



CORPORACIÓN UNIVERSITARIA  
**RAFAEL NÚÑEZ**  
PARA QUE TU DESARROLLO CONTINÚE SU MARCHA

---

# GUÍA DE LABORATORIO PARASITOLOGÍA TISULAR V SEMESTRE

MAVIANIS PINILLA PEREZ.  
Bacterióloga, Magister Microbiología Clínica  
Especialista Microbiología Clínica.

---

Facultad de Ciencias de la Salud  
Programa de Bacteriología





© **Corporación Universitaria Rafael Núñez**  
Institución Universitaria | Vigilada Mineducación  
2018  
Hecho en Colombia

**Rector**

Miguel Ángel Henríquez López

**Vicerrector General**

Miguel Henríquez Emiliani

**Vicerrectora Académica**

Patricia De Moya Carazo

**Vicerrector Administrativo y Financiero**

Nicolás Arrázola Merlano

**Directora Institucional de la Calidad**

Rosario López Guerrero

**Directora de Investigación**

Judith Herrera Hernández

**Directora programa de Bacteriología**

Rosana de la Torre Barboza

**Director de Biblioteca Miguel Henríquez Castañeda-Cartagena**

Luis Fernando Rodríguez L.

**Revisión técnica disciplinar**

Elayne Flórez Julio

Eliana Buelvas Pereira

**Revisión y corrección de estilo**

Zarina Durango Herazo

**Autor**

Mavianis Pinilla Pérez.



## TABLA DE CONTENIDO

PRESENTACIÓN	4
NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO.	
PLAN DE TRABAJO	7
MATERIALES PARA TODAS LAS CLASES	9
<b>PRÁCTICA 1.</b> REALIZACIÓN DE PELÍCULAS DE SANGRE PARA EL DIAGNOSTICO DE MALARIA	10
<b>PRÁCTICA 2.</b> OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE <i>Plasmodium spp</i>	15
<b>PRÁCTICA 3.</b> OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE <i>Trypanosoma cruzi</i> .	17
<b>PRÁCTICA 4.</b> OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE <i>Filaria spp</i> .	20
<b>PRÁCTICA 5.</b> CONCENTRACIÓN PARA FILARIAS: Método de nott	22
<b>PRÁCTICA 6.</b> OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE <i>Leishmania spp</i> .	25
<b>PRÁCTICA 7.</b> REALIZACIÓN DE LA PRUEBA TOXO (Ig G) ELISA PARA EL DIAGNOSTICO DE TOXOPLASMOSIS	27
<b>PRÁCTICA No 8.</b> OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE <i>Trichomonas vaginalis</i> .	30
<b>PRÁCTICA 9.</b> PRUEBA INMUNOCROMATOGRAFICA RAPIDA PARA LA DETECCIÓN DE <i>P. Falciparum</i>	32
<b>PRÁCTICA 10.</b> PRUEBA INMUNOLÓGICA PARA SANGRE OCULTA	35
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	



## **PRESENTACIÓN**

Un saludo de bienvenida para los estudiantes que inician el semestre en la asignatura de Parasitología Tisular.

El propósito de estas guías de laboratorio es sintetizar en forma sencilla las bases teóricas del componente práctico de esta asignatura para facilitar el aprendizaje de los estudiantes del programa de Bacteriología, adquiriendo destrezas en el laboratorio para fortalecer sus capacidades diagnosticas con relación a los parásitos tisulares.



## **NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO.**

- Utilizar siempre los elementos de barrera de protección apropiados según las necesidades: bata, gorro, guantes, tapabocas y gafas etc. Nunca circular con ropa de calle y/o cambiarse de ropa dentro del Laboratorio.
- Siempre respetar las señalizaciones de Bioseguridad.
- Reportar siempre a su docente los accidentes ocurridos en el Laboratorio.
- Lávese las manos vigorosamente antes y después de efectuar un procedimiento.
- Los elementos corto punzantes como agujas, lancetas y otros, deben ser desechados con precauciones para evitar lesiones (utilice siempre el guardián).
- Si padece lesiones exudativas o dermatitis debe evitar el contacto con los pacientes y con los equipos de trabajo, hasta que estas sanen.
- Utilice siempre dispositivos de pipeteo mecánico en el manejo de líquidos y reactivos, nunca bucal.
- Absténgase de comer, beber o fumar en el laboratorio.



- Es responsabilidad de cada estudiante el manejo del reactivo al que tenga acceso, conozca todos los símbolos de riesgo para el manejo de las sustancias.
- En caso de derrames neutralice, desinfecte y luego limpie el derrame con un material absorbente.
- Nunca debe esterilizar material limpio con contaminado.
- Nunca debe utilizar reactivos y/o sustancias químicas vencidas.
- Utilizar adecuadamente los equipos y proporcionarles un mantenimiento conveniente y permanente, si un equipo se contamina con una muestra biológica, deberá ser descontaminado con hipoclorito de sodio al 7% y luego limpiarlo de acuerdo con las especificaciones del fabricante.
- En caso de rompimiento de un tubo o derrame en la centrifuga apáguela inmediatamente y espere treinta minutos antes de abrirla para evitar la formación de aerosoles.
- Al inicio y al final de una práctica de laboratorio o después de salpicaduras con sangre u otros líquidos corporales, las superficies de las mesas deberán ser descontaminadas con una solución de hipoclorito de sodio al 7%.
- Toda Muestra biológica diferente a orina deberá ser descontaminada con peróxido de hidrógeno al 30% para luego ser eliminada en bolsas rojas.
- Todo material contaminado deberá ser eliminado en bolsa roja.



