



PERÚ

Ministerio
de Salud

Instituto Nacional
de Salud

Procedimientos de Laboratorio

LABORATORIOS LOCALES I

LABORATORIOS LOCALES II

Manual



2013



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ

MINISTRA

Midori Musme de Habich Rospigliosi

VICEMINISTRO

José Carlos del Carmen Sara

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

ALTA DIRECCIÓN

Jefe

César Cabezas Sánchez

Subjefe

Marco Bartolo Marchena

ÓRGANOS DE LÍNEA

Centro Nacional de Alimentación y Nutrición

Director General

Oscar Aquino Vivanco

Centro Nacional de Control de Calidad

Director General

Ruben Tabuchi Matsumoto

Centro Nacional de Productos Biológicos

Director General

Alberto Valle Vera

Centro Nacional de Salud Intercultural

Director General

Oswaldo Salaverry García

Centro Nacional de Salud Ocupacional y Protección del Ambiente para la Salud

Director General

Estela Ospina Salinas

Centro Nacional de Salud Pública

Director General

Máximo Espinoza Silva

ÓRGANOS DE ASESORAMIENTO

Oficina General de Asesoría Técnica

Director General

Pedro Valencia Vázquez

Oficina General de Asesoría Jurídica

Marita Mercado Zavaleta

Oficina General de Investigación y Transferencia Tecnológica

Director General

Gabriela Minaya Martínez

ÓRGANOS DE APOYO

Oficina General de Administración

Directora (e) General

Elizabeth Ojeda Alegría

Oficina General de Información y Sistemas

Directora General

Javier Vargas Herrera

COMITÉ EDITOR

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

PRESIDENTE

César Cabezas Sánchez

MIEMBROS

Zuño Burstein Alva
Rosario Belleza Zamora
Daniel Cárdenas Rojas
Flor Fuentes Paredes
Lucio Huamán Espino
Oswaldo Salaverry García
Diana Vergara Nuñez
Liliana Vigil Romero

Secretaria

Bertha Huarez Sosa

manual

Procedimientos de Laboratorio

LABORATORIOS LOCALES I

LABORATORIOS LOCALES II

ELABORADO POR:

Dra. Susana Zurita Macalupú

LIMA, 2013

Catalogación hecha por el Centro de Información y Documentación Científica del INS

Zurita Macalupú, Susana

Procedimientos de laboratorio : manual : laboratorios locales I : laboratorios locales II / Elaborado por Susana Zurita Macalupú. – Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2013.

554 p. : il., tab. ; 20.5 x 29.5 cm.

1. MANUALES DE LABORATORIO 2. EXPOSICIÓN A AGENTES BIOLÓGICOS 3. ESTERILIZACIÓN 4. MANEJO DE ESPECÍMENES 5. PERÚ

I. Perú. Ministerio de Salud

II. Instituto Nacional de Salud (Perú)

ISBN: 978-612-310-018-6

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N.º 2013-06495

1era edición (dic, 1999)

2da edición (mayo, 2013)

2000 ejemplares

© Ministerio de Salud, 2013

Av. Salaverry cuadra 8 s/n, Jesús María, Lima, Perú

Teléfono: (511) 431-0410

Telefax: (511) 315-6600 anexo 2669

Página web: www.minsa.gob.pe

© Instituto Nacional de Salud, 2013

Cápac Yupanqui 1400, Jesús María, Lima, Perú

Teléfono: (511) 748-1111

Página web: www.ins.gob.pe

Publicación aprobada con:

- Resolución Viceministerial 011 - 99 - SA - DGSP

- Resolución Viceministerial 290 - 99 - J - OPD / INS

La versión electrónica de este documento se encuentra disponible en forma gratuita en la página web www.ins.gob.pe

Se autoriza su reproducción total o parcial, siempre y cuando se cite la fuente.

Presentación

El Instituto Nacional de Salud, tiene como uno de sus fines el que la población del país cuente con diagnósticos de laboratorio de calidad. Una de las más importantes estrategias para este fin es fortalecer la red de laboratorios.

