X 1 ½ o sistema de extracción al vacío.
- Torundas de algodón.
- Alcohol etílico (70%).
- Marcador de vidrio.
- Torniquete.
- Tubos sin anticoagulante 13 x 100 mm y tapón de hule o tubos del sistema de extracción al vacío.
- Gradilla para tubos.
- Guantes descartables.

### 7.1.4. PROCEDIMIENTO:

- Lavar y secar las manos y colocarse los guantes.
- Identificar el tubo de acuerdo a la solicitud.
- Explicar al paciente sobre el procedimiento que se le va a realizar.
- Sentar cómodamente al paciente para la extracción tomando en cuenta que el área de sangría debe contar con suficiente iluminación.
- Seleccionar la vena apropiada para la punción.
- Realizar asepsia con torunda de algodón humedecida con alcohol etílico al 70% de adentro hacia fuera.

- Colocar el torniquete firmemente alrededor del brazo, y pedir al paciente que abra y cierre la mano varias veces para favorecer la dilatación de las venas.
- Proceder a puncionar la vena seleccionada.
- Colocar la aguja con el bisel hacia arriba sobre la vena a puncionar.
- Introducir la aguja en el centro de la vena y penetrar a lo largo de la vena de 1 a 1.5 cm.
- Tirar hacia atrás el émbolo de la jeringa muy lentamente para que penetre la sangre en la jeringa hasta llenar con la cantidad de sangre necesaria. Si utiliza sistema de sangrado al vacío introducir el tubo en el dispositivo (holder) de manera que al ejercer presión se atraviese el extremo inferior de la aguja, para que la sangre fluya hacia el tubo por efecto del vacío.
- Retirar torniquete tirando del extremo doblado y colocar una torunda de algodón sobre la piel donde se encuentra oculta la punta de la aguja.
- Extraer la aguja con un movimiento rápido por debajo de la pieza de algodón, pedir al paciente que presione firmemente la torunda durante 3 minutos con el brazo extendido.
- Separar la aguja de la jeringa o del holder cuidadosamente, llenar los tubos deslizando la sangre por las paredes del mismo.
- Esperar que la muestra se coagule a temperatura ambiente.
- Centrifugar la muestra a 3000 rpm por 10 minutos.
- Separar el suero del paquete globular.
- Verificar nuevamente la identificación del paciente.

### 7.1.5. FUENTES DE ERROR:

- Prolongada aplicación del torniquete.
- Extracción violenta de la sangre, que puede provocar hemólisis.
- Empleo de tubos mal lavados.
- Depositar la sangre en el tubo en forma violenta.
- Dejar los tubos con muestras destapados.
- Que el paciente no cumpla con las indicaciones de acuerdo al análisis químico a realizar.
- Separación inadecuada del coágulo antes de centrifugar (no poner en baño de María).
- Centrifugación inadecuada de la muestra.

### 7.1.6. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 7.2 GLUCOSA SANGUÍNEA
## MÉTODO ENZIMÁTICO – COLORIMÉTRICO SIN DESPROTEINIZACIÓN

### 7.2.1. PRINCIPIO:

La glucosa se determina después de la oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno formado reacciona bajo catálisis de la peroxidasa con fenol y 4-aminofenazona produciendo un complejo rojo violeta usando la quinoneimina como indicador.

### 7.2.2. MUESTRAS REQUERIDA:

Para valor de glucosa en ayunas: Suero Tomado completamente en ayunas de 12 horas.

Para valor de glucosa posprandial: primera muestra completamente en ayunas de 12 horas y segunda muestra 2 horas después de haber ingerido un desayuno completo.

### 7.2.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Pipetas automáticas.
- Puntas plásticas.
- Tubos.
- Gradilla para tubos.
- Marcador para vidrio.
- Reactivo enzimático.
- Estándar de glucosa (concentración 100 mg/dL).
- Sueros controles comerciales.
- Papel toalla.
- Papel para film.
- Guantes descartables.

### 7.2.4. EQUIPO:

- Espectrofotómetro.
- Baño de María con termómetro.
- Reloj marcador.
- Centrífuga.
- Refrigeradora.

## 7.2.5. PROCEDIMIENTO:

- Llevar los reactivos a temperatura ambiente.
- Los reactivos se preparan de acuerdo a las instrucciones del fabricante en el cual estará indicado la estabilidad del reactivo.
- Rotular 4 tubos de la siguiente manera: blanco, estándar, muestra y control normal.

| | BLANCO | ESTANDAR | MUESTRA | CONTROL |
|---|---|---|---|---|
| AGUA DESTILADA | 10 µL | ---------- | ---------- | ---------- |
| ESTANDAR | ---------- | 10 µL | ---------- | ---------- |
| MUESTRA | ---------- | ---------- | 10 µL | ---------- |
| SUERO CONTROL | ---------- | ---------- | ---------- | 10 µL |
| REACTIVO | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |

En caso que los Espectrofotómetros no lean la cantidad de 1 mL, duplicar las cantidades.

- Mezclar e incubar de acuerdo a las indicaciones del fabricante.
- Leer a la longitud de onda indicada por el fabricante generalmente de 500 a 546 nm y de acuerdo al equipo utilizado.

## 7.2.6. FUENTES DE ERROR:

- No llevar los reactivos a temperatura ambiente.
- Pipetas mal calibradas.
- Puntas en mal estado.
- No leer en la longitud de onda recomendada.
- Tubos sucios.
- Agua destilada de mala calidad.
- Reactivos vencidos o en mal estado.
- Pipeteado inadecuado.
- Separar el suero después de los 30 minutos de la recolección.

### 7.2.7. FORMA DE REPORTE

Los valores de glucosa se reportan en mg/dL (Anexo 4).

Cálculo:

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Lectura de muestra}}{\text{Lectura del estándar}} \times 100\ (\text{mg/dL})$$

Se puede calcular usando factor de calibración:

$$\text{Factor de calibración} = \frac{\text{Concentración del estándar}}{\text{Lectura del estándar}}$$

$$\text{Glucosa en mg/dL} = \text{Factor de calibración X Lectura de muestra}$$

La prueba es lineal hasta la concentración de 1000 mg/dL (Revisar inserto incluido en el Set a utilizar) .

Si la concentración de glucosa en la muestra es superior a estos límites diluir la muestra 1+2 con agua destilada y repetir la determinación.

Multiplicar el resultado por 3.

### Valor de referencia:

60 -115 mg/dL

### 7.2.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista

## 7.3 COLESTEROL
## MÉTODO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO PARA COLESTEROL CON FACTOR ACLARANTE DE LÍPIDOS

### 7.3.1. PRINCIPIO:

El colesterol se determina después de la hidrólisis enzimática y la oxidación. En presencia de un indicador el cual desarrolla el color de acuerdo a la concentración del colesterol presente en la muestra.

### 7.3.2. MUESTRA REQUERIDA:

Suero tomado con 12 horas de ayuno.

### 7.3.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Pipetas automáticas.
- Puntas plásticas.
- Tubos.
- Gradilla para tubos.
- Marcador para vidrio.
- Reactivo enzimático.
- Estándar de colesterol (concentración 200 mg/dL).
- Sueros controles comerciales.
- Papel toalla.
- Papel para film.

Guantes descartables.

### 7.3.4. EQUIPO:

- Espectrofotómetro.
- Baño de María. con termómetro.
- Reloj marcador.
- Centrífuga.
- Refrigeradora con termómetro.

## 7.3.5. PROCEDIMIENTO:

- Llevar los reactivos a temperatura ambiente.
- Los reactivos se preparan de acuerdo a las instrucciones del fabricante en el cual estará indicado la estabilidad del reactivo.
- Rotular 4 tubos de la siguiente manera: blanco, estándar, muestra y control normal.

| | BLANCO | ESTANDAR | MUESTRA | CONTROL |
|---|---|---|---|---|
| AGUA DESTILADA | 10 µL | ---------- | ---------- | ---------- |
| ESTANDAR | ---------- | 10 µL | ---------- | ---------- |
| MUESTRA | ---------- | ---------- | 10 µL | ---------- |
| SUERO CONTROL | ---------- | ---------- | ---------- | 10 µL |
| REACTIVO | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |

En caso que los Espectrofotómetros no lean la cantidad de 1 mL, duplicar las cantidades.

- Mezclar e incubar de acuerdo a las indicaciones del fabricante.
- Leer a la longitud de onda indicada por el fabricante generalmente de 500 a 546 nm y de
- acuerdo al equipo utilizado.

## 7.3.6. FUENTES DE ERROR:

- No llevar los reactivos a temperatura ambiente.
- Pipetas mal calibradas.
- Puntas en mal estado.
- No leer en la longitud de onda recomendada.
- Tubos sucios.
- Agua destilada de mala calidad.
- Reactivos vencidos o en mal estado.
- Pipeteado inadecuado.

## 7.3.7. FORMA DE REPORTE:

Los valores de colesterol se reportan en mg/dL (Anexo 4).

### Cálculo

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Lectura de muestra}}{\text{Lectura del estándar}} \times 200 \text{ (mg/dL)}$$

### Se puede calcular usando factor de calibración:

$$\text{Factor de calibración} = \frac{\text{Concentración del estándar}}{\text{Lectura del estándar}}$$

$$\text{Colesterol en mg/dL} = \text{Factor de calibración X Lectura de la muestra}$$

La prueba es lineal hasta la concentración de 750 mg/dL (Revisar técnica ya que depende de la casa comercial).

Si la concentración del colesterol en la muestra es superior a estos limites diluir la muestra 1+2 con solución fisiológica y repetir la determinación.

Multiplicar el resultado por 3.

### Valor de referencia:

Hasta 200 mg/dL

## 7.3.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 7.4 TRIGLICÉRIDOS
## MÉTODO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO PARA TRIGLICÉRIDOS ACLARANTES DE LÍPIDOS

### 7.4.1. PRINCIPIO:

El triglicérido se determina después de la hidrólisis enzimática con lipasa. En presencia de un indicador que desarrolla color de acuerdo a la concentración del triglicérido presente en la muestra.

### 7.4.2. MUESTRA REQUERIDA:

Suero tomado con 12 horas de ayuno.

### 7.4.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Pipetas automáticas.
- Puntas plásticas.
- Tubos.
- Gradilla para tubos.
- Marcador para vidrio
- Reactivo enzimático.
- Estándar de triglicéridos (concentración 200 mg/dL).
- Sueros controles comerciales.
- Papel toalla.
- Papel para film.
- Guantes descartables.

### 7.4.4. EQUIPO:

- Espectrofotómetro.
- Baño de María. con termómetro.
- Reloj marcador.
- Centrífuga.

- Refrigeradora con termómetro.

## 7.4.5. PROCEDIMIENTO:

- Llevar los reactivos a temperatura ambiente.
- Los reactivos se preparan de acuerdo a las instrucciones del fabricante en el cual estará indicado la estabilidad del reactivo.
- Rotular 4 tubos de la siguiente manera: blanco, estándar ,muestra y control normal.

| | BLANCO | ESTANDAR | MUESTRA | CONTROL |
|---|---|---|---|---|
| AGUA DESTILADA | 10 µL | ---------- | ---------- | ---------- |
| ESTANDAR | ---------- | 10 µL | ---------- | ---------- |
| MUESTRA | ---------- | ---------- | 10 µL | ---------- |
| SUERO CONTROL | ---------- | ---------- | ---------- | 10 µL |
| REACTIVO | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |

En caso que los Espectrofotómetros no lean la cantidad de 1 mL, duplicar las cantidades.

- Mezclar e incubar de acuerdo a las indicaciones del fabricante.
- Leer a la longitud de onda indicada por el fabricante generalmente de 500 a 546 nm y de acuerdo al equipo utilizado.

## 7.4.6. FUENTES DE ERROR

- No llevar los reactivos a temperatura ambiente.
- Pipetas mal calibradas.
- Puntas en mal estado.
- No leer en la longitud de onda recomendada.
- Tubos sucios.
- Agua destilada de mala calidad.
- Reactivos vencidos o en mal estado.
- Pipeteado inadecuado.

## 7.4.7. FORMA DE REPORTE:

Los valores de triglicéridos se reportan en mg/dL (Anexo 4).

Cálculo:

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Lectura de muestra}}{\text{Lectura del estándar}} \times 200 \text{ (mg/dL)}$$

Se puede calcular usando factor de calibración:

$$\text{Factor de calibración} = \frac{\text{Concentración del estándar}}{\text{Lectura del estándar}}$$

$$\text{Triglicéridos en mg/dL} = \text{Factor de calibración X Lectura de la muestra}$$

La prueba es lineal hasta la concentración de 1000 mg/dL (Revisar técnica ya que depende de la casa comercial).

Si la concentración de triglicéridos en la muestra es superior a estos límites diluir la muestra 1+4 con solución salina fisiológica y repetir la determinación.

Multiplicar el resultado por 5.

Valor de referencia:

Sospechosos > 150 mg/dL.

Elevado > 200 mg/dL.

## 7.4.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 7.5 ÁCIDO ÚRICO
MÉTODO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO PARA ÁCIDO ÚRICO ACLARANTES DE LÍPIDOS

### 7.5.1. PRINCIPIO:

El Ácido Úrico se determina después de la hidrólisis enzimática de la uricasa, que en presencia de un indicador que desarrolla color rojo-violeta que es proporcional a la concentración de Ácido Úrico presente en la muestra.

### 7.5.2. MUESTRA REQUERIDA:

Suero (dentro de las 24 horas no ingerir embutidos, mariscos y carnes rojas).

### 7.5.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Pipetas automáticas.
- Puntas plásticas.
- Tubos.
- Gradilla para tubos.
- Marcador para vidrio.
- Reactivo enzimático.
- Estándar de Ácido Úrico (concentración según lo indica el fabricante).
- Sueros controles comerciales.
- Papel toalla.
- Papel para film.
- Guantes descartables.

### 7.5.4. EQUIPO:

- Espectrofotómetro.
- Baño de María. con termómetro.
- Reloj marcador.

- Centrífuga.
- Refrigeradora con termómetro.

## 7.5.5. PROCEDIMIENTO

- Llevar los reactivos a temperatura ambiente.
- Los reactivos se preparan de acuerdo a las instrucciones del fabri cante en el cual estará indicado la estabilidad del reactivo.
- Rotular 4 tubos de la siguiente manera: blanco, estándar, muestra y control normal.

| | BLANCO | ESTANDAR | MUESTRA | CONTROL |
|---|---|---|---|---|
| AGUA DESTILADA | 20 µL | ---------- | ---------- | ---------- |
| ESTANDAR | ---------- | 20 µL | ---------- | ---------- |
| MUESTRA | ---------- | ---------- | 20 µL | ---------- |
| SUERO CONTROL | ---------- | ---------- | ---------- | 20 µL |
| REACTIVO | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |

En caso que los Espectrofotómetros no lean la cantidad de 1 mL, duplicar las cantidades.

- Mezclar e incubar de acuerdo a las indicaciones del fabricante.
- Leer a la longitud de onda indicada por el fabricante generalmente de 500 a 546 nm y de acuerdo al equipo utilizado.

## 7.5.6. FUENTES DE ERROR

- No llevar los reactivos a temperatura ambiente.
- Pipetas mal calibradas.
- Puntas en mal estado.
- No leer en la longitud de onda recomendada.
- Tubos sucios.
- Agua destilada de mala calidad.
- Reactivos vencidos o en mal estado.
- Pipeteado inadecuado.

## 7.5.7. FORMA DE REPORTE

Los valores de Ácido Úrico se reportan en mg/dL (Anexo 4).

Cálculo:

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Lectura de muestra}}{\text{Lectura del estándar}} \times \text{concentración del estándar (mg/dL)}$$

Se puede calcular usando factor de calibración:

$$\text{Factor de calibración} = \frac{\text{Concentración del estándar}}{\text{Lectura del estándar}}$$

$$\text{Ácido Úrico en mg/dL} = \text{Factor de calibración} \times \text{Lectura de la muestra}$$

La prueba es lineal hasta la concentración de 20 mg/dL.

Si la concentración de Ácido Úrico en la muestra es superior a estos límites, diluir la muestra 1+1 con solución salina fisiológica y repetir la determinación.

Multiplicar el resultado por 2.

Valor de referencia:

Hombre: 3.4 – 7.0 mg/dL.

Mujer: 2.4 – 5.7 mg/dL.