## PLAN DE TRABAJO

1. Previamente a la práctica, lea los procedimientos que se va a realizar y prepare todos los aspectos teóricos correspondientes, y los materiales y/o muestras necesarios para la ejecución de la misma.
2. Anote cuidadosamente sus resultados: el examen de la práctica, no solo se limitará a la información proporcionada por el manual o el docente sino también de sus propias observaciones, investigación y deducciones.
3. Asegúrese que la superficie del mesón esté limpia y seca antes de comenzar la práctica.
4. En la mesa de trabajo solo debe estar el material necesario para la realización de la práctica. Debe estar limpio y ordenado.
5. Asegúrese de marcar adecuadamente las láminas, tubos, cajas y/o cultivos.
6. Tome todas las precauciones necesarias (evite contacto con ojos, boca y el resto del cuerpo) al momento de trabajar con microorganismos. Recuerde que los microorganismos con los que va a trabajar son patógenos.
7. Practique varias veces el procedimiento y en caso de dudas preguntar a su docente.
8. Anote y/o dibuje todo los fenómenos observados y los resultados obtenidos para una mejor realización del informe de laboratorio.



9. Al terminar limpie la zona de trabajo descartando el material que no necesite. Descarte los materiales usados en los sitios destinados para esto. No deje material contaminado en las mesas de trabajo al finalizar la práctica.
10. Limpie el microscopio antes y al final de la práctica. Recuerde que este equipo es fundamental para su trabajo: **¡Cuidelo!**
11. Siempre tenga en cuenta las normas de bioseguridad.





## **MATERIALES PARA TODAS LAS CLASES**

1. Láminas (portaobjetos).
2. Laminillas (cubreobjetos).
3. Lápiz de Cera o marcador cristalográfico.
4. Cinta de enmascarar.
5. Colores.
6. Palillos.
7. Guantes desechables.
8. Mascarilla o tapabocas.
9. Gafas de protección.
11. Toalla pequeña.
12. Papel de arroz.
13. Muestra solicitada.
14. Guías de laboratorio previamente estudiadas.

**INDISPENSABLES EN TODOS LOS LABORATORIOS**



## PRÁCTICA N°1

### REALIZACIÓN DE PELÍCULAS DE SANGRE PARA EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA

#### I. INTRODUCCIÓN

Desde que se describiera por primera vez en 1880, el diagnóstico de la malaria se ha realizado mediante la observación de películas de sangre como son la gota gruesa y el frotis, técnicas apropiadas para la adecuada identificación de las formas parasitarias y que son de mucha utilidad en el diagnóstico de esta parasitosis.

#### II. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Realizar adecuadamente los procedimientos de referencia para el diagnóstico de la malaria.

##### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer las diferentes técnicas diagnósticas para identificación de malaria.
- Utilizar las diferentes coloraciones que facilitan la identificación del agente causal de la malaria.
- Aplicar los conocimientos y conceptos adquiridos acerca de la malaria.

#### III. FUNDAMENTOS

El examen de una muestra de sangre para gota gruesa es el método fundamental y rutinario para establecer el diagnóstico de malaria; una gota gruesa con resultado positivo significa hallazgo de *Plasmodium* y confirma el diagnóstico de malaria, mientras que el examen de frotis es útil para determinar la especie de *Plasmodium* encontrada (*vivax*, *falciparum*, *malariae*, *ovale* y *knowlesi*).



Aunque actualmente existen métodos más rápidos y sofisticados para el diagnóstico de la Malaria, el examen de la gota gruesa y del frotis siguen siendo los métodos de referencia.

Para realizar un diagnóstico de malaria y determinación de especies de *Plasmodium* adecuadamente, es necesario utilizar tinciones que permitan colorear el parásito lo cual facilita su identificación; son muchas las tinciones que se aplican para el diagnóstico de esta enfermedad, desde las convencionales de Giemsa, May-Grünwald-Giemsa, Field y Leishman hasta las fluorescentes con naranja de acridina o el sistema QBC. La tinción de **Giemsa** es la técnica diagnóstica de referencia. Este colorante sirve tanto para la gota gruesa como para el frotis.

#### **IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Portaobjetos limpios.
- ❖ Lancetas estériles.
- ❖ Alcohol.
- ❖ Algodón.
- ❖ Un lápiz.
- ❖ Tinción de Giemsa.
- ❖ Metanol.
- ❖ Agua tamponada pH 7,2
- ❖ Microscopios.
- ❖ Aceite de inmersión.

#### **V.MUESTRA**

- ❖ Sangre



## **VI. PROCEDIMIENTO**

### **1. TOMA DE MUESTRA**

La toma de muestra se realiza mediante la punción con una lanceta estéril, normalmente en la yema del dedo.