Para enfocar la atención de pacientes en los servicios de salud, es importante considerar los aspectos epidemiológicos, clínicos y de laboratorio, que permitan valorar más adecuadamente tanto el diagnóstico como el tratamiento.

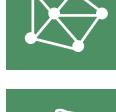
Es necesario contar con procedimientos de laboratorio estandarizados en todos los niveles de atención y, en particular, en el primer nivel de atención, que es donde se da el primer contacto de la población con los servicios de salud. El Instituto Nacional de Salud, en cumplimiento de una de sus funciones de fortalecer las capacidades de diagnóstico para el control y prevención de riesgos y daños asociados a enfermedades transmisibles y no transmisibles, saca a luz la segunda edición del Manual Procedimientos de Laboratorio para el primer nivel de atención.

Este Manual contiene los procedimientos más comunes utilizados en un laboratorio básico, e incluye una descripción simple y amigable de los pasos a dar desde la obtención de las muestras biológicas (sangre, orina, espuma, secreciones, etc.), así como los procedimientos de laboratorio de microbiología básica, hematología y otros, con datos actualizados frente a la versión que saliera en el año 1999.

Es de esperar que el desarrollo de nuevas técnicas de laboratorio, y las sugerencias de los usuarios de este Manual, obliguen a versiones más actualizadas, para lo cual el INS siempre estará disponible.

Dr. César Cabezas Sánchez
Jefe institucional
Instituto Nacional de Salud

Índice

Procedimientos generales de laboratorio	11		I
Uso,cuidados y mantenimiento preventivo de equipos y materiales de laboratorios	47		II
Sangre	77		III
Esputo	175		IV
Orina	207		V
Parasitología y micología	241		VI
Secreciones	323		VII
Bacteriología	341		VIII
Bioquímica sanguínea	381		IX
Serología	401		X
Red de laboratorios	449		XI
Anexos	479		XII

CAPÍTULO

I

PROCEDIMIENTOS GENERALES DE LABORATORIO

PROCEDIMIENTOS DE BIOSEGURIDAD.....	13
MICROORGANISMOS INFECTANTES POR GRUPOS DE RIESGO.....	13
LABORATORIOS BÁSICOS NIVELES DE BIOSEGURIDAD 1 y 2.....	17
Las reglas más importantes.....	17
Medidas en caso de accidentes.....	22
Material de bioseguridad recomendado.....	23
PROCEDIMIENTOS PARA LA ESTERILIZACIÓN Y DESINFECCIÓN DE MATERIAL.....	25
OBJETIVOS.....	25
MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN Y DESINFECCIÓN	26
Calor húmedo.....	26
Calor seco.....	28
Desinfección intensiva por inmersión en productos químicos.....	30
Desinfección por frotación con un producto químico.....	33
ESTERILIZACIÓN Y DESINFECCIÓN DE MATERIAL.....	35
Esterilización.....	35
Desinfección intensiva.....	35
DESECHO DE MUESTRAS Y MATERIALES INFECTADOS.....	36
MATERIAL CONTAMINADO PARA ELIMINACIÓN	36
Incineración.....	39
Entierro de desechos.....	40
MATERIAL CONTAMINADO PARA EL TRATAMIENTO EN AUTOCLAVE Y REUTILIZACIÓN.....	40
Esterilización y limpieza de los recipientes no desechables.....	40
TRANSPORTE DE DESECHOS.....	44

PROCEDIMIENTOS DE BIOSEGURIDAD

- ◆ La bioseguridad es un conjunto de procedimientos técnicos que se debe practicar diariamente y que no debe olvidar el personal de laboratorio.
- ◆ Los procedimientos de bioseguridad tienen por finalidad:
 - **PROTEGER**
Al personal de laboratorio contra la exposición innecesaria e injustificada a microorganismos infecciosos.
 - **EVITAR**
La contaminación de las muestras que puede echar a perder el trabajo del laboratorista con resultados falsos.
 - **MANTENER**
Los microorganismos infecciosos dentro del ambiente del laboratorio.