## 7.5.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

# 8. HEMATOLOGÍA

## 8.1 TOMA DE MUESTRA DE SANGRE CAPILAR PARA EXÁMENES HEMATOLÓGICOS

### 8.1.1. PROPÓSITO:

Obtener sangre capilar para realizar pruebas hematológicas.

### 8.1.2. MUESTRA REQUERIDA:

Sangre capilar, Obtener 5 capilares heparinizados.

### 8.1.3. MATERIALES:

- Torunda de algodón.
- Alcohol etílico (70%).
- Marcador de vidrio.
- Capilares heparinizados.
- Plastilina para sellar capilares con su respectiva base numerada.
- Lancetas desechables.
- Láminas esmeriladas.
- Guantes descartables.

### 8.1.4. PROCEDIMIENTO:

- Lavar, secar las manos y colocar los guantes.
- Explicarle al paciente sobre el procedimiento que se le va a realizar.
- Seleccionar el dedo anular de la mano a puncionar y dar masaje para mejorar la irrigación sanguínea.
- Realizar asepsia con torunda de algodón humedecida con alcohol etílico al 70%.
- Con lanceta desechable efectuar la punción limpia y rápida de 2 a 3mm. de profundidad.
- Eliminar la primera gota de sangre con un trozo de algodón seco.
- Colocar el capilar de modo que penetre la sangre libremente.

- Cuando se ha obtenido la cantidad de sangre adecuada se presiona el lugar de la punción con un trozo de algodón humedecido con alcohol etílico al 70% hasta que cese el sangramiento.
- Colocar los capilares verticalmente en la plastilina.

### 8.1.5. FUENTES DE ERROR:

- Presión excesiva hace que salga líquido intersticial que puede diluir la muestra y acelerar la coagulación.
- Punción inadecuada.
- Puncionar con el dedo húmedo.

### 8.1.6. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.2 TOMA DE MUESTRA DE SANGRE VENOSA PARA EXÁMENES HEMATOLÓGICOS

### 8.2.1. PROPÓSITO:

Obtener sangre venosa para realizar pruebas hematológicas.

### 8.2.2. MUESTRA REQUERIDA:

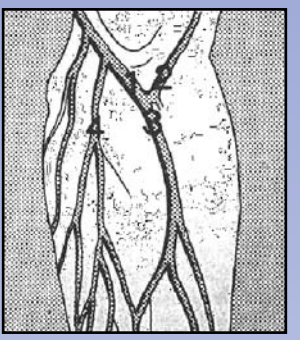
De 2 a 3 mL de sangre venosa con anticoagulante para hematología (se emplean de 1 mg ± de EDTA por mL de sangre).

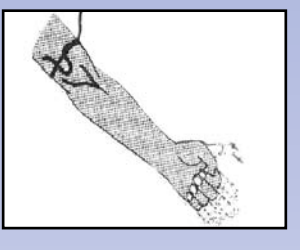
### 8.2.3. MATERIALES:

- Jeringa estéril para extraer 3 mL con aguja 21 X 1 ½ o sistema de extracción al vacío.
- Torundas de algodón.
- Alcohol etílico (70%).
- Marcador de vidrio.
- Láminas esmeriladas.
- Torniquete.
- Tubos con anticoagulante 12 x 75 mm y tapón de hule o tubos del sistema de extracción al vacío.
- Gradilla.
- Guantes decartables.

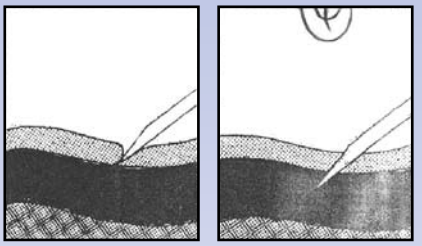
### 8.2.4. PROCEDIMIENTO:

- Lavar, secar las manos y colocarse los guantes.
- Identificar el tubo y la lámina adecuadamente.
- Explicar al paciente sobre el procedimiento que se le va a realizar.
- Sentar cómodamente al paciente para la extracción tomando en cuenta que el área de sangría debe contar con suficiente iluminación.





- Seleccionar la vena apropiada para la punción.
- Realizar asepsia con torunda de algodón humedecida con alcohol etílico al 70% de adentro hacia fuera.
- Colocar el torniquete firmemente alrededor del brazo, y pedir al paciente que abra y cierre la mano varias veces para favorecer la dilatación de las venas.
- Proceder a puncionar la vena seleccionada.
- Colocar la aguja con el bisel hacia arriba sobre la vena a puncionar.
- Introducir la aguja en el centro de la vena y penetrar a lo largo de la vena de 1 a 1.5 cm.
- Tirar hacia atrás el émbolo de la jeringa muy lentamente para que penetre la sangre en la jeringa hasta llenar con



la cantidad de sangre necesaria. Si utiliza sistema de sangrado al vacío introducir el tubo Sen el dispositivo (holder) de manera que al ejercer presión se atraviese el extremo inferior de la aguja, para que la sangre fluya hacia el tubo por efecto del vacío.

- Retirar torniquete tirando del extremo doblado y colocar una torunda de algodón sobre la piel donde se encuentra oculta la punta de la aguja.
- Extraer la aguja con un movimiento rápido por debajo de la pieza de algodón, pedir al paciente que presione firmemente la torunda durante 3 minutos con el brazo extendido.
- Separar la aguja de la jeringa o del holder cuidadosamente, llenar los tubos deslizando la sangre por las paredes del mismo.
- Mezclar la sangre invirtiendo los tubos suavemente varias veces.
- Verificar nuevamente la identificación del paciente.

### 8.2.5. FUENTES DE ERROR:

- Mezcla inadecuada de la sangre.
- Relación inadecuada de sangre y anticoagulante.
- Prolongada aplicación del torniquete.
- Extracción violenta de la sangre, que puede provocar hemólisis.
- Empleo de tubos mal lavados.
- Dejar los tubos con muestras destapados (evaporación del plasma, y contaminación).

### 8.2.6. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.3 PREPARACIÓN Y TINCIÓN DEL FROTIS SANGUÍNEOS

### 8.3.1. PROPÓSITO:

Obtención de un frotis sanguíneo coloreado para el reconocimiento de los elementos celulares de la sangre.

### 8.3.2. MUESTRA REQUERIDA:

Sangre capilar o venosa recién extraída sin anticoagulante o sangre con anticoagulante EDTA.

### 8.3.3. MATERIAL Y REACTIVOS:

- Portaobjeto de vidrio con extremo esmerilado.
- Alcohol etílico al 70%.
- Torunda de algodón.
- Marcador de vidrio.
- Bandeja o soporte para la coloración.
- Aceite de inmersión.
- Reloj marcador.
- Perilla de hule.
- Papel toalla.
- Guantes descartables.
- Solución de Wright.
- Buffer pH 6.8.

### 8.3.4. PROCEDIMIENTO:

- Antes de utilizar los portaobjetos de vidrio, limpiarlos con alcohol y aclarar con agua.
- Identificar la lámina adecuadamente en el extremo del portaobjeto (parte esmerilada).
- Colocar en el portaobjeto una pequeña gota de sangre de 2 mm de diámetro a una distancia de 2 a 3 mm del extremo del portaobjeto y hacer rápidamente el extendido. (Anexo 6)

- Para evitar la coagulación; se puede utilizar sangre con EDTA. (Siempre conviene realizar cuando menos dos frotis).
- Poner la lámina extensora a un ángulo de 45° del portaobjeto y moverla hacia atrás para que haga contacto con la gota, que debe extenderse rápidamente.
- El extendido debe tener unos 30 mm. de largo. (Anexo 6).
- Dejar secar a temperatura ambiente.
- Colocar la preparación de sangre, completamente seca, sobre un soporte. (no necesita fijación previa pues el metanol del Wright fija la preparación).
- Cubrir todo el frotis con coloración de Wright y dejarlo en reposo 3 minutos (o el tiempo necesario según la maduración del colorante).
- Agregar una cantidad igual de buffer (pH 6.8) evitando derramar el Wright, mezclar con una perilla de hule con suavidad para asegurar una mezcla uniforme, aparecerá una película verde metálico, dejarlo en reposo por 5 minutos o el tiempo necesario según la maduración del Wright.
- Lavar la lámina con agua de chorro hasta quitar el exceso de la mezcla.
- Limpiar la parte posterior del portaobjeto con una torunda de algodón impregnada con alcohol, para eliminar todos los restos de colorante.
- Dejar secar la preparación al aire colocando la lámina en posición vertical en una rejilla para portaobjeto.

### 8.3.5. FUENTES DE ERROR:

- Falta de mezclado de la sangre previo a la elaboración del frotis
- Irregularidades en la superficie del frotis y espacios en blanco.
- Que el frotis se extienda hasta el borde de la lámina.
- Extendidos gruesos o muy delgados.
- Tiempos de coloración inadecuados.
- Mal lavado de la lámina.
- Buffer con pH muy ácido o alcalino.
- Falta de filtración del colorante del Wright.
- Uso de portaobjetos con polvo, grasa o huellas dactilares.

### 8.3.6. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.4 EXAMEN MICROSCÓPICO DEL FROTIS SANGUÍNEO PARA FÓRMULA DIFERENCIAL

### 8.4.1. PROPÓSITO:

Establecer y evaluar las características morfológicas de cada tipo de células y ver la frecuencia de las diferentes líneas leucocitarias.

### 8.4.2. MUESTRA REQUERIDA:

Frotis de Sangre coloreado.

### 8.4.3. MATERIALES:

- Frotis de sangre coloreado.
- Aceite de inmersión.
- Papel limpia lente.
- Guantes descartables.

### 8.4.4. EQUIPO:

- Microscopio con objetivo 40x y 100x.
- Contómetro diferencial manual.

### 8.4.5. PROCEDIMIENTO:

- La observación inicia con el objetivo 40x para obtener un cuadro general del número de células, la distribución de las mismas y la calidad de la tinción.
- Seleccionar las áreas a observar con objetivo de inmersión 100x buscando una distribución homogénea de las células.
- Realizar el recuento diferencial identificando las características y grado de desarrollo de las células; estos se reportan en porcentajes para lo cual tiene que contarse un mínimo de 100 leucocitos estos pueden convertirse en número de células por $mm^3$ (número absoluto).
- Observar en los eritrocitos: el tamaño, la forma, la reacción de coloración, las inclusiones intracitoplasmáticas y la presencia del núcleo (eritroblastos).

### 8.4.6. FUENTES DE ERROR:

- Observación de los leucocitos en los extremos de la lámina.
- Realizar el recuento diferencial con un objetivo que no sea el de inmersión.
- Hacer la fórmula diferencial en base de menos de 100 células blancas.

### 8.4.7. FORMA DE REPORTE:

El recuento diferencial de leucocitos se reporta en términos porcentuales según las diferentes líneas observadas.

Valores de referencia:

| LEUCOCITOS | NIÑOS (1-8 años) | ADULTOS |
|---|---|---|
| | | |
| NEUTRÓFILOS SEGMENTADOS | 20 – 45 % | 60 – 70 % |
| NEUTRÓFILOS EN BANDA | 0 – 4 % | 2 – 6 % |
| LINFOCITOS | 40 – 60 % | 15 – 40 % |
| EOSINÓFILOS | 1 – 5 % | 1 – 4 % |
| BASÓFILOS | 0 – 1 % | 0 – 1 % |
| MONOCITOS | 2 – 8 % | 2 – 8 % |

Las cifras de Leucocitos también pueden expresarse en valores absolutos, aplicando la siguiente formula:

$$\frac{\text{NÚMERO DE GB X C/U DE LA FORMULA DIFERENCIAL (N, L ,B, M, E)}}{100\ \%}$$

GB: Glóbulos Blancos.

N: Neutrófilos.

L: Linfocitos.

B: Basófilos.

M: Monocitos.

E. Eosinófilos.

Esto nos dará como resultado el valor absoluto de leucocitos por milímetro cúbico, donde la suma es igual al recuento del total de los leucocitos.

### 8.4.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.5. FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA

### 8.5.1. PROPÓSITO:

Observación detallada de todos los elementos de la sangre, con el fin de evaluar la condición hematológica del paciente.

### 8.5.2. MUESTRA REQUERIDA:

Frotis de sangre periférica coloreado con Wright.

### 8.5.3. MATERIALES:

- Aceite de inmersión.
- Papel limpia lente.

### 8.5.4. EQUIPO:

- Microscopio con objetivo 40x y 100x.

### 8.5.5. PROCEDIMIENTO:

Cada técnico debe aprender a observar todos los elementos del frotis mientras lleva a cabo el recuento diferencial. Debe formar el hábito de verificar los puntos siguientes.

ERITROCITOS:

- Tamaño: microcitosis, macrocitosis y normocitos. El grado de variación en tamaño se reduce al término de anisocitosis.
- Forma: esferocitos, codocitos, eliptocitos, megalocitos, drepanocitos, acantocitos, equinocitos etc. El grado de variación en forma se reduce al término de poiquilocitosis.
- Concentración de hemoglobina: Grado importante de hipocromía, e hipercromía aparente, observar el aumento aparente o evidente de la proporción de glóbulos rojos policromáticos.
- Otros hallazgos anormales: La policromatofilia (basófilia difusa), punteado basófilo, anillo de Cabot, cuerpos de Howell-Joly, etritroblastos, las células parasitadas y la formación de Rouleaux.

LEUCOCITOS:

- Observar la madurez de los leucocitos, el número promedio, anormalidades morfológicas, signos de malignidad, la variante de leucocitos que predominan.
- Comparar el recuento de leucocitos por milímetro cúbico con lo observado en el frotis.

PLAQUETAS:

- Observar si se encuentran en cantidades aproximadamente normales (de tres a ocho plaquetas por cien glóbulos rojos). La disminución de las plaquetas en un frotis puede deberse a la manera de realizarlo, pero su falta o su disminución considerable, en un frotis bien hecho pueden hacer sospechar de trombocitopenia. Debe observarse si las plaquetas que se encuentran parecen normales o existen muchas formas gigantes (macroplaquetas) o notablemente pequeñas.
- Comparar el recuento de plaquetas por milímetro cúbico con lo observado en el frotis.

## 8.5.6. FUENTES DE ERROR:

- Observar los elementos celulares en la parte más gruesa del frotis.
- Coloración defectuosa del frotis.
- Observar el extendido con un objetivo diferente al de inmersión.
- Equipo en mal estado.
- Aceite de inmersión de mala calidad o en malas condiciones.

## 8.5.7. FORMA DE REPORTE:

LÍNEA ROJA:

- Anisocitosis: leve, moderada o severa (reportar predominio).
- Poiquilocitosis: leve, moderada o severa (reportar predominio).
- Hipocromia: leve, moderada o severa.
- Otros: reportar cualquier hallazgo anormal.

LÍNEA BLANCA:

- Madurez de los leucocitos.
- Variante de leucocitos que predomina.
- Alteraciones encontradas en los leucocitos.

LÍNEA PLAQUETARIA:

- Cantidad.
- Tamaño: macro o micro plaquetas.

Valores de referencia:

Eritrocitos normocrómicos.

Leucocitos maduros sin presencia de anormalidades.

Plaquetas distribución y tamaño normal, comparar los observado en recuento con $mm^3$ .

## 8.5.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.6. HEMATOCRITO

### 8.6.1. PROPÓSITO:

El hematocrito es el volumen de eritrocitos expresados en porcentaje del volumen de sangre como una fracción del volumen de sangre, para determinar si un paciente presenta o no anemia.

### 8.6.2. MUESTRA REQUERIDA:

Sangre venosa con EDTA o sangre capilar tomada directamente en tubos capilares heparinizados.

### 8.6.3. MATERIALES:

- Tubos capilares heparinizados o no heparinizados.
- Plastilina.
- Lector de hematocrito.

### 8.6.4. EQUIPO:

- Micro centrífuga para hematocrito con una fuerza de 10,000 - 13,000 rpm.

### 8.6.5. PROCEDIMIENTO:

- Llenar el tubo de micro hematocrito mediante acción capilar, ya sea por una punción que hace que la sangre fluya libremente o por sangre venosa bien mezclada. Los tubos capilares deben estar llenos en dos terceras partes.
- El extremo opuesto y exento de sangre se llena con plastilina para sellarlo.
- Colocar el capilar sellado en una centrífuga para el micro hematocrito, con el extremo abierto hacia el centro de la microcentrífuga.
- Centrifugar a velocidades de 10,000 a 13,000 rpm por 5 minutos.
- Después de centrifugado leer en la tabla para hematocrito haciendo coincidir el menisco del plasma con el final de la marca de la tabla y el fondo del empacado de eritrocitos que coincidan con el inicio de la marca de la tabla.
- Leer siempre en la dirección de la numeración ascendente cuantos mL de empacados de eritrocitos tiene la muestra.