- ❖ Limpiar el costado del dedo anular utilizando algodón con alcohol y dejar secar.
- ❖ También puede utilizarse el lóbulo de la oreja y en niños pequeños el dedo gordo del pie o el talón.
- ❖ Retirar el tapón de la lanceta estéril sin tocar la punta.
- ❖ Sujetar firmemente el dedo (oreja) que se va a punzar sin tocar el área limpia y punzarlo con un golpe seco con la punta de la lanceta.
- ❖ Limpiar la primera gota de sangre con un algodón seco.
- ❖ Presionar suavemente el dedo para que aparezca otra gota de sangre bien por encima de la piel; recoger esta gota de sangre en un portaobjetos.
- ❖ Hacer que el paciente presione la herida con algodón seco.
- ❖ Tapar con cuidado la lanceta y eliminarla.

### **2. REALIZACIÓN DE LA GOTA GRUESA**

- ❖ Colocar la gota de sangre en el centro de un portaobjetos limpio.
- ❖ Con la esquina de una segunda lámina riegue la gota hasta que adquiera el tamaño de una moneda de cinco centavos. El espesor debe ser tal que permita ver apenas la impresión del periódico a través de la lámina.
- ❖ Dejar secar la muestra.

#### **2.1 PRECOLORACIÓN DE LA GOTA GRUESA**

- ❖ Sumergir la placa durante 1 segundo en azul de metileno fosfatado.
- ❖ Dejar escurrir en una toalla de papel.



- ❖ Dejar secar en posición vertical
- ❖ Estas placas posteriormente pueden teñirse con las coloraciones de Giemsa o Field.

## **2.2 TINCIÓN DE LA GOTA GRUESA: COLORACIÓN DE GIEMSA**

- ❖ Teñir con colorante de Giemsa al 3% durante 30 min.
- ❖ Lavar en agua tamponada a pH 7,2.

## **2.3 TINCIÓN DE LA GOTA GRUESA: COLORACIÓN DE FIELD.**

### Preparación de La Coloración de Field:

Se prepara agregando una gota de solución A y una gota de solución B a 3 mL de agua amortiguadora. Esta cantidad es suficiente para colorear una lámina.

- ❖ Colocar la placa invertida o la muestra hacia abajo, en lámina cóncava.
- ❖ Verter el colorante de Field (previamente preparado) justo debajo de la placa, sin que se formen burbujas. La muestra debe quedar sumergida en el colorante durante 9 minutos.
- ❖ Sacar la placa y secarla a temperatura ambiente.

## **3. REALIZACIÓN DEL FROTIS**

- ❖ Colocar el extremo menor de un portaobjetos sobre la gota de sangre en un ángulo (inclinación) de 45 grados y hacer el extendido hacia fuera para obtener el espesor de una célula.
- ❖ Sobre el extendido, se debe anotar la forma como identificaremos la muestra (número de muestra, código, etc.)



### **3.1 TINCIÓN DEL FROTIS: COLORACIÓN DE GIEMSA**

- ❖ Fijar con metanol durante 5 min.
- ❖ Teñir con colorante de Giemsa al 10% durante 10 min.
- ❖ Lavar en agua tamponada a pH 7,2.

### **3.2 TINCIÓN DEL FROTIS: COLORACIÓN DE FIELD**

- ❖ Fijar con metanol durante 1 min.
- ❖ Teñir con mezcla de colorantes A y B durante 1 min. (Ver preparación de coloración de Field).
- ❖ Lavar con agua tamponada a pH 7,2.

## **4. OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO DE LAS PELÍCULAS DE SANGRE**

Bajo el microscopio examine la gota gruesa primero y posteriormente examine el extendido. Use el lente de inmersión en aceite o el lente de alto aumento para determinar si los parásitos están presentes.

## **VII. TALLER**

1. ¿Cuándo es útil la realización de la gota gruesa y el frotis?
2. Investigar el fundamento de la utilización de los reactivos en los procedimientos de tinción.
3. ¿Por qué se recomienda la toma de muestra en lóbulo de la oreja, yema del dedo?
4. ¿Qué otros procedimientos se pueden utilizar para diagnóstico de la Malaria?
5. Conclusiones
6. Bibliografía



## PRÁCTICA N°2

### OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE *Plasmodium spp.*

#### I. INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad causada por parásitos del género *Plasmodium*, siendo cinco las especies que pueden parasitar al hombre: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* *Plasmodium knowlesi*. Y que tiene una alta tasa de mortalidad en la población por lo que es considerada una patología de interés en salud pública.

#### II. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Identificar las formas parasitarias de las especies de *P. vivax* y *P. falciparum*, para así establecer el diagnóstico de la enfermedad.

##### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer diferencias morfológicas de las especies de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*.
- Conocer pruebas complementarias para el diagnóstico de *Plasmodium*.
- Relacionar conceptos teórico-prácticos acerca del tema.

#### III. FUNDAMENTOS

El más importante de éstos es el *P. falciparum* debido que puede comprometer el Sistema Nervioso Central, produciendo Malaria cerebral. El *P. vivax* es la especie que se ve con más frecuencia. La *P. malariae* está presente en África, Sur América y en una área de Nueva Guinea. El *P. ovale* se encuentra principalmente en África tropical.