MICROORGANISMOS INFECTANTES POR GRUPOS DE RIESGO

- ◆ Es importante conocer los tipos de microorganismos infectantes con los que trabajamos, para tomar las medidas de bioseguridad respectivas.
- ◆ Los microorganismos infectantes se clasifican por grupos de riesgo, dependiendo de:
 - La capacidad infectante del microorganismo.
 - Los modos de transmisión (por ejemplo: aerosoles).
 - Si son prevenibles por medio de inmunización (vacuna contra la hepatitis B, fiebre amarilla, etc.).
 - Si se dispone de medidas eficaces para el tratamiento contra el microorganismo infectante (por ejemplo: uso de antibióticos).



GRUPO DE RIESGO	MICROORGANISMO
I	BACTERIAS, CHLAMYDIAS, MYCOPLASMAS Y RICKETTSIAS <i>Actinobacillus spp. Actinomadura pelletieri, Actynomices spp</i> <i>Bacillus cereus. Bacteroides spp. Bartonella spp. Bordetella pertussis (V). B. parapertussis. B. bronchiseptica, Borrelia spp. Campylobacter spp. Cardiobacterium hominis. Chlamydia pneumoniae, C. psittaci (cepas no aviares), C. trachomatis. Clostridium botulinum (T), C. chauvoei, C. difficile, C. haemolyticum, C. histolyticum, C. novyi, C. perfringens, C. septicum, C. sordelli, C. tetani (T, V)</i> <i>Corynebacterium diphtheriae (T,V), C. minutissimum, C. pseudotuberculosis, Edwardsiella tarda, Ehrlichia spp. Eikenella corrodens, Enterobacter spp. Enterococcus spp Erysipelothrix rufiopathiae Escherichia coli (excepto las cepas no patógenas)</i> <i>Flavobacterium spp. Francisella tularensis (tipo B). F. novicida Fusobacterium spp. Gardnerella vaginalis. Haemophilus spp. Helicobacter pylori Klebsiella spp., Legionella spp., Leptospira interrogans Listeria monocytogenes Mycobacterium spp. (excepto Mycobacterium tuberculosis), M. bovis (no BCG), M. africanum, M. leprae, M. microti y M. ulcerans Mycoplasma spp., N. gonorrhoeae, N. meningitidis (V), Nocardia asteroides, N. brasiliensis, N. farcinica, Pasteurella spp. Peptostreptococcus spp. Plesiomonas shigueloides, Porphyromonas spp. Prevotella spp. Proteus spp. Providencia spp., Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas spp., Rhodococcus equi, Rickettsia spp. Salmonella paratyphi A, B, C (V). Salmonella spp. (excepto S. typhi), Serpulina spp. Shigella boydii, S. Dysenteriae (excepto tipo 1). S. flexneri, S. sonnei, S. aeurus Streptobacillus moniliformis, Streptococcus spp. Treponema carateum, T. pallidum, T. vincentii Ureaplasma urealyticum, Vibrio cholerae, V. para haemolyticus, V. vulnificus, Vibrio spp. Yersinia enterocolitica, Y. pseudotuberculosis</i> HONGOS <i>Aspergillus fumigatus (A) Candida albicans (A), Candida spp. Cryptococcus neoformans (A), Emmonsia parva. Epidermophyton floccosum (A) Fonsecaea spp. Madurella spp. Microsporum spp. (A). Penicillium mameeffei (A) Scedosporium apiospermum, S. proloficans. Sporothrix schenckii. Trichophyton spp. A: posible efecto alérgico</i>