## 8.6.6. FUENTES DE ERROR:

- Presencia del líquido intersticial si se obtiene de una punción dactilar.
- Éstasis prolongado en la toma de la muestra.
- Exceso de anticoagulante.
- Llenado incorrecto del tubo capilar.
- Mezcla inadecuada de la sangre.
- Incluir en la lectura la capa de leucocitos.
- Lectura del hematocrito en posición paralela.
- Evaporación del plasma durante la centrifugación.
- Dejar transcurrir el tiempo sin hacer la lectura.
- Formación de burbujas en el plasma.
- Centrifugación inadecuada.
- Instrumento de lectura en malas condiciones o deteriorados.

## 8.6.7. FORMA DE REPORTE:

Se reporta el volumen de eritrocitos empacados en porcentaje del volumen total.

Valores de referencia:

| | |
|---|---|
| Hombre: | 42%-51% |
| Mujer: | 38%-42% |
| Niños: | 33%-38% |
| Recién nacidos: | Hasta 55% |

## RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.7. HEMOGLOBINA
## MÉTODO DE LA CIANAMETAHEMOGLOBINA

### 8.7.1. PROPÓSITO:

Evaluar la presencia y la severidad de la anemia. Este método consiste en efectuar una dilución exacta de sangre en una solución que contiene ferrocianuro de potasio, que convierte la hemoglobina en cianametahemoglobina y se compara colorimetricamente con una solución patrón de cianametahemoglobina de concentración exacta y estable.

### 8.7.2. MUESTRA REQUERIDA:

Sangre venosa con EDTA o sangre capilar.

### 8.7.3. MATERIAL Y REACTIVO:

- Cubetas estandarizadas de lectura.
- Pipeta automática de 20 µL.
- Tubos de 13 x 100 mm.
- Gradilla para tubos.
- Marcador de vidrio.
- Puntas plásticas.
- Papel parafilm.
- Guantes descartables.
- Pipeta serológica.
- Propipeta o bulbo de hule.
- Reactivo de cianametahemoglobina.
- Estándar de hemoglobina.

### 8.7.4. EQUIPO:

- Espectrofotómetro.
- Mezclador mecánico (opcional).

Reloj marcador.

### 8.7.5. PROCEDIMIENTO:

- Hacer una serie de tres tubos con el estándar de hemoglobina para calcular el factor de calibración.
- Colocar al primer tubo 5 mL de estándar puro.
- Colocar al segundo tubo 2.5 mL de estándar puro.
- Colocar al tercer tubo 1 mL de estándar puro.
- Llevar al volumen de 5 mL con cianametahemoglobina el segundo y tercer tubo.
- Mezclar y dejar reposar 10 minutos.
- Leerlos en espectrofotómetro a 540 nm y anotar la densidad óptica de los tubos.
- Obtener la concentración de cada tubo en gramos por decilitros.
- Dividir la concentración de cada tubo entre la densidad óptica.
- Sumar los 3 factores y sacar un promedio.
- Este será el factor de calibración por el cual se multiplicarán las densidades ópticas de las muestras. (Anexo 7)
- La preparación de la cianametahemoglobina estará sujeto a las indicaciones del fabricante del reactivo.
- Medir exactamente 5 mL solución de cianametahemoglobina en un tubo de 13x100 mm.
- Con pipeta automática colocar 20 microlitos de sangre.
- Mezclar bien y dejar reposar por 10 minutos.
- Transferir a la cubeta de lectura y leer en el espectrofotómetro a 540 nm.

### 8.7.6. FUENTES DE ERROR:

- Toma inadecuada de muestra.
- Éstasis prolongada que resulta de dejar un torniquete en el brazo.
- Presencia de líquido insterticial que diluye la muestra de sangre.
- Mezclar incorrectamente de la muestra.
- Errores de pipeteado o dilución.

- Coagulación de la muestra.
- Sangre hiperlipémica (afecta el color)
- Numero alto de glóbulos blancos por mm. cúbico.
- Calibración incorrecta.
- Reactivo expuesto a la luz.

## 8.7.7. FORMA DE REPORTE:

La hemoglobina se reporta en gr/dL.

Calculo:

$$\frac{\text{Lectura de muestra x Concentración de stándar}}{\text{Lectura del estándar}}$$

Valores de referencia:

| | |
|---|---|
| Hombre: | 14.0-17.0 gr/dL |
| Mujer: | 12.5-15.0 gr/dL |
| Niños: | 11.0-13.0 gr/dL |
| Recién nacidos: | Hasta 18 gr/dL |

## 8.7.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.8. RECUENTO DE LEUCOCITOS

### 8.8.1. PROPÓSITO:

Evaluar la cantidad de células nucleadas que se encuentran en la muestra de sangre (leucocitos y eritroblastos).

### 8.8.2. MUESTRA REQUERIDA:

2-3 mL de sangre venosa con EDTA o sangre capilar.

### 8.8.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Tubos de 12x75 mm.
- Cámara de Neubauer.
- Laminilla para cámara de Neubauer.
- Pipeta automática de 20 µL.
- Puntas plásticas.
- Guantes descartables.
- Gradillas para tubos.
- Acido acético glacial al 3%.

### 8.8.4. EQUIPO:

- Microscopio.
- Contómetro manual.
- Agitador.

### 8.8.5. PROCEDIMIENTO (Técnica en tubo):

- Colocar 0.4 mL de ácido acético glacial al 3% en un tubo 12x75mm.
- Mezclar perfectamente la sangre, y tomar exactamente 20 µL con pipeta automática. Y colocarla en el tubo que contiene el acido acético glacial al 3 % lo que hace una dilución de la sangre 1:20.

- Mezclar por un mínimo de 2 minutos.
- Dispensar con pipeta automática o con capilar la dilución en el borde de la laminilla para cámara Neubauer. (Anexo 8)
- Esperar 3 - 5 minutos Para que la célula se estabilicen.
- Luego se procede a contar los glóbulos blancos en el microscopio con el objetivo 10x y con poca luz en las dos áreas primarias opuestas de la cámara, contar las células que aparecen. Cuando el trabajo no es excesivo se cuentan las cuatro áreas primarias para tener un dato más exacto.
- En caso de una leucopenia de menos de 1,000 leucocito/mm³, la dilución se hace 1:10.
- En caso de una leucocitosis de mas de 30,000 leucocito/mm³, la dilución se hace 1:200 con diluyente de leucocitos.

### 8.8.6. FUENTES DE ERROR:

- Desintegración de los leucocitos cuando se deja la muestra mucho tiempo sin procesar.
- Pipeta mal calibradas.
- Dilución incorrecta.
- Llenado incorrecto de la cámara.
- Presencia de levaduras o suciedad en el liquido de dilución.
- Calculo erróneo de las células contadas.
- Usar cámara y laminilla sucios y húmedos.
- Usar laminillas corrientes.
- Puntas defectuosas.
- Cámaras de mala calidad.

### 8.8.7. FORMA DE REPORTE:

Reportar el número de leucocitos contados en las dos áreas opuestas de la cámara y reportar por mm³.

Cálculos:

- Cuando la dilución es 1:20 el numero de leucocitos contados en las dos áreas primarias opuestas de la cámara se multiplica x 100 = Nº de leucocitos/mm³, y se multiplicará por 50 si se cuentan 4 área primarias.
- Cuando la dilución es 1:10 el factor por el cual se multiplican los leucocitos, será 50 si se cuentan dos áreas primarias opuestas y será 25 si se cuentan 4 áreas primarias.
- Cuando la dilución es 1:200 y se cuenta toda el área central, el factor será 2,000.

Cuando en una fórmula diferencial se obtienen más de 10 eritroblastos por 100 células blancas contadas, se hará la siguiente corrección, debido a que el líquido de dilución de los leucocitos no destruye el núcleo de los eritroblastos y cuando se efectúa el recuento se cuenta como si fueran leucocitos.

Corrección

$$\frac{\text{Nº de células contadas en cámara x 100}}{\text{100 + \% de eritroblastos encontrados}} = \text{Nº leucocitos verdaderos}$$

Si en una formula diferencial salieron 80% de eritroblastos, en realidad se han contado 180 células nucleadas, luego de 180 células Nucleadas 80 son eritroblastos, en el número de leucocitos contados se obtendrá una cantidad “X” de eritroblastos.

Valores de referencia:

| | |
|---|---|
| Adultos: | 5,000-10,000 x mm³ |
| Niños: | 5,000-12,000 x mm³ |
| Recién nacidos: | 10,000-30,000 x mm³ |

## 8.8.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.9. RECUENTO DE PLAQUETAS (Método directo en cámara)

### 8.9.1. PROPÓSITO:

Evaluar la cantidad de plaquetas existentes en la sangre para lo cual se diluye una muestra de sangre con una sustancia con un líquido diluyente que hace a las plaquetas más visibles.

### 8.9.2. MUESTRA REQUERIDA:

Sangre venosa con EDTA o sangre capilar.

### 8.9.3. MATERIAL Y REACTIVOS:

- Tubos de vidrios 12x75mm.
- Cámara Neubauer.
- Laminilla para cámara de Neubauer.
- Tubo capilar.
- Papel filtro.
- Caja de Petri.
- Pipeta automática de 10 µL.
- Puntas plásticas.
- Guantes descartables.
- Gradilla para tubos.
- Solución de Gower.

### 8.9.4. EQUIPO:

- Microscopio.
- Contómetro manual.
- Reloj marcador.

## 8.9.5. PROCEDIMIENTO (técnica en tubo):

- Colocar 2 mL de reactivo de Gower en un tubo de 12 x75 mm.
- Mezclar bien la muestra de sangre varias veces.
- Colocar exactamente 10 µL de sangre en el tubo que contiene el diluyente.
- Mezclar por un mínimo de 3 minutos.
- Dispensar con pipeta automática o con capilar la dilución en el borde de la laminilla de la cámara Neubauer. (Anexo 8)
- Colocar la cámara en una caja de petri sobre un disco del papel filtro húmedo, para evitar la evaporación, se tapa y se espera de 10 a 20 minutos para que se depositen bien las plaquetas.
- Proceder al conteo de las plaquetas en el microscopio con el objetivo 40x y poca luz.
- Contar toda el área central.
- Observar las plaquetas como pequeñas partículas de gran refringencia.
- Correlacionar el recuento de plaquetas obtenido en la cámara con las plaquetas que se observan en el frotis.

## 8.9.6. FUENTES DE ERROR:

- Desintegración de las plaquetas cuando se deja mucho tiempo la muestra sin procesar, y adherencia a las paredes del tubo de vidrio.
- Tomar la muestra de sangre en área con cianosis.
- Pipetas mal calibradas.
- Dilución incorrecta.
- Mal almacenamiento del líquido de dilución el cual debe conservarse en refrigeración.
- Presencia de bacterias en el líquido de dilución.
- Falta de filtración del diluyente antes de su uso.
- Cámara y laminilla sucias o húmedas.
- Uso de laminilla corriente.
- No comparar el recuento directo con el indirecto.

### 8.9.7. FORMA DE REPORTE

Las plaquetas contadas en la cámara se multiplican por el factor correspondiente y se reportan por $mm^3$ de sangre.

Cálculo:

Nº de plaquetas contadas X 2,000 = Nº de plaquetas/$mm^3$

Valores de referencia:

150,000-450,000/$mm^3$

### 8.9.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.10. ESTIMADO DEL NÚMERO DE PLAQUETAS (Método indirecto)

### 8.10.1. PROPÓSITO:

Evaluar el número de plaquetas presentes en la sangre, a través de la observación de un frotis coloreado, con el fin de comparar con el conteo directo.

### 8.10.2. MUESTRA REQUERIDA:

Frotis de sangre coloreado con Wright.

### 8.10.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Papel limpia lentes.
- Aceite de inmersión.

### 8.10.4. EQUIPO:

- Contómetro.
- Microscopio.

### 8.10.5. PROCEDIMIENTO:

- Colocar la lámina coloreada en la platina del microscopio.
- Observar con el objetivo 40x.
- Colocar una gota de aceite de inmersión en la lámina coloreada.
- Observar con el objetivo 100x.
- Contar las plaquetas en 10 campos situados entre el cuerpo y la cola del frotis (los campos deben contener aproximadamente 100 glóbulos rojos).

### 8.10.6. FUENTES DE ERROR:

- Hacer el conteo en los márgenes del frotis.
- Aceite de inmersión de mala calidad o contaminado.

- No comparar el recuento indirecto con el directo.

## 8.10.7. FORMA DE REPORTE:

Calcular el número de plaquetas de la siguiente forma:

$$\text{Estimado de plaquetas mm}^3 = \frac{\text{No. Plaquetas observadas X No. Glóbulos Rojos mm}^3}{1{,}000}$$

$$\text{No. Glóbulos Rojos mm}^3 = \frac{\text{Hematocrito + 5\% del Hematócrito}}{100{,}000}$$

## 8.10.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.11. RECUENTO DE RETICULOCITOS

### 8.11.1. PROPÓSITO:

Evaluar el funcionamiento de la médula ósea ya que los reticulocitos son glóbulos rojos jóvenes que constituyen un índice de la respuesta eritropoyética.

### 8.11.2. MUESTRA:

Sangre venosa con EDTA o sangre capilar.

### 8.11.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Tubos de 12 x 75 mm.
- Capilares.
- Láminas portaobjeto en buen estado.
- Gradilla para tubos.
- Guantes descartables.
- Azul de cresil brillante.

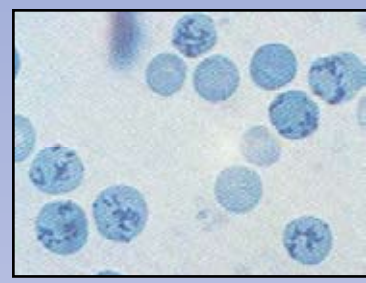
### 8.11.4. EQUIPO:

- Microscopio.
- Baño de María o estufa a 37° C.
- Contómetro manual.

### 8.11.5. PROCEDIMIENTO:

- Verter un capilar lleno de azul cresil brillante y dos capilares llenos de sangre en un tubo 12x75 mm.
- Mezclar bien e incubar a 37°C o a temperatura ambiente durante 15 minutos.
- Preparar frotis de la mezcla de la forma usual, dejar secar.
- Leer al microscopio con objetivo de inmersión.

Contar 10 campos en donde se observen 100 eritrocitos por campo, anotar los reticulocitos observados.



## 8.11.6. FUENTES DE ERROR:

- No incubar los capilares a 37°C.
- Colorante con precipitados.
- Observar en campos donde los eritrocitos no estén uniformemente distribuidos.

## 8.11.7. FORMA DE REPORTE:

Se reportan los reticulocitos por cada 100 eritrocitos observados.

Cálculo:

$$\%\ \text{Reticulocitos} = \frac{\text{Total de reticulocitos observados en 10 campos}}{10}$$

Valores de referencia:

| | |
|---|---|
| Adultos: | 0.5% - 1.5% |
| Recién nacidos: | 2.5% - 6.5% |

## 8.11.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.12. VELOCIDAD DE ERITROSEDIMENTACIÓN

### 8.12.1. PROPÓSITO:

La velocidad de Eritrosedimentación mide la velocidad de sedimentación de los glóbulos rojos en el plasma.

### 8.12.2. MUESTRA REQUERIDA:

3 mL de Sangre venosa con EDTA.

### 8.12.3. MATERIALES:

- Agujas Wintrobe.
- Tubos Wintrobe.
- Soporte para tubos de sedimentación.
- Guantes descartables.

### 8.12.4. EQUIPO:

- Reloj marcador.

### 8.12.5. PROCEDIMIENTO:

- Mezclar la muestra de sangre.
- Llenar un tubo de Wintrobe hasta la señal cero, introduciendo cuidadosamente la aguja de Wintrobe adaptada a una jeringa, conteniendo la sangre hasta el fondo del tubo, cuidar de que no formen burbujas.
- Colocar en el soporte, en posición perfectamente vertical durante 1 hora.
- A la hora exacta leer de arriba hacia abajo el valor numérico en mm, midiendo la distancia que hay entre el punto más bajo del menisco de la superficie y el límite superior del sedimento de glóbulos rojos; los mm, leídos corresponden a la velocidad de sedimentación por hora.