Las especies del género *Plasmodium* se caracterizan por parasitar los eritrocitos, incluso pueden cambiar la forma que normalmente adopta la célula. A nivel sanguíneo el parásito puede pasar por estadios tales como: trofozoitos, esquizonte y gametocito; conocer la morfología de cada una de estas fases en las diferentes especies de *Plasmodium* nos permite realizar el diagnóstico de la enfermedad.

#### **IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Placas suministradas por el laboratorio
- ❖ Microscopios
- ❖ Aceite de inmersión

#### **V.MUESTRAS**

- ❖ Placas suministradas por el laboratorio

#### **VI.PROCEDIMIENTO**

- ❖ La observación de los preparados microscópicos debe realizarse en el microscopio con el objetivo de aceite de inmersión.
- ❖ El estudiante debe realizar dibujos para poder diferenciar cada una de las formas del parásito de las especies de *P. vivax* y *P. falciparum*.

#### **VII.TALLER**

1. El estudiante debe realizar un cuadro comparativo de cada una de las formas parasitarias de las especies de *Plasmodium* para posteriormente sacar conclusiones relacionadas con las diferencias entre los dos parásitos.
2. Realizar un cuadro comparativo de los ciclos vitales de las especies de *Plasmodium*.





3. ¿Qué otros procedimientos se utilizan para identificación de Plasmodium y especifique su fundamento?
4. Conclusiones.
5. Bibliografía.



## PRÁCTICA N°3

### OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE *Trypanosoma cruzi*.

#### I. INTRODUCCIÓN

El *Trypanosoma cruzi* es un parásito microscópico que produce la enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana), Las poblaciones de *T. cruzi* circulan en la naturaleza entre el hombre, el vector y los reservorios.

#### II. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Identificar los tripomastigotes sanguíneos de *T. cruzi* y las características más importantes de estos para así hacer el diagnóstico de la enfermedad.

##### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diferenciar las características morfológicas de las especies de *T. cruzi*.
- Conocer pruebas complementarias para el diagnóstico de *T. cruzi*.
- Relacionar conceptos teórico-prácticos acerca de la enfermedad de chagas.

#### III. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El parásito es transmitido al hospedador vertebrado por medio de las heces del vector (chinchas); la forma transmitida se conoce como *tripomastigote* metacíclico. Los tripomastigotes pueden invadir inmediatamente las células en la puerta de entrada o pueden ser transportados en la sangre a otros sitios antes de invadir las células del hospedador. Dentro de estas células se transforman en formas *amastigotes* que se multiplican rápidamente. Los amastigotes son redondeados con un flagelo externo muy corto o inexistente. El desarrollo de amastigotes a tripomastigotes se iniciaría después de cumplirse un número preprogramado de divisiones intracelulares, al cabo de las cuales la célula hospedera se destruye y los tripomastigotes entran en el torrente sanguíneo (tripomastigotes sanguíneos). La



observación de los Tripomastigotes sanguíneos permite diagnosticar la Tripanosomiasis americana.

#### **IV.REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Microscopios.
- ❖ Aceite de inmersión.

#### **V.MUESTRAS**

- ❖ Placas suministradas por el laboratorio.

#### **VI.PROCEDIMIENTO**

- ❖ La observación de los preparados microscópicos debe realizarse en el microscopio con el objetivo de aceite de inmersión.
- ❖ El estudiante debe realizar dibujos para poder identificar los rasgos más importantes del tripomastigote de *T. cruzi*.

#### **VII.TALLER**

1. Investigue: ¿Que otros procedimientos se utilizan para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas?
2. Realizar un cuadro donde compare los estadios en el ciclo de vida de este parásito a fin de analizar las características más importantes de estos.
3. Conclusiones.
4. Bibliografía.



## PRÁCTICA N°4

### OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE *Filaria spp.*

#### I. INTRODUCCIÓN

Las filariasis son un conjunto de enfermedades infecciosas catalogadas como desatendidas, que afectan fundamentalmente al tejido linfático y la piel, y afectan a millones de personas, producen gran invalidez y problemas socio sanitarios.

#### II. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Identificar el estadio prelarva de las especies de *Filaria* presentes en el laboratorio.

##### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer las características morfológicas de las Filarias.
- Relacionar conceptos teórico-prácticos acerca de la filariasis.
- Realizar y conocer las técnicas diagnósticas para identificación de *Filaria spp.*

#### III. FUNDAMENTOS

Las filariasis son infecciones causadas por nemátodos cuyos adultos se localizan en los vasos linfáticos (*Wuchereria bancrofti*, *Brugia sp*), o en el tejido celular subcutáneo (*Onchocerca volvulus*, *Loa loa*) y en las cavidades o tejidos periviscerales (*Manzonella ozzardi*, *Manzonella perstans*).

Los estadios prelarvales (microfilarias) se encuentran en la sangre o circundando a los adultos. Las microfilarias es el estadio que normalmente se utiliza para diagnosticar la enfermedad, aunque en algunos casos se pueden observar parásitos adultos para hacer este diagnóstico. La patología y sintomatología es



variable, dependiendo fundamentalmente de la localización y de la hipersensibilidad del hospedero a los parásitos.

#### **IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Microscopios.
- ❖ Aceite de inmersión.

#### **V.MUESTRAS**

- ❖ Placas suministradas por el laboratorio.