II	VIRUS Adenoviridae: Adenovirus Adenoviridae: Adenovirus Arenaviridae: complejos virales LCM - Lassa: virus de la coriomeningitis linfocítica (cepas no neurotrópicas), virus Mopeia, otros complejos virales LCM - Lassa. Complejos virales Tacaribe: otros complejos virales Tacaribe. Astroviridae Bunyaviridae: virus Bunyamwera V de la encefalitis de California, virus Germiston, v. Bhanja virus Hantavirus V Puumala , v Prospect Hill, otros hantavirus Nairovirus, virus Hazara, Flebovirus virus de los flebotomos V Toscana. Otros bunyavirus de patogenicidad conocida. Caliciviridae: Virus Norwalk. Otros Caliciviridae Coronaviridae Herpesviridae: Citomegalovirus Virus Epstein - Barr Herpes simplex virus tipos 1 y 2 Herpes varicella - zoster Virus linfotípico humano B (HBLV - HHV6) Herpes virus humano 7, Herpes virus humano 8. Orthomyxoviridae: Virus de la influenza tipos A, B y C Ortomixovirus transmitidos por garrapatas: Virus Dhori y Thogoto. Papovaviridae: virus BK y JC, virus del papiloma humano. Paramyxoviridae: virus del sarampión, virus de las paperas. virus de la enfermedad de Newcastle virus de la parainfluenza tipos 1 a 4 virus respiratorio sincitial Parvoviridae: Parvovirus humano (B 19) Picornaviridae: virus de la conjuntivitis hemorrágica (AHC). Virus coxsackie. Echo virus de la hepatitis A (enterovirus humano tipo 72), Poliovirus, Rinovirus. Poxviridae: Buffalopox virus, Cowpox virus Elephantpox virus. Virus del nódulo de los ordeñadores Molluscum contagiosum, Orf virus Rabbitpox virus (g) Vaccinia virus, Yatapox virus (Tana & Yaba) Reoviridae: Coltivirus, Rotavirus humanos, Orbivirus Reovirus, Rhabdoviridae: virus de la estomatitis vesicular Togaviridae: Alfavirus, virus Bebaru,virus Onyong – nyong, Virus del río Ross, virus del bosque Semliki, Virus Sindbis. Otros alfavirus conocidos Rubivirus (rubeola), Toroviridae.
	PARÁSITOS Protozoos: <i>Acanthamoeba castellani, Babesia microti, Babesia divergens. Balantidium coli, cryptosporidium spp. E. histolytica. Giardia lamblia, Leishmania spp. (excepto L brasiliensis y L donovani), Naegleria fowleri, Plasmodium spp. Humano y simico (excepto P. falciparum), Pneumocystis carinii, Sarcocystis suisominis, Toxoplasma gondii, T. spiralis, Trypanosoma brucei brucei, T. brucei gambiense</i> Helmintos: Nemátodos <i>Ancylostoma duodenale, Angiostrogylus spp. Ascaris lumbricoides (A), A. suum (A) Brugia spp. Capillaria philippinensis, Drancunculus medinensis, Loa loa, Mansonella ozzardi, Necator americanus, Onchocerca volvulus, Strongyloides spp., Toxocara canis, Trichinella spp., Trichuris trichiura, Wuchereria bancrofti</i> Cestodos: <i>Hymenolepis diminuta, H. nana, Taenia saginata.</i> Tremátodos: <i>Clonorchis sinensis, C. viverrini, F. hepática, F. gigantica, Fasciolopsis buski Opisthorchis spp. Paragonimus westermani, Schistosoma haematobium, S. intercalatum, S. japonicum, S. mansoni, S. mekongi</i>