Toda eritrosedimentación con hematocrito menor de 40%, se corregirá usando la tabla de corrección de la manera siguiente:

- Llevar valores de hematocrito y sedimentación a la tabla de corrección.
- Tome el punto dónde se interceptan ambos, este punto caerá sobre una de las líneas curvas de dicha tabla, la que deberá seguir hacia la derecha y abajo, hasta el punto de intercepción con la línea negra mas gruesa, que corresponde al valor de hematocrito de 40%.
- Lea a la derecha de la tabla el valor de eritrosedimentación corregida, este valor es el que se deberá reportar.

## 8.12.6. FUENTES DE ERROR:

- Dejar transcurrir más de 2 horas entre la toma de la muestra y el montaje de la prueba.
- Efectuar la prueba en temperaturas muy altas o muy bajas.
- No leer a la hora exacta.
- Presencia de coágulo en la sangre.
- No realizar la debida corrección cuando es necesaria.
- No hacer una buena mezcla de la muestra.
- Que el tubo no este en posición completamente vertical.
- La presencia de burbujas al llenar el tubo.

## 8.12.7. FORMA DE REPORTE:

Velocidad de eritrosedimentación se expresa en milímetros por hora (mm/h).

Valores de referencia:

| | |
|---|---|
| Mujeres: | 0-15 mm/h |
| Hombres: | 0-7 mm/h |
| Niños: | 0-20 mm/h |
| Recién nacidos: | 0-2 mm/h |

## 8.12.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.13. TIEMPO DE SANGRAMIENTO

### 8.13.1. PROPÓSITO:

Evaluar el funcionamiento y número de plaquetas así como la contractilidad capilar.

### 8.13.2. MUESTRA:

Sangre capilar del dedo o del lóbulo de la oreja.

### 8.13.3. MATERIALES:

- Lanceta descartable estéril.
- Papel filtro.
- Torundas de algodón humedecidas con alcohol.
- Guantes descartables.

### 8.13.4. EQUIPO:

- Cronómetro.

### 8.13.5. PROCEDIMIENTO:

- Lavar y secar las manos y colocarse los guantes.
- Explicar al paciente sobre el procedimiento que se le va a realizar.
- Desinfectar cuidadosamente el área de punción.
- Puncionar el dedo índice a modo que corte transversalmente la dirección de las huellas digitales, o el lóbulo de la oreja.
- Secar con el papel filtro cada medio minuto hasta que cese el sangramiento.
- Realizar el secado en forma descendente o circular sin tocar la piel.
- Anotar el tiempo desde que se punciona hasta que cesa el sangramiento y reportar.

## 8.13.6. FUENTES DE ERROR:

- Presionar el dedo para que fluya la sangre.
- Rozar el papel filtro al dedo.
- Punción inadecuada.
- No marcar el tiempo en el momento de la punción.
- Puncionar el área seleccionada cuando aún está húmeda.

## 8.13.7. FORMA DE REPORTE:

Reportar el tiempo de sangrado en minutos y segundos.

### Valor de referencia:

1 - 4 minutos.

## 8.13.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.14. TIEMPO DE COAGULACIÓN. MÉTODO DE LEE Y WHITE

### 8.14.1. PROPÓSITO:

Evaluar en forma global el mecanismo intrínseco de la coagulación.

### 8.14.2. MUESTRA:

Sangre venosa.

### 8.14.3. MATERIALES:

- Jeringas descartables.
- Tubos 12x75mm.
- Torundas de algodón.
- Gradillas para tubos.
- Alcohol etílico al 70%.
- Torniquete.
- Guantes descartables.

### 8.14.4. EQUIPO:

- Baño de María a 37°C.
- Reloj marcador.
- Termómetro.

### 8.14.5. PROCEDIMIENTOS:

- Lavar y secar las manos y colocarse los guantes.
- Identificar el tubo de acuerdo a la solicitud.
- Explicar al paciente sobre el procedimiento que se le va a realizar.
- Desinfectar cuidadosamente el área de punción.

- Obtener sangre venosa con una jeringa descartable y estéril.
- Poner en marcha el cronómetro en el momento en que la sangre penetre en la jeringa.
- Verter cuidadosamente 1 CC de sangre en 3 tubos, mantenerlos en baño María a 37ºC.
- Invertir cada medio minuto (sin agitar) los 3 tubos hasta que cada uno pueda invertirse sin que se vierta su contenido.
- Tomar el tiempo de coagulación de cada uno de los tubos y luego sacar un promedio de los tres.

## 8.14.6. FUENTES DE ERROR

- Uso de material mal lavado.
- No tomar el tiempo en el momento de la extracción.
- Temperatura del Baño de María inadecuada.
- No cumplir con los intervalos de tiempo indicados en el procedimiento.
- Invertir bruscamente el tubo.

## 8.14.7. FORMA DE REPORTE:

El tiempo de coagulación se reporta en minutos.

### Valores de referencia:

5-10 minutos.

## 8.14.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.15. CONCENTRADO DE STROUT

### 8.15.1. PROPÓSITO:

Concentrar los parásitos por medio de la centrifugación repetida de tal modo que permita observarlos microscópicamente.

### 8.15.2. MUESTRA REQUERIDA:

5 – 10 mL de sangre venosa sin anticoagulante o sangre en tubos con anticoagulante.

La sangre se obtendrá posterior a los 6 días de la picadura de la chinche.

### 8.15.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Jeringas descartables.
- Tubos de 13x100 mL.
- Pipeta Pasteur.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Torundas de algodón humedecidas con alcohol.
- Aplicadores de madera.
- Torniquete.
- Guantes descartables.
- Colorante Giemsa o Wright.
- Buffers pH 6.8.

### 8.15.4. EQUIPO:

- Centrífuga.
- Microscopio.
- Reloj marcador.

## 8.15.5. PROCEDIMIENTO:

- Desinfectar cuidadosamente el área de punción.
- Extraer 5 – 10 mL de sangre venosa. Dejar que la sangre se coagule y que el coágulo se retraiga espontáneamente (si se toma sin anticoagulante); o centrifugar la sangre con anticoagulante.
- Decantar el suero o plasma así obtenido a un tubo de centrífuga.
- Centrifugar a 1000 rpm por 3 minutos, para separa los glóbulos rojos.
- Centrifugar sobrenadante a 3000 rpm por 1 minuto.
- Observar el sedimento entre porta y cubreobjeto con objetivo 10x y 40x, buscando formas móviles.
- Siempre que una prueba resulte positiva hacer lámina (gota gruesa o frotis) coloreada por Giemsa o Wright para enviar a control de calidad al Laboratorio Central.
- Es aconsejable examinar de 3 a 4 preparaciones para mayor sensibilidad del examen.
- Si en la preparación se obtiene un resultado negativo, repetir el examen por segunda vez, si esta resultara negativa nuevamente se realizará una tercera prueba, este muestreo se realizará con intervalos de 5 días.

## 8.15.6. FUENTES DE ERROR:

- Centrifugación inadecuada.
- Extracción inadecuada del sobrenadante.
- Realizar la prueba en la fase crónica después de los 30 días o antes de los 6 días posteriores a la picadura.

## 8.15.7. FORMA DE REPORTE:

“Se observa Trypanosoma cruzi” cuando se observa presencia del parásito en la preparación.

“No se observa Trypanosoma cruzi en la presente preparación”. Cuando en la preparación no se observa ningún parásito.

## 8.15.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 8.16. GOTA GRUESA

Este procedimiento no se desarrolla en este manual, por existir a nivel nacional el “Manual de Procedimientos Técnicos para el Diagnóstico Microscópico de la Malaria, Primera Edición año 2007”, para realizar el procedimiento de gota gruesa se deberá consultar lo contemplado en el mencionado manual.

# 9. INMUNOLOGÍA

## 9.1. TOMA DE MUESTRA DE SANGRE VENOSA PARA EXÁMENES DE INMUNOLOGÍA

### 9.1.1. PROPÓSITO:

Obtener sangre venosa para realizar pruebas de inmunología.

### 9.1.2. MUESTRA REQUERIDA:

5 mL de sangre venosa sin anticoagulante.

### 9.1.3. MATERIALES:

- Jeringa estéril para extraer 5 mL con aguja 21 X 1 ½ o sistema de extracción al vacío.
- Torundas de algodón.
- Alcohol etílico (70%).
- Marcador de vidrio.
- Torniquete.
- Tubos sin anticoagulante 13 x 100 mm y tapón de hule o tubos del sistema de extracción al vacío.
- Gradilla para tubos.
- Guantes descartables.

### 9.1.4. PROCEDIMIENTO:

- Lavar y secar las manos y colocarse los guantes.
- Identificar el tubo de acuerdo a la solicitud.
- Explicar al paciente sobre el procedimiento que se le va a realizar.
- Sentar cómodamente al paciente para la extracción tomando en cuenta que el área de sangría debe contar con suficiente iluminación.
- Seleccionar la vena apropiada para la punción.
- Realizar asepsia con torunda de algodón humedecida con alcohol etílico al 70% de adentro hacia fuera.

- Colocar el torniquete firmemente alrededor del brazo, y pedir al paciente que abra y cierre la mano varias veces para favorecer la dilatación de las venas.
- Proceder a puncionar la vena seleccionada.
- Colocar la aguja con el bisel hacia arriba sobre la vena a puncionar.
- Introducir la aguja en el centro de la vena y penetrar a lo largo de la vena de 1 a 1.5 cm.
- Tirar hacia atrás el émbolo de la jeringa muy lentamente para que penetre la sangre en la jeringa hasta llenar con la cantidad de sangre necesaria. Si utiliza sistema de sangrado al vacío introducir el tubo en el dispositivo (holder) de manera que al ejercer presión se atraviese el extremo inferior de la aguja, para que la sangre fluya hacia el tubo por efecto del vacío.
- Retirar torniquete tirando del extremo doblado y colocar una torunda de algodón sobre la piel donde se encuentra oculta la punta de la aguja.
- Extraer la aguja con un movimiento rápido por debajo de la pieza de algodón, pedir al paciente que presione firmemente la torunda durante 3 minutos con el brazo extendido.
- Separar la aguja de la jeringa o del holder cuidadosamente, llenar los tubos deslizando la sangre por las paredes del mismo.
- Esperar que la muestra se coagule a temperatura ambiente.
- Centrifugar la muestra a 3000 rpm po 10 minutos.
- Separar el suero del paquete globular.
- Verificar nuevamente la identificación del paciente.

### 9.1.5. FUENTES DE ERROR

- Prolongada aplicación del torniquete.
- Extracción violenta de la sangre, que puede provocar hemólisis.
- Empleo de tubos mal lavados.
- Depositar la sangre en el tubo en forma violenta.
- Dejar los tubos con muestras destapados.

- Que el paciente no cumpla con las indicaciones de acuerdo al análisis químico a realizar.
- Separación inadecuada del coagulo antes de centrifugar (no poner en baño de María).
- Centrifugación inadecuada de la muestra.

### 9.1.6. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 9.2. PRUEBA RÁPIDA DE REAGINA (Método RPR)

### 9.2.1. PROPÓSITO:

Detectar y cuantificar anticuerpos reagínicos en suero, que corresponde a un diagnostico presuntivo de Sífilis, La prueba de RPR, es una modificación del antígeno VDRL (pruebas no treponémicas). El RPR es una prueba que contiene micropartículas de carbón para visualizar la reacción

antígeno– anticuerpo.

### 9.2.2. MUESTRA REQUERIDA:

5mL de sangre sin anticoagulante de preferencia tomada en ayunas (para obtener de 2 a 3 mL de suero).

### 9.2.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Tarjeta o lámina en círculos de 18 mm.
- Dispensadores de 50 uL.
- Tapadera plástica para formar cámara húmeda.
- Frasco plástico con aguja calibrada para depositar 16uL.
- Antígeno: Cardiolipina, Lecitina, Colesterol y partículas de carbón.
- Agua destilada.
- Papel toalla.
- Aplicadores de madera.
- Solución salina 0.85%.
- Puntas plásticas.
- Marcador de vidrio.
- Tubos 12x75 mm.
- Gradilla para tubos.
- Guantes descartables.

### 9.2.4. EQUIPO:

- Reloj marcador.
- Rotador serológico de 100 rpm.
- Macrocentrífuga.
- Micropipeta automática regulable.

### 9.2.5. PROCEDIMIENTO:

Prueba cualitativa:

- Centrifugar la sangre a 2,500 rpm durante 5 minutos.
- Separar los sueros del paquete globular.
- Identificar los sueros y círculos de la tarjeta o lámina de reacción.
- Depositar en cada círculo de la tarjeta ó lámina, 50 uL. de los sueros en estudio y controles positivo y negativo, manteniendo el dispensador verticalmente para que el volumen sea exacto.
- Extender el suero sobre la superficie del círculo con el extremo opuesto del dispensador.
- Homogenizar el antígeno y depositar una gota (equivalente a 16 uL) sobre el suero.
- Colocar la tarjeta en el rotador serológico y cubrirla con la cámara húmeda.
- Rotar durante 8 minutos a 100 rpm.
- Inclinando la lámina de adelante hacia atrás observar a simple vista con buena iluminación agregados bien diferenciados en el centro y en la periferia del círculo.

Toda prueba cualitativa que presente aglutinación se debe hacer prueba semicuantitativa.

Prueba semicuantitativa:

- En cinco círculos poner con el dispensador una gota (50 µL) de solución salina 0.85 %, no extender.
- Depositar con el dispensador en el primer círculo 50 µL de suero, mezclar aspirando y expeliendo 3 a 6 veces, evitando la formación de burbujas.

- A partir de esta mezcla que constituye la dilución 1:2 proseguir las diluciones seriadas, en base 2 mezclando y pasando sucesivamente de un círculo a otro 50 µL; descartar los 50 µL de la última dilución. (Anexo 5)

De esta manera se obtienen las diluciones siguientes:

| Círculos | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| Diluciones | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 |

- Extender las gotas por la superficie del círculo, utilizando un mezclador e iniciando por la dilución más alta.
- Colocar en cada círculo una gota (16 µL) de antígeno bien homogenizado, no agitar violentamente.
- Colocar las placas en un rotador y cubrirlas con la tapadera
- Rotar durante 8 minutos a 100 rpm.
- Inclinando la lámina de adelante hacia atrás observar a simple vista con buena iluminación agregados bien diferenciados en el centro y en la periferia del círculo.

Toda prueba que de una reacción de 1:32 se debe hacer la prueba cuantitativa.

Prueba cuantitativa:

- En un tubo colocar 1.5 mL de solución salina a 0.85 % y 0.1 mL de suero. (Esta constituye una dilución 1:16)
- A partir de la dilución 1:16 hacer diluciones seriadas en base 2 mezclando y pasando sucesivamente de un círculo a otro 50 µL. (Anexo 5)

Descartar los 50 µL de la última dilución y se obtendrán las siguientes diluciones:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Círculos | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Diluciones | 1:32 | 1:64 | 1:128 | 1:256 | 1:512 |

## 9.2.6. FUENTES DE ERROR:

- No mezclar el antígeno.
- No leer inmediatamente la reacción.
- Rotador con velocidad inadecuada.
- Aguja dispensadora de reactivo sucia o deteriorada.
- No dispensar las gotas en forma vertical.
- No utilizar cámara húmeda.
- No utilizar los reactivos a temperatura ambiente.
- Mala iluminación para la lectura.
- Diluciones inexactas.
- Uso de reactivos vencidos o en malas condiciones.
- Muestras hiperlipémicas.
- Presencia de infección. (Anexo 9)

## 9.2.7. FORMA DE REPORTE:

- Resultado No Reactivo: aspecto liso de la suspensión, la cual aparece sin agregados.
- Resultado Reactivo débil: Se observa reacción en la prueba cualitativa y no aparecen agregados visibles en todas las diluciones semi cuantitativas.
- Resultado Reactivo: agregados bien diferenciados en el centro y en la periferia del círculo.
- En las pruebas semicuantitativa y cuantitativa, si el resultado es Reactivo debe reportarse la última dilución en la que se observa reacción.

## 9.2.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 9.3. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (Prueba rápida)

### 9.3.1. PROPÓSITO:

Detectar in vitro los anticuerpos formados en el torrente sanguíneo por el virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH 1 y VIH 2).