#### **VI.PROCEDIMIENTO**

- ❖ Observación de los preparados microscópicos debe realizarse en el microscopio con objetivo de aceite de inmersión.
- ❖ El estudiante debe realizar dibujos para poder identificar correctamente las estructuras de las prelarvas.

#### **VII.TALLER**

1. Realizar un cuadro comparativo de cada una de las formas parasitarias de las especies de *Filaria* para posteriormente sacar conclusiones relacionadas con las diferencias entre los parásitos.
2. Describir en forma de mapa conceptual la epidemiología de esta parasitosis
3. ¿Qué consecuencias tiene para el hombre la infestación por filarias spp?
4. Conclusiones.
5. Bibliografía.



## **PRÁCTICA N°5**

### **CONCENTRACIÓN PARA FILARIAS: Método de Knott**

#### **I. INTRODUCCIÓN**

La filariasis es un importante problema de salud pública que involucra a una gran proporción de la población humana adulta en muchas áreas tropicales y subtropicales. Esta patología es causada por nematodos como *Wuchereria bancrofti*, *Brugia sp*, *Manzonella ozzardi*, *Manzonella perstans*, *Onchocerca volvulus* y *Loa loa*.

Las microfilarias se encuentran en la sangre o circundando a los adultos, por lo general el diagnóstico se establece por el aislamiento de estas microfilarias en sangre o piel; Pero hay casos en los que se encuentran parasitemias bajas y no se logra encontrar estas microfilarias en exámenes directos, por lo tanto es necesario realizar métodos de concentración que nos permitan aumentar y concentrar el número de parásitos presentes.

#### **II. OBJETIVOS**

##### **OBJETIVO GENERAL**

- Realizar métodos de concentración para filarias (Método de Knott) y conocer su uso e importancia.

##### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**



- Conocer otros métodos diagnósticos que facilitan la identificación y observación de las Filarias.
- Reforzar identificación y diferenciación de las Filarias.
- Aplicar los conocimientos teóricos en los procedimientos prácticos.

### **III.FUNDAMENTOS**

Demostrar microfilarias en sangre circulante, sobre todo cuando la densidad de las mismas es muy baja. La formalina al 2% hemolisa los glóbulos rojos, facilitando la observación de las microfilarias inmóviles. Para diferenciar entre especies es necesario colorear la preparación.

### **IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Aceite de inmersión.
- ❖ Microscopio.
- ❖ Formol al 2%
- ❖ Centrífuga.
- ❖ Láminas.
- ❖ Laminilla.
- ❖ Guantes.

### **V.MUESTRAS**

- ❖ Sangre.

### **VI.PROCEDIMIENTO**

- ❖ Mezclar 1ml de sangre en 10 ml de formol al 2%.
- ❖ Centrifugar a 1.000 rpm o decantar de 12 a 24 horas.



- ❖ El sedimento se examina al microscopio entre lámina y laminilla o se puede teñir con hematoxilina u otro colorante de sangre.

## **VII.TALLER**

Investigar:

¿Qué otros métodos de concentración para filarias existen y establecer un cuadro comparativo entre estos?





## PRÁCTICA N°6

### OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE *Leishmania spp.*

#### I. INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Leishmania* son parásitos que infectan macrófagos y se transmiten por la picadura de una mosca del tipo *Lutzomyia* (mosca de arena) y puede causar enfermedad de la piel y enfermedad sistémica.

#### II. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Identificar los amastigotes presentes en muestras de lesiones, para realizar el diagnóstico de la leishmaniosis.

##### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer las características morfológicas de los amastigotes de leishmania.
- Relacionar conceptos teórico-prácticos acerca de la leishmaniosis.
- Aplicar los procedimientos específicos para su identificación.

#### III. FUNDAMENTOS

Estos parásitos infectan muchos vertebrados, incluyendo humanos, perros y roedores. El ciclo de vida de este parásito implica un huésped vertebrado (Ej. hombre) y el vector. Este parásito presenta dos formas morfológicas características: promastigote (vector) y el amastigote (huésped vertebrado). La observación directa de los amastigotes en muestras de lesiones producidas por este parásito, es una herramienta útil para el diagnóstico de estas parasitosis.



#### **IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Microscopios.
- ❖ Aceite de inmersión.

#### **V.MUESTRAS**

- ❖ Placas suministradas por el laboratorio.

#### **VI.PROCEDIMIENTO**

- ❖ La observación de los preparados microscópicos debe realizarse en el microscopio con el objetivo de aceite de inmersión.
- ❖ El estudiante debe realizar dibujos para poder identificar las características morfológicas más relevantes del amastigote de Leishmania.

#### **VII.TALLER**

1. Investigar: ¿Qué otros procedimientos se utilizan para el diagnóstico de las Leishmaniosis?
2. Realizar un cuadro donde compare los dos estadios en el ciclo de vida de este parásito a fin de analizar las características más importantes de estos.
3. Hacer una lista de los conceptos fundamentales aprendidos durante la Práctica y su importancia.



## PRÁCTICA N°7

### REALIZACIÓN DE LA PRUEBA TOXO (Ig G) ELISA PARA EL DIAGNÓSTICO DE TOXOPLASMOSIS

#### I. INTRODUCCIÓN

Toxoplasmosis es una enfermedad causada por un parásito unicelular llamado *Toxoplasma gondii*. En la mayoría de personas, esta enfermedad presenta síntomas ligeros. Esta infección puede ser muy peligrosa para mujeres embarazadas, por el riesgo de poderse presentar una toxoplasmosis congénita. Por estas complicaciones es importante realizar pruebas de screening para determinar el nivel de inmunidad contra el *T. gondii* en mujeres embarazadas.