GRUPO DE RIESGO	MICROORGANISMO
	BACTERIAS, CHLAMYDIAS Y RICKETTSIAS <i>Bacillus anthracis, Brucella spp., Burkholderia mallei, B. Pseudomallei, Chlamydia psittaci (cepas aviales) Coxiella burnetii, Escherichia coli (cepas verocitoxinas como O157:H7 uO103, Francisella tularensis tipo A, Mycobacterium tuberculosis, M.africanum, M. bovis (excepto la cepa BCG), M. leprae, M. Microti, M. ulcerans, Rickettsia akari, R. canadensis, R. montana, R. conorii, R. mooseri, R. prowazekii, R. rickettsii, R. Tsutsugamushi, Salmonella typhi, Shigella dysenteriae (tipo 1), Yersinia pestis.</i>
	HONGOS <i>Blastomyces dermatitidis, Cladophialophora bantiana, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Paracoccidioides brasiliensis.</i>
III	VIRUS <i>Arenaviridae: complejos virales LCM-Lassa: virus de la coriomeningitis linfocítica (cepas neurotrópicas). Complejos virales Tacaribe: virus Flexal</i> <i>Bunyaviridae: virus Oropouche, virus de la encefalitis de California, virus Belgrade, virus sin nombre (Muerto Canyon), Hantavirus virus, Hantaan (fiebre hemorrágica de Corea), virus Seoul, Flebovirus, virus de la fiebre del valle Rift.</i> <i>Caliciviridae: virus de la hepatitis E.</i> <i>Flaviviridae: virus de la encefalitis del valle Murray, virus de la encefalitis de las garrapatas de Europa Central, virus Absettarov virus Hanzalova Virus Hypr, virus Kumlinge virus del Dengue tipos 1-4 virus de la hepatitis C, virus de la hepatitis G, virus de la encefalitis B japonesa, virus del bosque de Kyasanur, virus del mal de Louping, virus Omsk, virus Powassan, virus Rocio, virus de la encefalitis de primavera-verano rusa, virus de la encefalitis de St. Louis virus Wesselsbron, virus del Nilo occidental virus de la fiebre amarilla.</i> <i>Hepadnaviridae: virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis D.</i> <i>Herpesviridae: Herpesvirus simiae (virus B)</i> <i>Poxviridae: Monkeypox virus</i> <i>Retroviridae: virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de las leucemias humanas de células T (HTLV) tipos 1 y 2, virus SIV.</i> <i>Rhabdoviridae: virus de la rabia.</i> <i>Togaviridae: Alfarivirus virus de la encefalomielitis equina americana oriental, virus de la encefalomielitis equina americana occidental, virus Chikungunya, virus Everglades, virus Mayaro, virus Mucambo, virus Ndumu, virus Tonate, virus de la encefalomielitis equina venezolana, virus no clasificados Virus de la hepatitis todavía no identificados.</i> <i>Agentes no clasificados asociados a encefalopatías espongiformes transmisibles: enfermedad de Creutzfeldt – Jakob, variante de la enfermedad de Creutzfeldt - Jakob (CJD), encefalopatía spongiforme bovina (BSE) y otras TSE de origen animal afines, síndrome de Gerstmann – Sträussler-Scheinker Kuru.</i>
	PARÁSITOS <i>Echinococcus granulosus (*), E. multiocularis (*), E. vogeli (*), Leishmania brasiliensis (*), L. donovani (*), Plasmodium falciparum (*), Taenia solium (*), Trypanosoma brucei rhodesiense (*), T. cruzi. (*): normalmente no infecciosos a través del aire</i>
IV	BACTERIAS, CHLAMYDIAS, MYCOPLASMAS Y RICKETTSIAS <i>Ninguno</i>
	HONGOS <i>Ninguno</i>
	PARÁSITOS <i>Ninguno</i>
	VIRUS Arenaviridae: complejos virales LCM-Lassa: virus de Lassa. Complejos virales Tacaribe: virus Junín, virus Machupo, virus Sabia, virus Guaranito. Bunyaviridae: Nairovirus, Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea/Congo. Filoviridae: virus Marburg, virus Ebola. Flaviviridae: virus Kyasanur. Poxiviridae: Variola (major & minor), virus (variola virus), virus no clasificados Morbillivirus equino.