### 9.3.2. MUESTRA REQUERIDA:

Suero, plasma y sangre completa.

### 9.3.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Tubos de ensayo 12 x 75 mm .
- Tubos de ensayo 13 x 100 mm .
- Gradilla para tubos.
- Puntas plásticas.
- Pipeta Pasteur con bulbo o pipeta transfer.
- Aplicadores de madera.
- Marcador de vidrio.
- Guantes descartables.
- Papel toalla.
- Protocolo de trabajo. (Anexo 10)
- Tiras reactivas sensibilizadas con antígeno VIH 1 y VIH 2.

### 9.3.4. EQUIPO:

- Macrocentrífuga.
- Pipeta automática de volumen variable.
- Reloj marcador.

### 9.3.5. PROCEDIMIENTO:

- Centrifugar la sangre a 2,500 rpm durante 5 minutos.
- Separar los sueros del paquete globular.
- Llevar a temperatura ambiente las tiras reactivas a utilizar.
- Preparar el protocolo de trabajo.
- Cortar la línea de puntos de la bolsa para retirar las tiras reactivas.
- Retirar el plástico de protección de cada tira.
- Identificar las tiras reactivas a utilizar.
- Dispensar 50 µL de suero con una pipeta automática sobre la superficie absorbente. (señalada con una flecha)
- Esperar un mínimo de 15 minutos y un máximo de 60 minutos.
- Leer el resultado.
- Observar el área de reacción.

### 9.3.6. FUENTE DE ERROR

- Reactivos vencidos y en mal estado.
- Tiras reactivas que no estén a temperatura ambiente.
- Concentraciones bajas de anticuerpos.
- Pacientes con transfusiones masivas.
- Manipular las tiras reactivas con guantes empolvados.
- Infección con una variante del virus que no reacciona con los antígenos específicos utilizados en la configuración del ensayo.

### 9.3.7. FORMA DE REPORTE:

REACTIVO:

- Presenta barra roja en las dos ventanas del área de reacción, tanto la del paciente con la ventana del control.

INDETERMINADO:

Presenta barra tenue en la ventana del área de reacción del paciente y barra roja en la ventana del control.

NO REACTIVO A LA FECHA:

Presenta barra roja solamente en la ventana de control y no presenta barra roja en la ventana del resultado del paciente.

REACCIÓN NO VÁLIDA:

No aparece ninguna barra roja ni en la ventana de control ni en la ventana del paciente, esta prueba debe repetirse.

No aparece ninguna barra roja en la ventana de control pero sí en la ventana del paciente, esta prueba debe repetirse.

### 9.3.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 9.4. ANTÍGENOS FEBRILES

### 9.4.1. PROPÓSITO:

Investigar en el suero del paciente anticuerpos producidos por infecciones causadas por Salmonellas, Brucellas, Rickettsias u otras infecciones bacterianas, por las cuales el organismo del paciente reacciona con la producción de anticuerpos específicos.

### 9.4.2. MUESTRA REQUERIDA:

Suero.

### 9.4.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Tubos de ensayo 12 x 75 mm.
- Tubos de ensayo 13 x 100 mm.
- Gradilla para tubos.
- Puntas plásticas.
- Lámina de reacción.
- Pipeta Pasteur con bulbo o pipeta transfer.
- Aplicadores de madera.
- Marcador de vidrio.
- Guantes descartables.
- Papel toalla.
- Solución salina 0.85%.
- Antígeno somático “O”.
- Antígeno flagelar “H”.
- Antígeno paratyphico “A”.
- Antígeno paratyphico “B”.
- Antígeno somático O X 19.
- Antígeno somático Brucella abortus.
- Control negativo y control positivo.

### 9.4.4. EQUIPO:

- Macrocentrífuga.
- Reloj marcador.
- Pipetas automáticas.
- Rotador serológico.

### 9.4.5. PROCEDIMIENTO:

- Centrifugar la sangre a 2,500 rpm durante 5 minutos.
- Separar los sueros del paquete globular.
- Llevar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.

#### Prueba cualitativa:

- Mezclar las suspensiones cuidadosamente antes de su uso.
- Colocar una gota de muestra en los 6 círculos y una gota de cada control positivo y negativo en su respectivo círculo.
- Colocar sobre cada muestra o control una gota de reactivo.
- Mezclar con palillos descartables por separado y esparcir el líquido sobre el área completa de cada círculo.
- Colocar la lámina en un rotador a 100 rpm durante 1 minuto.
- Leer los resultados bajo luz artificial inmediatamente.
- Examine macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación.

#### Prueba semicuantitativa:

- En caso de obtener resultados positivos hacer determinación semicuantitativa en lámina:
- Colocar en seis tubos 100 µL. de solución salina 0.85% y adicionar en el primer tubo 100 µL de muestra.
- Hacer diluciones seriadas en base a 2 en los siguientes tubos, de modo de obtener las siguientes diluciones: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 y 1:64.
- Continuar el procedimiento como se describe en la prueba cualitativa, empleando cada dilución como muestra.

- Leer los resultados bajo luz artificial inmediatamente.
- Examine macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación.
- Reportar la última dilución en la que se observe aglutinación.

### 9.4.6. FUENTES DE ERROR:

- Fase precoz de la enfermedad.
- Niveles bajo de anticuerpos.
- Leer la reacción después del tiempo estipulado.
- Rotación inadecuada.
- Reactivos vencidos o deteriorados.
- No homogenizar los antígenos antes de usarlos.
- No llevar a temperatura ambiente los reactivos.

### 9.4.7. FORMA DE REPORTE:

POSITIVO: Cuando se observa aglutinación macroscópica y reportar última dilución en la que se observa aglutinación.

NEGATIVO: Cuando no se observa aglutinación.

### 9.4.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 9.5. TIPEO SANGUÍNEO PRUEBA DIRECTA EN TUBO

### 9.5.1. PROPÓSITO:

Investigar en la sangre la presencia o ausencia de los antígenos A, B y Rh que se localizan en la superficie de los glóbulos rojos, utilizando anticuerpos específicos para cada uno de ellos.

### 9.5.2. MUESTRA REQUERIDA:

1 mL de Sangre completa con o sin anticoagulante.

### 9.5.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Tubos de ensayo 12 x 75 mm.
- Gradilla para tubos.
- Puntas plásticas.
- Pipeta Pasteur con bulbo o pipeta transfer.
- Aplicadores de madera.
- Frasco lavador.
- Marcador de vidrio.
- Guantes descartables.
- Papel toalla.
- Solución salina 0.85%.
- Antisuero “A”.
- Antisuero”B”.
- Antisuero RH (anti-D).

### 9.5.4. EQUIPO:

- Macrocentrífuga.
- Reloj marcador.

- Pipetas automáticas.
- Lámpara para lectura de aglutinación.

## 9.5.5. PROCEDIMIENTO:

- Identificar previamente los tubos.
- Depositar 2-3 gotas de sangre en un tubo.
- Realizar 3 veces el lavado de células de la siguiente manera:
    a) Agregar 1 mL de solución salina 0.85%.
    b) Mezclar y llenar con solución salina 0.85% el tubo hasta 3/4 partes.
    c) Centrifugar por 2 minutos a 3400 rpm .
    d) Descartar toda la solución salina quedando en el fondo un paquete de glóbulos rojos.
- Preparar una suspensión al 5%, colocando una gota de los glóbulos rojos lavados y 19 gotas de solución salina y mezclar.
- Rotular 3 tubos con las letras A, B, Rh por cada muestra a analizar, a cada uno agregar una gota de glóbulos rojos al 5%.
- Depositar los antisueros respectivos:
    a) Tubo A antisuero A.
    b) Tubo B antisuero B.
    c) Tubo Rh antisuero D.
- Centrifugar 15 segundos a 3400 rpm .
- Leer la presencia o ausencia de aglutinación agitando suavemente los tubos.

## 9.5.6. FUENTES DE ERROR:

- Reactivos vencidos o deteriorados.
- No llevar a temperatura ambiente los reactivos.
- Hemólisis de los glóbulos rojos por mezcla inadecuada.
- Presencia de enfermedades autoinmunes.

- Iluminación inadecuada en el momento de la lectura.
- Dilución inadecuada de los glóbulos rojos.

### 9.5.7. FORMA DE REPORTE:

Se reporta:

| | |
|---|---|
| Grupo A: | si aglutina el tubo marcado A. |
| Grupo B: | si aglutina el tubo marcado B. |
| Grupo O: | si no aglutinan los tubos marcados A y B. |
| Grupo AB: | si aglutinan los tubos marcados A y B. |

### 9.5.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 9.6. DETERMINACIÓN DE VARIANTE Du

### 9.6.1. PROPÓSITO:

Comprobar si una persona es verdadero positivo o negativo con respecto al factor Rh (D). La variante Du se determina cuando el factor Rh es negativo.

### 9.6.2. MUESTRA REQUERIDA:

Suspensión de eritrocitos al 5%.

### 9.6.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Tubos de ensayo 12 x 75 mm.
- Gradilla para tubos.
- Pipeta Pasteur con bulbo o pipeta transfer.
- Marcador de vidrio.
- Guantes descartables.
- Papel toalla.
- Albúmina bovina.
- Suero antihumano (coombs).

### 9.6.4. EQUIPO:

- Baño de María.
- Centrífuga.
- Lámpara para lectura de aglutinación.

### 9.6.5. PROCEDIMIENTO:

- Identificar dos tubos
- En el tubo 1: colocar una gota de suero anti D y agregar una gota de suspensión de eritrocitos al 5% a estudiar.

- Mezclar suavemente.
- En el tubo 2 (control): colocar una gota de albúmina bovina y agregar una gota de suspensión de eritrocitos al 5% a estudiar.
- Mezclar suavemente.
- Centrifugar ambos tubos a 3400 rpm por 15 segundos.
- Desprender suavemente el botón de células del fondo del tubo.
- Observar presencia o ausencia de aglutinación frente a la luz de una lámpara.
- Si no se observa aglutinación se incuban los tubos a 37°C por 15 minutos.
- Lavar los glóbulos rojos de ambos tubos cuatro veces llenándolos con solución salina al 0.85%.
- Centrifugar por 2 minutos a 3400 rpm cada vez y descartar la solución después de cada lavada.
- Agregar a cada tubo 2 gotas de suero Coombs.
- Centrifugar 15 segundos a 3400 rpm.
- Leer frente a la luz de una lámpara y buscar aglutinación tratando de desprender suavemente el botón de células.
- Observar aglutinación.

### 9.6.6. FUENTES DE ERROR:

- Reactivos vencidos o deteriorados.
- No llevar a temperatura ambiente los reactivos.
- Hemólisis de los glóbulos rojos por mezcla inadecuada.
- Presencia de enfermedades autoinmunes.
- Iluminación inadecuada en el momento de la lectura.
- Dilución inadecuada de los glóbulos rojos.
- Baño de María con temperatura inadecuada.

### 9.6.7. FORMA DE REPORTE:

Du POSITIVO: (presencia de aglutinación o botón) = Rh POSITIVO

Du NEGATIVO: (ausencia de aglutinación) = Rh NEGATIVO

9.6.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 9.7. PRUEBA DE EMBARAZO

### 9.7.1. PROPÓSITO:

Investigar en orina la presencia de la hormona gonadotropina coriónica (HCG); el método se basa en la reacción de aglutinación de una suspensión de Látex recubiertas con anticuerpos monoclonales Anti-hormona gonadotropina coriónica.

### 9.7.2. MUESTRA REQUERIDA:

Orina, se recomienda utilizar la orina de la primera hora de la mañana, ya que generalmente contiene mayor concentración de hormona.

Muestras de orina: estable 48 horas a 2-8°C  o 3 meses a -20°C.

### 9.7.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

-Tarjetas o láminas de reacción.

- Papel toalla.
- Marcador de vidrio.
- Dispensadores plásticos.
- Tubos cónicos.
- Guantes descartables.
- Gradilla para tubos.
- Suspensión de partículas de látex con anticuerpo monoclonal
- Anti-hormona gonadotropina coriónica humana.
- Control positivo: orina humana con una concentración conocida de hormona gonadotropina coriónica.
- Control negativo: suero animal sin presencia de hormona gonadotropina coriónica.

### 9.7.4. EQUIPO:

- Macrocentrífuga.
- Rotador  serológico.

- Lámpara de luz.
- Reloj marcador.

### 9.7.5. PROCEDIMIENTO:

- La muestras de orina que presente turbidez debe centrifugarse antes de iniciar la prueba.
- Llevar a temperatura ambiente los reactivos y las muestras.
- Identificar correctamente lámina o tarjeta.
- Sobre cada círculo de lámina o tarjeta depositar 100 µL de muestras a analizar e incluir un control Positivo y un negativo por cada tiraje.
- Homogenizar suavemente el reactivo de Látex antes de usar.
- Depositar una gota de reactivo de Látex sobre cada una de las muestras y los controles.
- Mezclar con el extremo opuesto del dispensador, procurando extender la suspensión por toda la superficie interior del círculo
- Emplear un dispensador distinto para cada muestra.
- Colocar la tarjeta o lámina sobre un agitador rotatorio de 80 - 100 rpm durante 2 minutos.
- Examinar macroscópicamente bajo una fuente de luz la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar del agitador.

### 9.7.6. FUENTE DE ERROR

- Las concentraciones altas de hormonas folículo estimulante y luteinizante, presentan reacción cruzada con la hormona gonadotropina coriónica.
- Muestras con bajo niveles de hormona gonadotropina coriónica (antes de las seis semanas, se recomienda repetir la prueba unos días más tarde).
- La orina de pacientes con enfermedades trofoblásticas tales como carcinoma o quiste hidatidiforme podrían causar resultado falsamente positivos.
- Realizar la prueba con reactivos que no han sido llevados a temperatura ambiente.

### 9.7.7. FORMA DE REPORTE:

REACCIÓN DIRECTA:

POSITIVA: Formación aglutinación.

NEGATIVA A LA FECHA: No se observa aglutinación.

REACCIÓN INDIRECTA:

POSITIVA: No se observa aglutinación.

NEGATIVA A LA FECHA: Formación de aglutinación.

Consultar siempre el inserto provisto por la casa comercial.

### 9.7.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

# 10. MICROBIOLOGÍA BÁSICA

## 10.1. PREPARACIÓN DE UN EXTENDIDO DE MUESTRA

### 10.1.1. PROPÓSITO:

Estudiar mediante un frotis teñido la presencia de bacterias, lo cual aporta una información útil para el diagnóstico de la enfermedad del paciente y contribuye a establecer un tratamiento inmediato.

### 10.1.2. MUESTRA REQUERIDA:

Pus, esputo, orina y secreciones.

### 10.1.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Asa bacteriológica o aplicador de madera.
- Lámina portaobjeto.
- Marcador de vidrio.
- Papel toalla.
- Gasa.
- Fósforos.
- Guantes descartables.

### 10.1.4. EQUIPO:

Mechero.

### 10.1.5. PROCEDIMIENTO:

- Identificar la lámina porta objeto.
- Extender en el centro de una lámina portaobjeto una porción de la muestra con asa o aplicador de madera en forma de capa fina, trazando una espiral del centro a la periferia.
- Dejar secar completamente al aire libre.
- Fijar al calor.
- Fijar al calor pasándolo rápidamente sobre la llama de un mechero, tres veces en forma horizontal con la muestra hacia arriba.

- Dejar enfriar.
- Aplicar coloración que corresponda, según agente a investigar.

### 10.1.6. FUENTES DE ERROR:

- Sobre calentar el frotis o no fijarlo.
- Frotis gruesos o muy delgados.
- No dejar enfriar el frotis.

### 10.1.7. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 10.2. EXAMEN MICROSCÓPICO (Coloración de Gram)

### 10.2.1. PROPÓSITO:

Colorear las bacterias presentes en un frotis mediante la tinción de Gram, la cual permite diferenciar en dos grandes grupos, bacterias grampositivas que toman el color violeta y bacterias gramnegativas que toman el color rosado.

### 10.2.2. MUESTRA REQUERIDA:

Frotis de la muestra a analizar correctamente identificado.

### 10.2.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Aceite de inmersión.
- Papel filtro.
- Embudo.
- Bandeja o soporte de coloración.
- Guantes descartables.
- Marcador de vidrio.
- Papel toalla.
- Papel limpia lente.
- Cristal violeta modificado por Hucker.
- Lugol o solución de Yodo para Gram.
- Alcohol Acetona.
- Safranina.