#### II. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Realizar las pruebas diagnósticas para identificación de la toxoplasmosis.

##### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar correctamente la prueba de screening para *T. gondii* en una mujer embarazada.
- Interpretar los resultados obtenidos a partir del procedimiento diagnóstico.

#### III.FUNDAMENTOS

La determinación inmunoenzimática cuantitativa de anticuerpos específicos contra *Toxoplasma gondii* se basa en la técnica del ELISA. Las tiras de micropocillos que se usan como fase sólida están recubiertas con antígenos específicos de



*Toxoplasma gondii*. Los anticuerpos existentes en la muestra unen a los antígenos inmobilizados de la placa de microtitulación. El conjugado de anticuerpos IgG anti humano con peroxidasa de rábano, se une con los complejos antígeno-anticuerpo en muestras positivas. Estos complejos inmunológicos desarrollan una coloración azul después de incubarlos con sustrato de tetrametilbenzidina (TMB). Finalmente se añade ácido sulfúrico para detener la reacción, causando un cambio de coloración de azul a amarillo.

#### **IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Kit Toxo (Ig G) ELISA.
- ❖ Pipetas para dispensar volúmenes de 10, 50, 100 y 400  $\mu$ L.
- ❖ Agua destilada.
- ❖ Vaso de precipitado de 100 mL
- ❖ Lector de ELISA.
- ❖ Tubos.
- ❖ Papel de parafina.
- ❖ Papel absorbente.

#### **V. MUESTRAS**

- ❖ Muestra de sangre.

#### **VI. PROCEDIMIENTO**

Tomar 2 cc de sangre para la obtención del suero.  
Seguir las indicaciones de la casa comercial.



## **LECTURA DE LOS RESULTADOS**

Según el Kit Utilizado.

## **VI.TALLER**

1. El estudiante debe calcular el valor de EU/mL para la muestra que trabajo en el laboratorio, los criterios de calidad y debe interpretar basado en sus conocimientos teóricos los resultados obtenidos.



## PRÁCTICA N° 8

### OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MORFOLOGÍA DE *Trichomonas vaginalis*.

#### I. INTRODUCCIÓN

La Tricomoniasis es una de las enfermedades de transmisión sexual más comunes, es predominante en las mujeres y en el hombre puede ser causa de uretritis.

#### II. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Identificar las *Trichomonas vaginalis* y sus características más importantes, para realizar el diagnóstico de la enfermedad.

##### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer las características morfológicas de las *Trichomonas vaginalis*.
- Conocer y aplicar los procedimientos para identificación de *T. vaginalis*.

#### III. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Esta patología es causada por un protozoo flagelado conocido como *Trichomonas vaginalis*, caracterizado por tener forma ovoide o periforme y se localizan en tracto urogenital, el cual en condiciones normales es un ambiente hostil para la mayoría de los parásitos debido a su acidez y a barreras mecánicas como el moco y los cilios; pero cuando el ambiente normal resulta alterado (aumento de pH, entre otros) los microorganismos como las *Trichomonas* pueden reproducirse y prosperar.

El hombre es el único huésped natural conocido, el trofozoito es la forma infectante por contacto directo pues no existe forma de quiste. En las mujeres el



microorganismo infecta sobre todo el epitelio vaginal, aunque en la infección crónica puede producirse invasión de la uretra, mientras que en los hombres estos microorganismos pueden colonizar la uretra como la próstata. La observación de la *Trichomonas vaginalis* nos permite diagnosticar y confirmar la tricomoniasis.

#### **IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Láminas.
- ❖ Laminillas.
- ❖ Microscopios.
- ❖ Guantes.

#### **V. MUESTRAS**

- ❖ Muestra de secreción vaginal o uretral.

#### **VI. PROCEDIMIENTO**

- ❖ Tomar una pequeña cantidad de la muestra y colocarla entre lámina y laminilla.
- ❖ Observar al microscopio en busca de la *T. vaginalis*.

#### **VII. TALLER**

1. Dibujar las estructuras observadas.
2. ¿Qué otros procedimientos se utilizan para el diagnóstico de la enfermedad?
3. Describir la importancia de la prevención y tratamiento de este tipo de patologías.
4. Conclusiones.
5. Bibliografía.



## PRÁCTICA N°9

### PRUEBA INMUNOCROMATOGRÁFICA RÁPIDA PARA LA DETECCIÓN DE *P. falciparum*

#### I. INTRODUCCIÓN

En Colombia, aproximadamente 12 millones de personas habitan en zonas de riesgo para la transmisión de malaria, siendo una de las enfermedades infecciosas más importantes en Colombia y constituyéndose en un evento cuya vigilancia, prevención y control revisten especial interés en salud pública, por lo que se hace importante sobre todo en estas zonas de riesgo la utilización de estas pruebas rápidas.

#### II. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Conocer el fundamento de los procedimientos de inmunocromatografía y aprender a realizar este tipo de pruebas para el diagnóstico de Malaria.

##### OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Realizar pruebas rápidas para identificación de *P. Falciparum*
- Manejar los conceptos y fundamentos necesarios para la realización de este tipo de pruebas.

#### III. FUNDAMENTOS

Se ha identificado una molécula llamada Proteína rica en Histidina (HRP-II) que ha demostrado ser un marcador de elección en el diagnóstico de la malaria. HRP-II es una proteína sintetizada por el *P. falciparum* después que ha infectado el eritrocito





y durante su crecimiento intracelular. Esta Proteína se utiliza actualmente en pruebas inmunocromatograficas comerciales para la detección de este parásito.

La Inmunocromatografía rápida P.F es un ensayo de detección del antígeno HRP – II, esta es una prueba rápida para determinación de *P. falciparum*, basado en el principio de inmunocromatografía. Es una técnica de captura que detecta un antígeno soluble derivado del trofozoito (HRP- II, Proteína Rica en Histidina – II), con la utilización de anticuerpos monoclonales.

Puede realizarse a nivel de cuidados primarios y los resultados se tienen en 15 minutos. La sensibilidad y especificidad de la prueba es muy alta.

#### **IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Kit PF Check – 1

#### **V. MUESTRAS**

- ❖ Muestra de sangre.

#### **VI. PROCEDIMIENTO**

1. La muestra y los componentes del kits PF Check - 1 deben estar a temperatura ambiente antes de realizar el procedimiento diagnóstico.
2. Marcar el dispositivo para la prueba con el nombre del paciente o persona que se le realizara la prueba.
3. Llenar el gotero que trae el kit con la muestra de sangre y dispensar 1 gota (25  $\mu$ L) en el pocillo para la muestra.
4. Adicionar 4 o 5 gotas del reactivo de lisis (150  $\mu$ L) en el pozo para la muestra.
5. Dejar reposar a temperatura ambiente por 15 minutos y posteriormente se deben leer los resultados.



## LECTURA DE LOS RESULTADOS

### ***Negativo***

Aparece una banda coloreada en el área de control. La muestra no contiene HRP – II.

### ***Positivo***

Aparecen dos bandas bien definidas en la ventada. La muestra contiene HRP – II.

### ***Indeterminado***

Si no hay bandas bien definidas en las áreas de control y de muestra. La prueba es inconclusa se recomienda repetirla.

## VII. TALLER

1. Investigar el fundamento teórico de la prueba inmunocromatografica.
2. ¿Cuándo es útil realizar esta prueba?
3. ¿Qué ventajas y desventajas tiene esta prueba con respecto a las demás pruebas utilizadas para el diagnóstico de la Malaria?
4. Conclusiones.
5. Bibliografía.



## PRÁCTICA N°10

### PRUEBA INMUNOLÓGICA PARA SANGRE OCULTA

#### I. INTRODUCCIÓN

Las pruebas inmunológicas de sangre oculta son utilizadas para colaborar con el diagnóstico de diversas afecciones del tubo digestivo, además también se puede utilizar para definir una diarrea inflamatoria.

#### II. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Realizar pruebas inmunológicas de sangre oculta y conocer su uso e importancia.

##### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer el fundamento de las pruebas inmunológicas para sangre oculta su importancia y utilidad.
- Realizar los procedimientos adecuados para determinar la presencia de sangre oculta.
- Diferenciar las Ácidos grasos de las grasas neutras utilizando el reactivo de sudan III y evaluar su importancia.

#### III. FUNDAMENTOS

**HEXAGON OBTI:** La hemoglobina humana (hHb) reacciona en la muestra con un agente, consistiendo en partículas de color y anticuerpos monoclonales anti-humanos Hb. El inmunocomplejo, migra hacia la zona del test donde es capturado por un segundo anticuerpo inmovilizante dirigido contra el hHb , formando una línea



roja/rosácea en el test que indica un resultado positivo. Agentes sin reacción, también migran y son capturados en una segunda línea por anticuerpos inmovilizantes anti-ratón Igc.

**HEXAGON OBSCREEN:** Esta basado en la oxidación por intermediación de hemoglobina de componentes fenólicos de la resina de guayaco a quinonas coloreadas de azul. Si una muestra de heces que contiene sangre oculta es depositada sobre el papel de prueba, se obtiene un contacto entre hemoglobina y guayaco. Después de agregar el revelador se forma una pseudoreacción de peroxidasa una coloración azul.

#### **IV. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

- ❖ Portaobjetos.
- ❖ Etanol al 95%
- ❖ Materiales del kit Hexagon OBTI

#### **V. PROCEDIMIENTO**

##### **● HEXAGON OBTI**

1. Las deposiciones deben estar contenidas en un recipiente limpio y seco.
2. Tomar el tubo que se encuentra en el kit, y que presenta una tapa roja con un aplicador; en el interior se encuentra un medio de transporte.
3. Abrir la tapa roja con el aplicador sujetando el tubo hacia arriba para no derramar líquido de transporte. Evitar el contacto del líquido con la piel.
4. Tomar la muestra del recipiente donde está contenida sumergiendo el aplicador en 3 o 4 diferentes sitios de la muestra de deposiciones.
5. Reinsertar la tapa con el aplicador en el tubo, cerrar bien. Esta muestra se puede almacenar hasta por una semana.