ESQUEMA COMPARATIVO ENTRE LOS NIVELES DE BIOSEGURIDAD

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD (CONTENCIÓN)	NBS		
	2	3	4
El lugar de trabajo se encuentra separado de toda actividad que se desarrolle en el mismo edificio	No	Aconsejable	Sí
El aire introducido y extraído del lugar de trabajo se filtra mediante la utilización de filtros de alta eficacia para partículas en el aire (HEPA) o de forma similar	No es necesario	Sí, para la salida de aire	Sí, para la entrada y salida de aire
Solo se permite el acceso al personal designado	Aconsejable	Sí	Sí
El lugar de trabajo debe poder precintarse para permitir su desinfección	No	Aconsejable	Sí
Procedimientos de desinfección específicos	Sí	Sí	Sí
El lugar de trabajo se mantiene con una presión negativa respecto a la presión atmosférica	No	Aconsejable	Sí
Control eficiente de vectores, por ejemplo, roedores e insectos	Aconsejable	Sí	Sí
Superficies impermeables al agua y de fácil limpieza	En banco de pruebas y mesa de trabajo	En banco de pruebas y mesa de trabajo y suelo	En banco de pruebas y mesa de trabajo, suelo, paredes y techo
Superficies resistentes a ácidos, álcalis, disolventes y desinfectantes	Aconsejable	Sí	Sí
Almacenamiento de seguridad para agentes biológicos	Sí	Sí	Sí almacenamiento seguro
Se instala una ventanilla de observación o un dispositivo alternativo en las zonas de manera que se pueda ver a sus ocupantes	Aconsejable	Aconsejable	Sí
Laboratorio con equipo propio	No	Aconsejable	Sí
El material infectado, animales incluidos, debe manejarse en una cabina de seguridad biológica o en un aislador u otra contención apropiada	Cuando proceda	Sí, cuando la infección se propague por el aire	Sí
Incinerador para destrucción de animales muertos	Aconsejable	Sí, disponible	Sí, en el mismo lugar

LABORATORIOS BÁSICOS

NIVELES DE BIOSEGURIDAD 1 y 2

- ◆ El fundamento de una buena seguridad en el laboratorio es el desarrollo de técnicas microbiológicas apropiadas.

LAS REGLAS MÁS IMPORTANTES

a. *Del ambiente*

- ◆ Colocar un cartel que indique: "Riesgo biológico" en las puertas de los ambientes en donde se manipulan microorganismos infectantes de Riesgo 2.



- ◆ El laboratorio debe mantenerse limpio y aseado, retirando cualquier material que no tenga relación con el trabajo. Los pisos deben limpiarse con soluciones desinfectantes. No se debe barrer el piso en seco, ni encerar.

- ◆ La mesa de trabajo se descontaminará al terminar la jornada laboral y en caso de derramamiento de sustancias peligrosas.



- ◆ El desempolvado debe ser hecho con una tela limpia, saturada con desinfectante y exprimida. No hacerlo con un plumero.



- ◆ Cuando no se disponga de ventilación mecánica, las ventanas podrán abrirse y deben estar provistas de mosquiteros. Se deben eliminar tragaluces y claraboyas.
- ◆ Deberá haber un programa de lucha contra insectos y roedores.



- ◆ Se debe colocar extinguidores, que deben ser recargados cada año.

b. Del Personal



- ◆ En la zona de trabajo del laboratorio no se permitirá al personal comer, beber, fumar, guardar alimentos, ni aplicarse cosméticos.

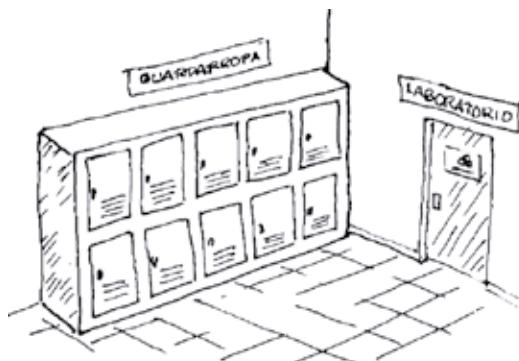


- ◆ En el laboratorio se utilizarán batas, uniformes u otras prendas apropiadas. Esta ropa **no se llevará fuera del laboratorio**, es decir, no se llevará a las oficinas, bibliotecas, salas de personal, cafeterías, etc.

- ◆ La ropa protectora no se guardará en los mismos armarios que la ropa de calle.

- ◆ Las personas que tengan cabello largo deben protegerse con gorro o mantenerlo amarrado hacia atrás.