### 10.2.4. EQUIPO:

- Reloj marcador.
- Microscopio.

## 10.2.5. PROCEDIMIENTO:

- Filtrar los colorantes antes de utilizar.
- Colocar los frotis a colorear en la bandeja o soporte de coloración.
- Cubrir el frotis completamente con Cristal Violeta, durante un minuto.
- Enjuagar con agua corriente y escurrir.
- Cubrir el frotis completamente con Lugol o solución de Yodo para Gram durante un minuto.
- Enjuagar con agua corriente y escurrir.
- Aplicar alcohol acetona gota a gota hasta que no salga Cristal Violeta.
- Enjuagar con agua corriente y escurrir.
- Cubrir el frotis con Safranina.
- Dejar reposar por 30 segundos.
- Enjuagar suavemente con agua corriente.
- Dejar secar al aire libre.
- Observar al microscopio con lente de inmersión 100x.

## 10.2.6. FUENTES DE ERROR:

### Grampositiva falsa

- Colorante de Cristal Violeta que presenta sedimentos.
- Remoción incompleta del Lugol.
- Decoloración insuficiente del frotis.
- Tiempo prolongado con Safranina.

### Gramnegativa falsa

- Tiempo insuficiente con Lugol.
- Tiempo prolongado con alcohol Acetona o lavado incompleto.

### 10.2.7. FORMA DE REPORTE:

- Reportar morfología bacteriana observada (iniciar con las más frecuente) indicando la agrupación y la cantidad.
- Reportar, si lo hubiere, la presencia de polimorfonucleares y/o linfocitos.

Indicar la presencia y cantidad de levaduras o micelios y células epiteliales.

### 10.2.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 10.3. DIRECTO AL FRESCO DE SECRECIÓN VAGINAL

### 10.3.1. PROPÓSITO:

Investigar en una muestra de secreción vaginal, la presencia de Trichomonas vaginalis, levaduras y/o pseudohifas.

### 10.3.2. MUESTRA REQUERIDA:

Secreción vaginal, tomada con un hisopo estéril y colocada en un tubo con 2 mL de solución salina estéril 0.85%.

### 10.3.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Tubos de vidrio 16 x 150 mm.
- Gradilla para tubos.
- Lámina portaobjeto.
- Laminilla cubreobjeto.
- Hisopos estériles.
- Marcador de vidrio.
- Papel toalla.
- Gasa.
- Solución salina estéril 0.85%.

### 10.3.4. EQUIPO:

- Microscopio.

### 10.3.5. PROCEDIMIENTO:

- Identificar la lámina portaobjeto.
- Colocar una gota en el portaobjeto y cubrir con laminilla cubre objeto, con el cuidado de no formar burbujas de aire.
- Examinar toda la preparación al fresco en el microscopio con objetivo 10x.

- Buscar presencia de Trichomonas vaginalis, levaduras o pseudohifas. (Anexo 11)

### 10.3.6. FUENTES DE ERROR:

- Contaminación de la muestra.
- Solución salina contaminada.
- Dejar secar la preparación.
- Formación de burbujas de aire en la preparación.

### 10.3.7. FORMA DE REPORTE:

- Se observan Trichomonas vaginalis: cuando están presentes en la preparación.
- Se observan levaduras y pseudohifas: cuando están presentes en la preparación.
- No se observan Trichomonas vaginalis ni levaduras y pseudohifas: cuando no están presentes en la preparación ninguna de ellas.

### 10.3.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 10.4. DIRECTO DE SECRECIÓN VAGINAL COLOREADO CON GRAM

### 10.4.1. PROPÓSITO:

Investigar en una muestra de secreción vaginal coloreada, la presencia de Lactobacilos, mobiluncos, o gardnerella.

### 10.4.2. MUESTRA REQUERIDA:

Secreción vaginal, tomada con un hisopo estéril y colocada en un tubo con 2 mL de solución salina estéril 0.85%.

### 10.4.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Tubos de vidrio 16 x 150 mm.
- Gradilla para tubos.
- Lámina portaobjeto.
- Hisopos estériles.
- Marcador de vidrio.
- Papel toalla.
- Guantes descartables.
- Gasa.
- Aceite de inmersión.
- Solución salina estéril 0.85%.

### 10.4.4. EQUIPO:

- Microscopio.

## 10.4.5. PROCEDIMIENTO:

- Identificar la lámina portaobjeto.
- Proceder a la elaboración de frotis y coloración de Gram como está descrito en los procedimientos de: “Preparación de un extendido de muestra” y “Coloración de Gram” de este manual, páginas 109 – 112.
- Observar en el microscopio con objetivo de inmersión 100x, la presencia de Lactobacilos, mobiluncos, o gardnerella.
- Reportar lo observado.

## 10.4.6. FUENTES DE ERROR:

- Contaminación de la muestra.
- Solución salina contaminada.
- Coloración o frotis inadecuado.

## 10.4.7. FORMA DE REPORTE:

Reportar de la forma siguiente:

FLORA NORMAL:

- Cuando se observan sólo bacilos grampositivos (Lactobacilos).

FLORA VAGINAL ALTERADA:

- Cuando se observa predominio de bacilos grampositivos y escasos bacilos gramnegativos.

VAGINOSIS BACTERIANA POSIBLEMENTE POR GARDNERELLA VAGINALIS:

- Cuando se observan escasos o ningún bacilo grampositivo y predominio de bacilos gramnegativos rectos, extra e intracelulares.

VAGINOSIS BACTERIANA POSIBLEMENTE POR MOBILUNCUS:

- Cuando se observan escasos o ningún bacilo grampositivo y predominio de bacilos gramnegativos curvos.

## 10.4.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 10.5. DIRECTO DE SECRECIÓN URETRAL COLOREADO CON GRAM

### 10.5.1. PROPÓSITO:

Investigar en una muestra de secreción uretral coloreada, la presencia de Diplococos gramnegativos intracelulares (leucocitos) y extracelulares.

### 10.5.2. MUESTRA REQUERIDA:

Secreción uretral, tomada si es posible en las primeras horas de la mañana antes de que el paciente haya orinado.

### 10.5.3. MATERIALES Y REACTIVOS:

- Lámina portaobjeto.
- Aplicador de madera o asa bacteriológica.
- Marcador de vidrio.
- Guantes descartables.
- Papel toalla.
- Gasa.
- Aceite de inmersión.
- Solución salina estéril 0.85%.
- Papel limpia lente.
- Cristal violeta modificado por Hucker.
- Lugol o solución de Yodo para Gram.
- Alcohol Acetona.
- Safranina.

### 10.5.4. EQUIPO:

- Microscopio.

## 10.5.5. PROCEDIMIENTO:

- Identificar la lámina portaobjeto.
- Tomar la muestra aplicando una ligera presión en el pene de atrás hacia delante de manera que salga una gota de pus por el meato, la cual será recibida en una lámina portaobjeto.
- Cuando la muestra es demasiada espesa, agregar una gota de solución salina estéril 0.85%.
- Proceder a la elaboración de frotis y coloración de Gram como está descrito en los procedimientos de: “Preparación de un extendido de muestra” y “Coloración de Gram” de este manual, páginas 109 – 112.
- Observar en el microscopio con objetivo de inmersión 100x, la presencia de Diplococos gramnegativos de forma arriñonadas, tanto intracelulares (leucocitos) como extracelulares.
- Prestar especial atención a las orillas del frotis donde los elementos se extienden en una capa más delgada, son más fáciles de reconocer y la tinción es menos concentrada.
- Reportar lo observado.

## 10.5.6. FUENTES DE ERROR:

- Coloración o frotis inadecuado.

## 10.5.7. FORMA DE REPORTE:

Reportar de la forma siguiente:

“SE OBSERVAN DIPLOCOCOS GRAMNEGATIVOS INTRA Y/O EXTRACELULARES Y LA PRESENCIA DE POLIMORFONUCLEARES”.

- Cuando se observan cocos arriñonados en pareja de color rosado.

“NO SE OBSERVAN DIPLOCOCOS GRAMNEGATIVOS EN LA PRESENTE PREPARACION”.

- Cuando no se observan cocos en pareja de color rosado ni intra ni extracelulares.

## 10.5.8. RESPONSABLE:

Profesional en Laboratorio Clínico o Laboratorista.

## 10.6. DIRECTO PARA ÁCIDO ALCOHOL RESISTENTE (Tuberculosis)

Este procedimiento no se desarrolla en este manual, por existir a nivel nacional la “Guía Técnica para el Diagnóstico de Tuberculosis por Microscopía Directa, Año 2005”, para realizar estos procedimientos, remitirse a lo contemplado en la mencionada Guía.

## 11. REVISIÓN Y ACTUALIZACIÓN

Este manual será revisado y actualizado al menos cada 5 años, o antes cuando sea necesario un cambio en las metodologías. La revisión estará a cargo de un equipo técnico multidisciplinario, el cual enriquecerá con nuevos aportes e integrará los conocimientos y experiencias en el área.

## 12. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Acantocito: Glóbulo rojo que posee prominencias puntiagudas.

Aglutinación: Agrupamiento de un antígeno en suspensión u otra partícula bacterial con su anticuerpo específico que se hace visible mediante el látex o partículas de carbón o eritrocitos.

Anticoagulante: Sustancia que demora o suprime la coagulación de la sangre.

Antígeno: Cualquier sustancia inmunizante que habiendo sido inoculado en un organismo de persona o animal, ocasiona la producción y liberación de anticuerpos específicos.

Asepsia: Método de prevenir las infecciones mediante la destrucción de los agentes infectivos.

Basofilia: Consiste en un incremento del valor normal de los basófilos.

Bioseguridad: Es el conjunto de lineamientos y regulaciones para prevenir, eliminar o reducir cualquier riesgo potencial en las personas, la comunidad y el medio ambiente.

Calibración: Establecer con exactitud la correspondencia entre las indicaciones de un instrumento de medida y los valores de la magnitud que se mide con él.

Cardiolipina: Extracto alcohólico de corazón de buey.

Células epiteliales: Células superficiales que protegen las cavidades internas y la superficie externa del cuerpo.

Cíbalos: Pequeña bolas de heces resecas.

Cilindros urinarios: Aglomerados de proteínas de estructura tubular que se forman durante las enfermedades de los túbulos renales, pueden contener en su matriz eritrocitos, otras células y depósitos de sustancias químicas.

Coagulación: Proceso de formación de la sangre en una masa gelatinosa.

Coágulo: La conversión del fibrinógeno en una red de moléculas de fibrina polimerizada, que transforma la sangre en una masa gelatinosa.

Codocito: Glóbulo rojo que presenta condensación en el centro.

Concentración: Es la relación entre la cantidad de soluto y la cantidad de solvente o solución.

Cristales urinarios: Formas geométricas de diferentes sustancias químicas que se cristalizan en la orina dependiendo del pH de esta.

Densidad óptica: Cantidad de luz absorbida por una sustancia que puede ser medida por un espectrofotómetro.

Densidad: Es la relación entre la masa y el volumen.

Drepanocito: Glóbulo rojo que adopta forma semilunar (falciformes).

EDTA: sales de sodio o potasio del ácido etilendiaminotetracético, son poderosos anticoagulantes y suelen elegirse para el trabajo hematológico normal.

Eliptocito: Glóbulo rojo que tiene forma elíptica, es un defecto de membrana.

Ensayo: Experimento.

Enzimas: Catalizadores que modifican la velocidad de una reacción.

Equinocito: Glóbulo rojo fragmentado.

Eritroblasto: Eritrocito joven que aún conserva su núcleo.

Eritrocito: Células sanguíneas de forma discoide, bicóncava y elástica que carecen de núcleo y cuya principal función es el transporte de hemoglobina.

Eritropoyesis: Proceso de formación de los eritrocitos.

Esferocito: Glóbulo rojo que tiene forma de esfera, sin palidez en el centro, es un defecto de membrana.

Esputo: Material eyectado desde los pulmones a la boca.

Estándar: Una solución patrón que se utiliza para comparar o para la elaboración de otras diluciones.

Gramnegativa: Característica de los tejidos o bacterias que pierden la coloración por el método de Gram (toman color rosado).

Grampositiva: Característica de los tejido o bacteria que conservan la coloración por el método de Gram (toman color azul).

Heces: Mezcla de productos de excreción y secreción que se eliminan por el intestino.

Hematocrito: Volumen de glóbulos rojos por volumen de sangre, se obtiene mediante la centrifugación de sangre venosa o capilar.

Hematología: Rama de la medicina que estudia la sangre.

Hemoglobina: Componente principal de los glóbulos rojos, proteína conjugada que sirve de vehículo para el transporte de oxígeno y bióxido de carbono.

Hemólisis: Destrucción de Glóbulos Rojos

Hipercromía: Glóbulo rojo que se tiñe más intensamente, ausencia de palidez central.

Hidrólisis: Adición de agua a una sustancia, con descomposición de esta en otras más sencillas.

Hifa: Hongo de estructura larga filamentosa en forma de tubo.

Hiperlipémica: Aumento de la concentración de lípidos en sangre.

Imprecisión: Mediciones que siendo realizadas en las mismas condiciones dan diferentes resultados.

Inoculación: Introducción de microorganismos, material infecciosos, etc. en un ser vivo o en cultivos.

Linfocitos: Células mononucleadas; con núcleo único que sirven de defensa, se dividen en Linfocitos B y Linfocitos T.

Litro: Volumen ocupado por la masa de un kilogramo de agua pura a 4 °C.

Longitud de onda: Distancia entre una cresta a otra en el espectro de luz.

Megalocito: Glóbulo rojo con tamaño mayor de lo normal (15 a 22 micras).

Micelio: Masa de hifas.

Monocito: célula del sistema retículo-endotelial presente en la sangre normal con carácter fagocítico.

Mononucleares: Leucocito que posee un solo núcleo simple, como el linfocito y el monocito.

Morfología bacteriana: Forma de los microorganismos.

Neutrófilo: Tipo de leucocito caracterizado por citoplasma granuloso que se tiñe fácilmente con los colorantes ácidos o básicos.

Neutropenia: Disminución del número absoluto de neutrófilos por debajo de los valores normales.

Oncosfera: Parte interna del huevo de Taenia la cual contiene el embrión.

Ooquiste: Quiste que contiene el huevo o cigote.

Plaquetas: elementos formes mas pequeños de la sangre, actúan en la hemostasia y el mantenimiento de la integridad vascular, participan en el proceso de coagulación.

Plaquetopenia: disminución del número de plaquetas por debajo del valor normal.

Plasma: Componente líquido de la sangre que se obtiene al separar una sangre con anticoagulante del paquete globular, contiene fibrinógeno y componentes de la coagulación neutralizados.

Polimorfonucleares: Son leucocitos granulocitos segmentados y se dividen en neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

Procedimiento: Serie de pasos en forma cronológica, por los cuales se logra un resultado deseado.

Pseudohifas: Hongo de tipo de levadura que presenta una extensión tubular de protoplasma que difiere de las hifas porque continúan con la célula madre.

Quiste: Forma resistente de los protozoos los cuales se rodean de una membrana dura e impermeable.

Reacción colorimétrica: Reacción química que tiene como producto final un compuesto de color.

Reacción enzimática: Reacción química que tiene por catalizador una enzima.

Reticulocitos: Glóbulos rojos juveniles con restos de acido ribonucleico y ribosomas.

Riesgo: Posibilidad o probabilidad de que ocurra un daño a la salud, puede ser causado por accidente, enfermedades u otros.

Rouleaux: Glóbulo rojo que se aglomeran como pilas de monedas.

Secreción: Sustancia que se vierten al exterior de una célula.

Suero: Componente líquido de la sangre que se obtiene al separar una sangre sin anticoagulante del paquete globular.

Tipocromía: Glóbulo rojo con un halo mayor en el centro que lo normal (baja de hemoglobina).

Trofozoíto: Forma vegetativa, libre y en movimiento de los protozoos.

Trombocitopenia: disminución del número de plaquetas circulantes.

Valores de referencia: Valores considerados normales.

## 13. ABREVIATURAS

µL: microlitro, millonésima parte de un litro.

dL: decilitro, décima parte de un litro.

Du: Expresión débil del Rh negativo.