6. Agitar el tubo de muestra vigorosamente. Remover el dispositivo para la prueba de su envase y dejarlo en posición horizontal. Afirar el tubo con el extremo rojo hacia arriba y romper la punta.
7. Dispensar 2 gotas completas en la ventanilla redonda de la parte inferior del dispositivo. Esperar 5 minutos para leer el resultado. Confirmar resultados negativos después de 10 minutos.

## **LECTURA DE LOS RESULTADOS**

### ***Negativo***

Solamente una línea azul aparece en la parte superior de la ventana rectangular mostrando que la prueba ha sido llevada a cabo correctamente.

### ***Positivo***

Una segunda línea azul, aparece en la parte baja de la ventana rectangular, indicando un resultado positivo para hemoglobina humana en la muestra.

### ***Inconcluso***

Si la línea de control no aparece, la prueba debe ser repetida con una muestra fresca.

## ● **HEXAGON OBSCREEN**

1. Las deposiciones deben ser colectadas en un recipiente limpio y seco.
2. Sacar la tarjeta para la realización de la prueba, y marcarla con la identificación del paciente.
3. Abrir la tarjeta removiendo la cubierta protectora.
4. Utilizar una espátula para tomar cantidad suficiente de heces para cubrir completamente la ventana A de la muestra en la tarjeta.



5. Desechar la espátula.
6. Utilizar otra espátula para tomar otra cantidad de heces para cubrir la ventana B de la muestra en la tarjeta.
7. Sellar la tarjeta presionando firmemente la cubierta protectora.

### **LECTURA DE LOS RESULTADOS**

- ❖ Retirar la cubierta protectora de la tarjeta.
- ❖ Adicionar una gota de Activador a las ventanas de muestra y dejar que penetre en ellas.
- ❖ Adicionar una gota del Desarrollador de reacción, dejar que penetre en las ventanas de la muestra.
- ❖ Realizar la lectura después de 30 segundos.
- ❖ Reacción Positiva: Coloración azul después de 30 segundos.

### **VI. TALLER**

- ❖ Estudiar el fundamento de las pruebas para determinación de sangre oculta utilizadas.
- ❖ Describir su importancia y utilidad.



## BIBLIOGRAFÍA

Ash Lawrence. Atlas de Parasitología Humana. 5 Ed. Editorial Panamericana. 2010

Clinical Microbiology Review. En: [www.asmjournalsasm.org](http://www.asmjournalsasm.org)

Becerril. Parasitología Medica de las Moléculas a la enfermedad. Editorial Mac Graw Hill. 2004.

Becerril F. Marco. Parasitología Médica. 4 Ed. Editorial Mc Graw Hill. 2014

Becerril F. Marco. Parasitología Médica. 2da Ed. Editorial Mc Graw Hill. 20011

Biomédica. En: [www.ins.gov](http://www.ins.gov).

Botero. D, Restrepo. M. Parasitosis Humanas, 5ta Edición, Corporación para investigaciones Biológicas, 2012

Denegri Guillermo M. Fundamentación epistemológica de la parasitología. Editorial Eudem. 2008

Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. Introducción a la Microbiología. 12 Ed. Editorial Panamericana. 2017.

Kamisky R. Manual de Parasitología 2007.

Koneman, E y Otros. Diagnostico Microbiológico Texto y Atlas a Color. 6ª Ed. Editorial Médica Panamericana. 2008.

Lawrence R.Ash, Tomas C Oribel. Atlas Of Human Parasitology 5A Edition. 2007.

López Miriam. Atlas de Parasitología. 2 Ed. Editorial Manuel Moderno. 2012.



Menendez M. Las filariasis en la práctica clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29(Supl 5):27-37.

Ministerio de Salud y Protección Social - Federación Médica Colombiana. *Malaria. Memorias.*2012-2013.

Peters, W.,Geoffrey Pasvol. *Atlas de medicina tropical y parasitología.* 6ª Edición. Editorial Elevier.2007.

Peter J. Gosling. *Diccionario de parasitología.* 2007.

Restrepo. M. Botero D. *Parasitosis Humanas,* 4ta Edición, Corporación para investigaciones Biológicas, 2003.

Revista Biomédica. Disponible en: [www.ins.org.co](http://www.ins.org.co)

Rodríguez. *Atlas de parasitología.* 1 edición. Editorial Mac Graw Hill. 2004

Romero Cabello. *Microbiología y Parasitología Humana.* 3ª Ed. Editorial Panamericana. 2007.

*Toxoplasma gondii* IgG ELISA. Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* en suero o plasma humanos. IBL Internacional.





CORPORACIÓN UNIVERSITARIA  
**RAFAEL NÚÑEZ**  
PARA QUE TU DESARROLLO CONTINÚE SU MARCHA

**Campus Cartagena**  
Centro Comercial Pasaje de la Moneda  
Cra. 8B #8-56  
Tel. 6517088 Ext 1202

**Campus Barranquilla**  
Cra 54 #66-54  
Tel. (5) 3602197 Ext 1319

[www.curn.edu.co](http://www.curn.edu.co)

Institución Universitaria | Vigilada Mineducación  
Reconocimiento personería jurídica: Resolución 6644 del 5 de junio de 1985 Mineducación.