EDTA: Ácido etilendiaminotetracético.

gr: gramo, unidad de masa.

mg: miligramo, milésima parte de un gramo.

mL: mililitro, milésima parte de un litro.

mm: milímetro, milésima parte de un metro.

$mm^3$: milímetro cúbico, millonésima parte de un litro.

nm: nanómetro, unidad de medida lineal = 10-9 metros.

PAM: Prueba de Azul de Metileno.

pH: Es el logaritmo inverso de la concentración de hidrogeniones, expresada en términos de molaridad, determina la acidez o alcalinidad de una sustancia.

rpm: revoluciones por minuto.

RPR: Prueba Rápida de Reaginas.

VDRL: Laboratorio de Referencia de Enfermedades Venéreas.

VES: Velocidad de eritrosedimentación.

# 14. Anexos

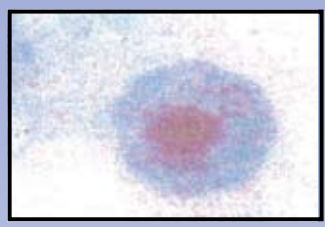
## Anexo 1 – Preparación de Lugol para examen microscópico de heces.

Preparación:

- Pesar 10 gr de yodo en cristales.
- Pesar 20 gr de yoduro de potasio.
- Mezclar y disolver poco a poco con agua destilada.
- Completar a 1 litro con agua destilada.
- Guardar en garrafa color ámbar con nombre y fecha de preparación.

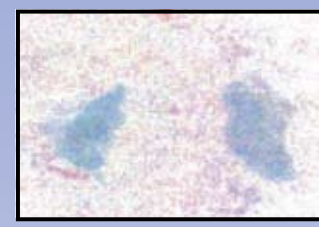
Este colorante hace resaltar algunas estructuras, como los núcleos de los protozoarios y da una coloración café a los huevos y larvas de los metazoarios.

## Anexo 2 - Parásitos: quistes, formas activas y huevos.

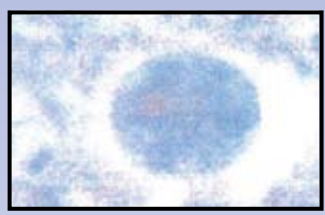


Quiste maduro de E. histolytica con cuatro núcleos y corpúsculos cromatoides; tinción tricrómica.

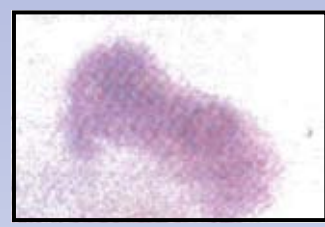
Trofozoito de E. histolytica con hematíes ingeridos teñidos de rojo; núcleo visible en el borde inferior; tinción tricrómica.



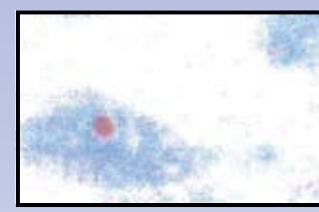
Trofozoito de E. hartmanni.
Izquierda: tinción tricrómica.
Derecha: hematoxilina-hierro.



Quiste maduro de E. hystolytica en el que pueden verse tres de los cuatro núcleos y corpúsculos cromatoides, desenfocados hematoxilina-hierro



Trofozoito de E. histolytica; hematoxilina-hierro.

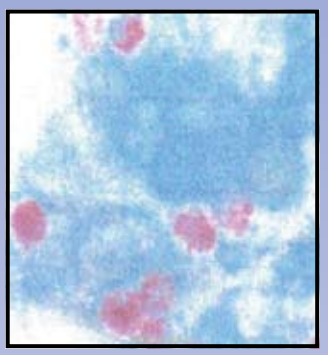


Trofozoito de E. hartmanni (derecha) y de Iodamoeba butschlii. (izquierda); tinción tricrómica. Obsérvese la diferencia de tamaño.

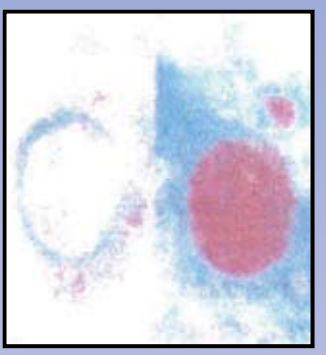
Huevos de Ascaris Lumbricoide (arriba), Trichuris trichiura (centro) y Ancylostoma (abajo) en el mismo campo microscópico. Obsérvense las diferencias de tamaño.

Los huevos típicos de Trichuris trichiura miden 50-55 por 22-24 um, tienen una cubierta parda y lisa con prominencias (tapones) bipolares y contienen un ovum monocelular

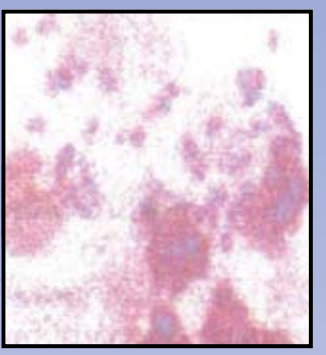
En una preparación de kato-kats, los huevos de Trichuris pueden aparecer hinchados y de mayor tamaño, con un contenido degenerado. Las prominencias bipolares y las capas de la cubierta no están claramente definidas



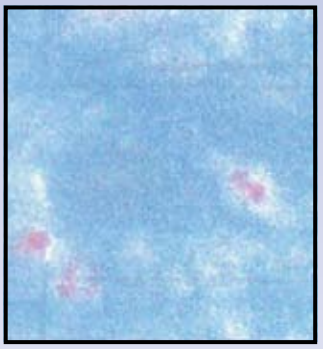
Oocisto de C. Parvum; tinción ácido resistente. Con diversas modificaciones del método de tinción acidorresistente, los oocistos pueden pasar de rojo a rosa (como en este caso)
También se observan gránulos negros.



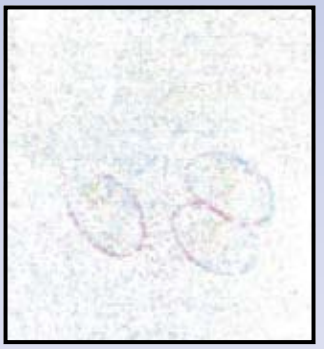
Oocisto de C. Calletanencys; tinción acidorresistente. El microorganismo de la izquierda no se tiñe mientras que a la derecha puede verse un típico oocisto teñido de rojo.



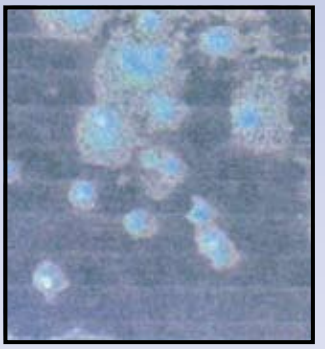
Espora de Encephalitozoon hellem; tinción de gram.
Estas esporas microsporádicas se encuentran en el sedimento urinario; llama la atención un pequeño tamaño.



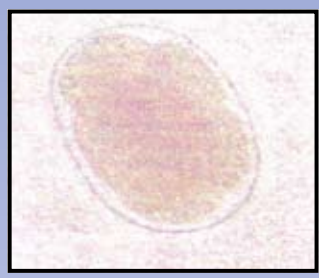
Oocisto de C. Parvum; tinción tricrómica.
Los oosistos no siempre toman la tinción tricrómica, pero cuando se tiñen pueden ser visibles los cuatro esporozoitos, como sucede en este caso.

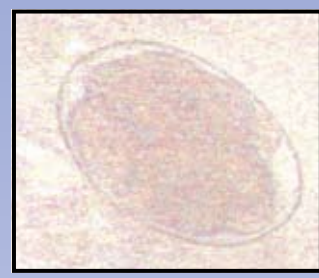


Oocistos esporulados y esporosistos de Sarcocystis Spp. Preparación en fresco con Formol. El oocisto de finas paredes contiene dos esporosistos pero puede romperse fácilmente por lo que a menudo se encuentra en las heces esporocistos libres como sucede en este caso.
Los oocisto de todas las especies de Sarcocystis son aproximadamente del mismo tamaño

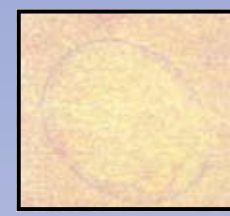


Esporas de un microsporidio intestinal (Enterocytozoon bieneusi o Septada intestinalis) en una preparación de calcoflúor blanco KOH con iluminación ultravioleta.
El pequeño tamaño de ambas especies impide hacer una identificación precisa de esta preparación.

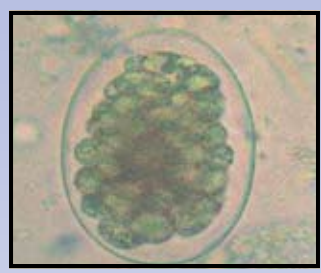




Los huevos de Ancylostoma presentes en las heces presentan una típica forma de tonel con una fina cubierta hialina; miden 60-75 um por 36-40 um. Por lo general, se encuentran en la fase cuatro o de ocho células en las heces frescas o en una fase más avanzada de división en las que han permanecido a la temperatura ambiente durante algún tiempo, incluso durante horas.



En las preparaciones de katokats, los huevos de Ancylostoma aparecen a menudo casi redondos, y es difícil ver el ovum en división. En los climas cálido la glicerina puede acentuar la transparencia de los huevos y hacerlos invisibles a los 30-60 minutos de la preparación.



Los huevos de Tricostróngilos son parecidos a los de Ancylostoma pero mucho mayores (70-95 um por 40-50 um) y más alargados. El ovum se encuentra en una fase avanzada de división cuando se expulsan en las heces.

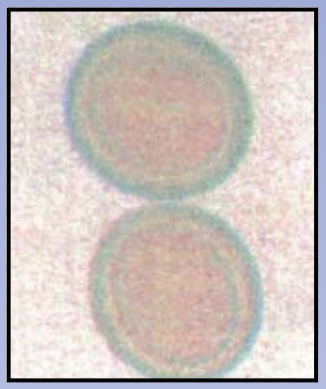
Otro estróngilo que infecta a las personas, sobre todo en Africa Meridional, Ternidens deminutus. Los huevos son parecidos a los de Ancylostoma y miden unos 85x50 um. Suelen estar en una fase avanzada de división cuando aparecen en las heces.

La infección por Strongyloides Estercoralis se diagnostican de ordinario por la presencia en la heces de larvas rabditoides en primera fase de 180-380 um por 14-20 um. Las larvas tienen una corta cápsula bucal, una cola ténue y un prominente primordio genital (flecha)

Los huevos de Clonorchis sinensis miden 27-35 um por 12-19 um, tienen un opérculo asentado y, por lo general una pequeña protuberancia en el extremo opuesto. La cubierta puede llevar adeheridos residuos de pequeño tamaño. Los huevos presentes en las heces contienen un miracidio. Los huevos de opisthorchis son análogos

Los huevos de Metogonimus yokogawa miden 20-30 um, tienen un opérculo poco visible, y carecen de protuberancia en el extremo obopercular. En general, no presentan restos adheridos en la cubierta. Los huevos presentes en las heces contienen miracidio.

Los huevos de Fasciola hepática suelen medir 130-150 um por 63-90 um y tiene un opérculo poco visible, no están embrionados y a menudo presentan una cubierta irregular en el extremo obopercular (esto último, no se observa en los huevos de fasciolopsis bushi, cuyas características mofológicas son análogas)



Los huevos de Taenia spp son todos idénticos, presentando un diámetro de 35 um, y una cubierta espesa con paredes de aspecto prismático. Cada huevo contiene un embrión provisto de 6 ganchos: la oncosfera. A veces puede quedar retenida entre estos huevos una fina membrana embriónica primaria de aspecto hialino.

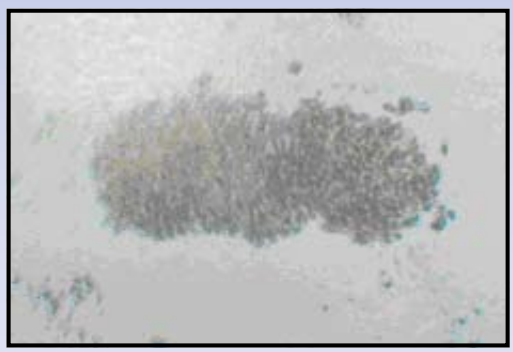
Los huevos de Hymenolepis diminuta miden 70-85 um por 60-80 um, son esféricos y de color pardo amarillento. Cada huevo contiene un embrión provisto de seis ganchos. No se observan filamentos, como en el caso de H. nana.

Los huevos de Hymenolepis nana suelen ser esféricos, tienen un diámetro de 30-47 um y una fina cubierta hialina y contienen una oncosfera con seis ganchos. La membrana que rodea a la oncosfera presenta dos engrosamientos polares de los que salen 4-8 filamentos que se prolongan en el espacio situado entre la oncosfera y la cubierta exterior.

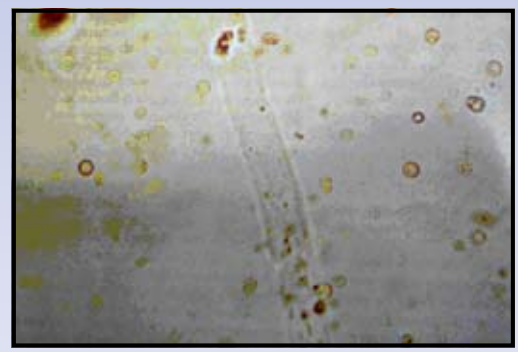
## Anexo 3 – Elementos que se pueden encontrar en un sedimento urinario

Oxalato de Calcio

Cristales de ácido úrico



Cristales de uratos amorfos



Cilindro

## Anexo 4 – Mediciones.

Sistema métrico decimal: El sistema métrico decimal, con el cual usted puede estar familiarizado, es un sistema decimal que tiene relaciones numéricas simples entre sus unidades.

Unidades del sistema métrico: El sistema métrico incluye medidas de longitud, capacidad y masa. La unidad básica de la longitud es el metro (m), de la capacidad es el litro (L) y de la masa el kilogramo (Kg). Prefijos latinos son usados para identificar valores múltiples descendentes, ejemplo: deci (0.1), centi (0.01), etc. Prefijos griegos son usados para identificar valores múltiples ascendentes, ejemplo: deca (10), hecto (100), etc.

Prefijos comunes:

| PREFIJO | SÍMBOLO | FACTOR |
|---|---|---|
| Tera | T | $10^{12}$ |
| Giga | G | $10^{9}$ |
| Mega | M | $10^{6}$ |
| Kilo | K | $10^{3}$ |
| Hecto | H | $10^{2}$ |
| Deca | da | $10^{1}$ |
| Deci | D | $10^{-1}$ |
| centi | C | $10^{-2}$ |
| Mili | M | $10^{-3}$ |
| micro | µ | $10^{-6}$ |
| nano | N | $10^{-9}$ |
| Pico | P | $10^{-12}$ |
| femto | F | $10^{-15}$ |
| Atto | A | $10^{-18}$ |

## Equivalentes métricas decimales:

| Longitud: | |
|---|---|
| 10 milímetros (mm) | 1 centímetro (cm.) |
| 100 centímetros | 1 metro (m) |
| 1000 metros | 1 kilómetro (Km.) |

| Capacidad: | |
|---|---|
| 1000 mililitros | 1 litro |
| 1000 litros | 1 kilolitro (Kl.) |

| Masa: | |
|---|---|
| 1000 miligramos | 1 gramo (gr.) |
| 1000 gramos | 1 kilogramo (Kg) |

## Anexo 5 - Diluciones

El acto de diluir es hacer una solución menos concentrada de una más concentrada. Esto generalmente se lleva a cabo agregando un diluyente como agua, la cual no contiene nada de soluto, a una solución. Las diluciones generalmente se expresan como una unidad de la solución original en un número total de unidades de solución final. Así, una dilución 1:10, se hace tomando una unidad de la solución concentrada que será diluida a un volumen total de 10 unidades. Esto produce una solución que tiene una concentración igual a 1/10 de la concentración original.

Aunque las diluciones generalmente se escriben 1:10, 1:50, etc. quizá sería mas fácil entender si las diluciones se expresaran como fracciones, tal como 1/10, 1/25, etc.

Para calcular la concentración de solución diluida, se multiplica la dilución por la concentración de la solución original.

Ejemplo: Una solución al 10% se diluye 1: 5, la concentración de la solución resultante es igual a 10% x 1/5 = 2% .

Cualquier expresión de dilución se puede tratar como una simple fracción, y el numerador y el denominador pueden ser multiplicados por un número. Ejemplo: si 500 mL de una dilución 1:5 de una solución cualquiera se tiene que preparar, el razonamiento matemático es como sigue: 1/1 x 1/5 = 1/5

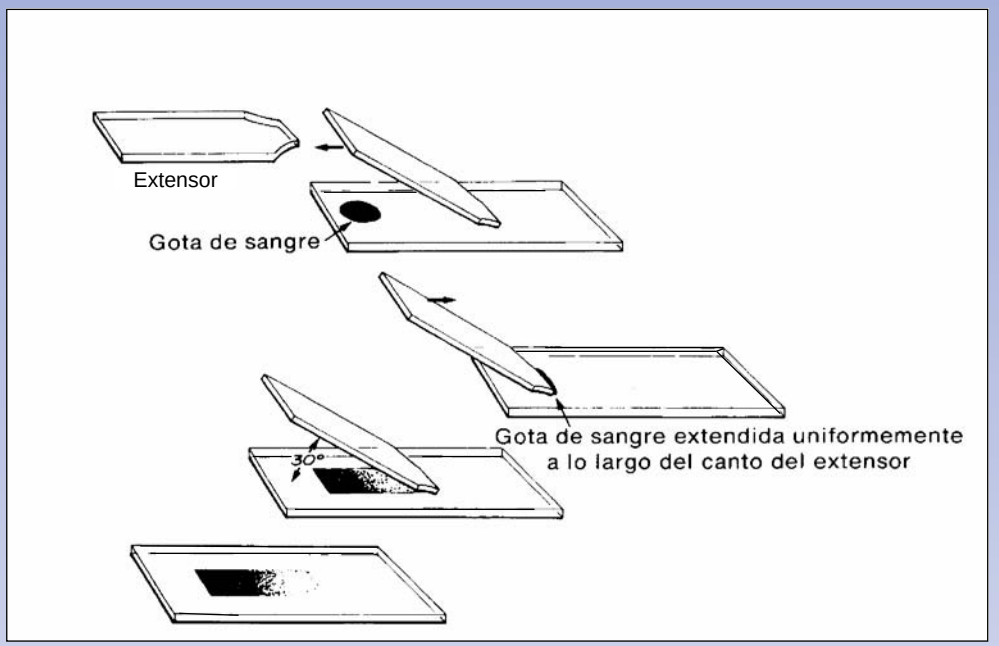
Grandes diluciones que pueden ser muy difíciles de llevar a cabo en una sola operación se pueden realizar haciendo más de una dilución.

Por ejemplo: no se puede utilizar más de 10 litros de diluyente para hacer una dilución de 1:10,000, así como ocupar un frasco volumétrico de 10 litros, o el reducir la cantidad de solución concentrada en una fracción de mL, puede introducir un gran error en la dilución. La mejor alternativa es la de usar una serie de dos o mas diluciones. Cualquier número de diluciones diferentes puede usarse, el único requisito es que cuando estas se multiplican

entre si, de una solución igual a 1:10,000.

La redilución sistemática de un líquido un número de veces, es llamada dilución en serie. Esta se hace cuando una reacción semicuantitativa se tiene que observar en varias concentraciones diferentes. Esta metodología se emplea principalmente en pruebas serológicas, y muy raramente en química clínica.

## Anexo 6 – Diagrama de elaboración de un frotis.



## ANEXO 7 - Calibración de hemoglobina

Ejemplo de calibración de hemoglobina.

OBSERVACIONES:
La concentración de la ampolla Standard es 20.8 mg/dL (este dato lo trae anotado cada ampolla en su etiqueta)

Fórmula para sacar el factor

$$\text{FACTOR} = \frac{\text{Standard}}{\text{Lectura}}$$

La dilución de la sangre es 1/251 por que se toman 0.02 ml de sangre en 5 mL de solución diluyente o sea que hay 0.02 ml de sangre en 5.02 de solución.

0.02 mL de sangre ---------- 5.02 sangre en solución diluyente

1mL ---------- X

$$X = \frac{1\ \text{mL} \times 5.02\ \text{mL}}{0.02} = 251 \text{ factor de dilución.}$$

Concentración de la ampolla Standard 20.8 mg/dL (esto viene anotado en la etiqueta)

Factor de dilución: 251.

Colocar 4 tubos y proceder de la siguiente manera

| tubo | estándares | Sol/Hb | lectura | g% | Factor |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 mL | 0 mL | 73 | 5.2208 | 0.071 |
| 2 | 2.5 mL | 2.5 mL | 33 | 2.6106 | 0.079 |
| 3 | 1.0mL | 4.0 mL | 14 | 1.0441 | 0.074 |
| 4* | -------- | 5.0 mL | 0 | ---- | ------- |

* Este tubo sirve como blanco.

Para encontrar concentración en g% correspondiente se aplicó las siguientes fórmulas

1) $\frac{20.8 \times 251}{1000} = 5.2208$ g%

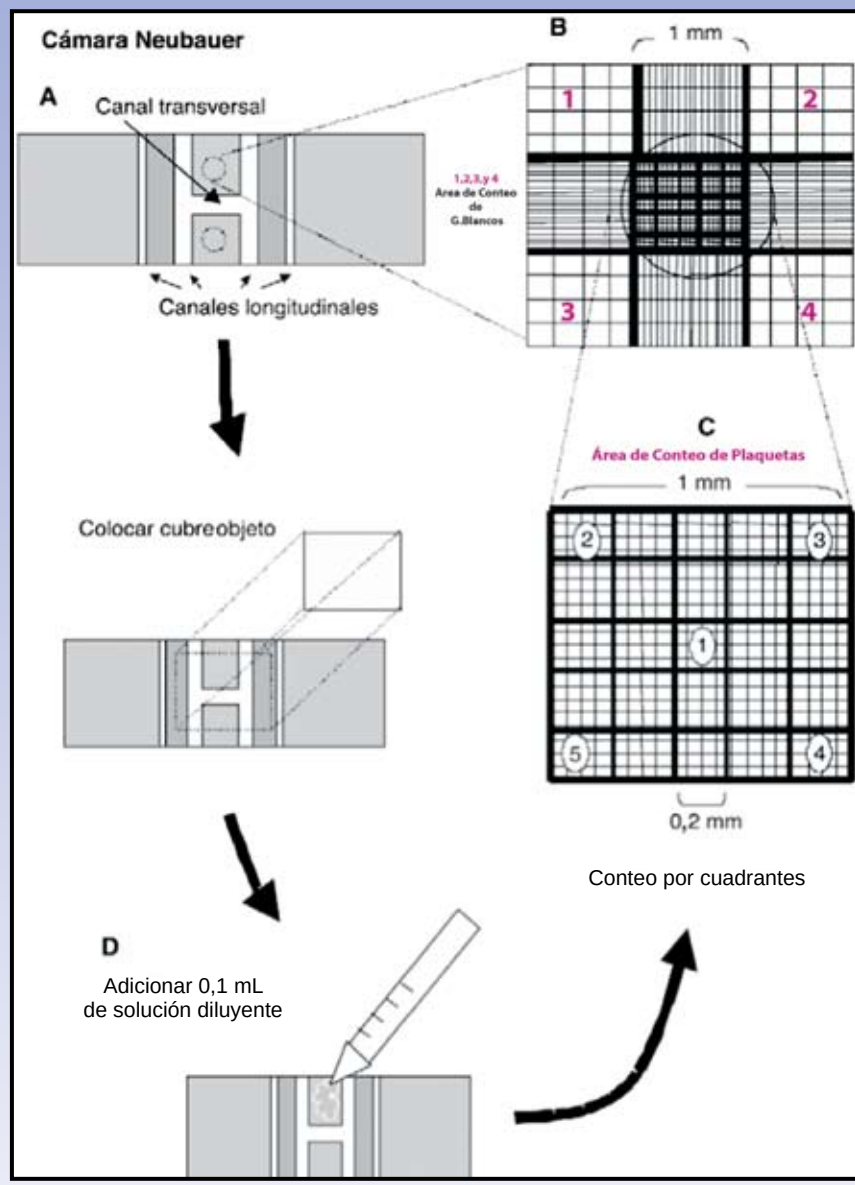
2) $\frac{5.2208}{2} = 2.6104$ g% (porque hay una dilución 1:2)

3) $\frac{5.2208}{5} = 1.044$ g% (porque hay una dilución 1:5)

| | Estándares | Lectura | Concentración g% | Factor |
|---|---|---|---|---|
| 1. | puro | 73 | 5.2208 | 0.071 |
| 2. | 2.5 ml | 33 | 2.6104 | 0.079 |
| 3. | 1.0 ml | 14 | 1.0441 | 0.074 |

$\frac{0.071+0.079+0.074}{3} = 0.0746$ por aproximación 0.075 el factor de calibración.

## Anexo 8 – Cámara Neubauer



## Anexo 9 – Enfermedades que pueden dar resultados falsos positivos con pruebas serológicas para sífilis

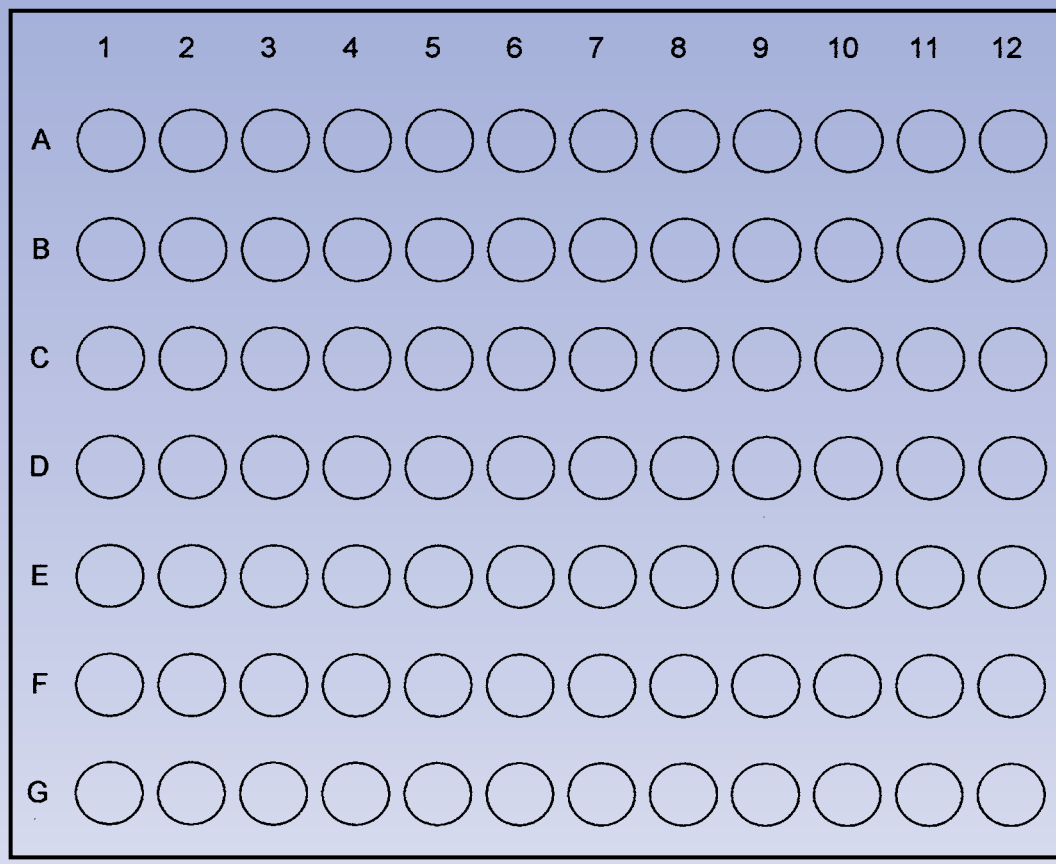
### INFECCIOSAS

- Mononucleosis infecciosa.
- Hepatitis infecciosa.
- Sarampión.
- Varicela.
- Ricketsia.
- Tifus.
- Micoplasma.
- Neumonía primaria atípica.
- Bacterias.
- Lepra.
- Fiebre escarlatina.
- Tuberculosis (avanzada).
- Neumonía neumocócica.
- Protozoos.
- Tripanosomiasis.

### NO INFECCIOSAS

- Lupus eritematoso.
- Artritis reumatoidea.
- Embarazo.
- Narcoadicción.

## Anexo 10 – Protocolo de trabajo para pruebas de VIH



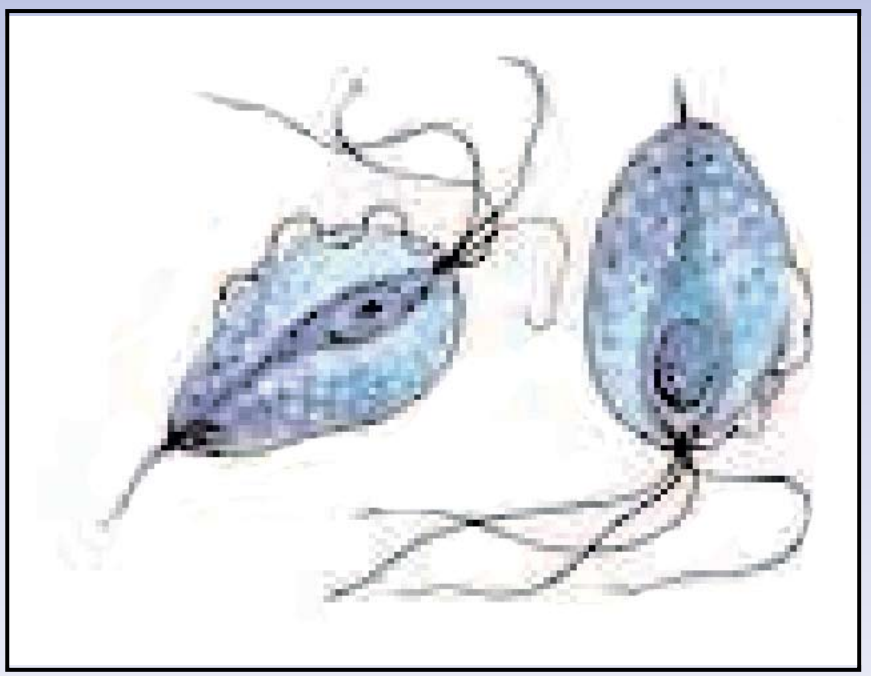

REACTIVO

RESPONSABLE:_____ FECHA DE VENC.:_____

TÉCNICA:_____ LOTE:_____

FECHA DE REALIZACIÓN:_____ MARCA:_____

## Anexo 11 – Trichomonas vaginalis.



## 15. BIBLIOGRAFÍA

Angel G. y Angel M. Interpretación clínica de laboratorios, quinta edición, Colombia, 1996.

Botero, D. y Restrepo, M. Parasitosis humanas, Tercera Edición, Medellín Colombia, 1998.

Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos de Laboratorio para el Diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Técnica No. 37, Lima, Perú 2003.

Kahleen Morrison Treseler. Laboratorio Clínico y pruebas de diagnóstico, manual modernos, primera edición, México, 1998.

Lynch, M. J. Métodos de Laboratorio, Segunda Edición, Año 1988.

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Coproparasitología, primera edición, El Salvador, año 1995.

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Guía Técnica para el Diagnóstico de la Tuberculosis por Microscopía Directa, Segunda Edición, El Salvador, 2005.

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Manual de Bioseguridad de los Laboratorios Clínicos, segunda edición, El Salvador, 2005.

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Manual de Serología e Inmunología, El Salvador, 2000.

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Manual para control de calidad en los laboratorios VIH, Primera Edición, El Salvador, 2005.

Organización Panamericana de la Salud. Manual de Técnicas básicas para un laboratorio de salud, segunda edición, año 1983.

Ruiz Torres. Diccionario de Términos Médicos, Séptima Edición, Año 1992.

Tood Sanford & Savid Sohn. El Laboratorio en el diagnostico clínico, primera edición, 2006.

**Impreso en Talleres de**
**Imprenta Francia, Santa Ana,**
**Tels: 2441-3742, 2447-7976**
**Fecha de impresión: Agosto de 2007**
**300 ejemplares**

EMBAJADA
DE ESPAÑA
EN EL SALVADOR
COOPERACIÓN
ESPAÑOLA