El cabello largo es peligroso cerca al fuego del mechero, incluso puede contaminarse con muestras clínicas y puede ser un riesgo cerca de los equipos. Asimismo, se deben quitar los brazaletes o collares largos antes de comenzar a trabajar.

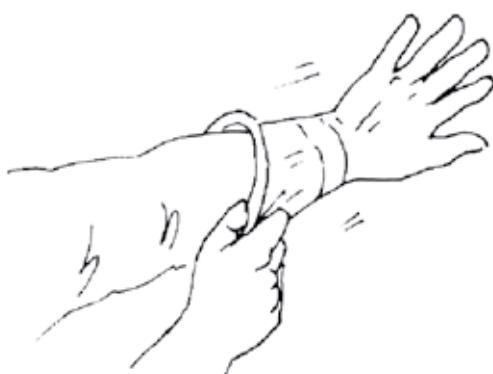


- ◆ Fuera de la zona de trabajo deben existir espacios para guardar la ropa de calle y los objetos personales, así como para comer y beber.

- ◆ Todo personal del laboratorio **debe recibir inmunización protectora**, según la naturaleza de sus funciones, contra témanos, difteria, hepatitis viral B, rabia, etc.

c. De las muestras y su procesamiento

- ◆ Se debe usar guantes en todos los trabajos con riesgo de contacto accidental directo con sangre, material infeccioso o animales infectados.





- ◆ **No se utiliza pipetas para aspirar con la boca ("pipetear"),** se deben usar propipetas, pipetas automáticas u otro equipo adecuado.



- ◆ **No se pasa la lengua por las etiquetas,** ni se deben colocar los materiales en la boca.

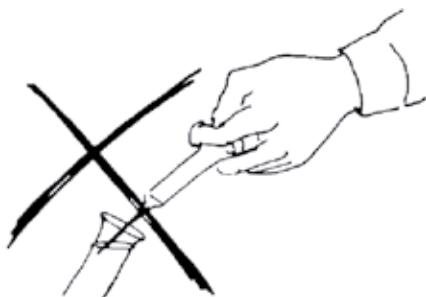


- ◆ **Es necesario proteger los ojos y la cara** de salpicaduras o impactos de sustancias. Se debe usar gafas, viseras u otro elemento de seguridad.

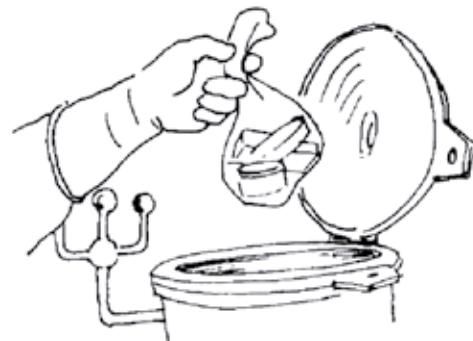


- ◆ Durante el trabajo se mantendrán cerradas las puertas del laboratorio, no se permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.

- ◆ Para manipular líquidos **no se usarán jeringas ni agujas hipodérmicas.** Se debe usar pipetas automáticas, propipetas u otros.



- ◆ Todos los materiales, muestras y cultivos contaminados **se descotaminarán antes de eliminarlos o de limpiarlos para volverlos a usar.** Se introducirán en bolsas de recolección de residuos sólidos diferenciados por colores (residuos biocontaminados: color rojo; residuos químicos: color amarillo; residuos comunes: color negro) que se anudarán para esterilizarse en autoclave o incinerarse fuera del laboratorio.



Si es necesario desplazar las bolsas a otro lugar para proceder a la descontaminación, se colocarán en recipientes de fondo sólido, que se puedan cerrar antes de sacarlas del laboratorio.

- ◆ Por el sistema de desagüe solo se deben eliminar los microorganismos infecciosos o reactivos químicos **previamente descontaminados, neutralizados o inactivados.**
- ◆ **Limpiar periódicamente los congeladores y las refrigeradoras** en los cuales se almacenan los cultivos o los sueros y retirar los frascos y tubos rotos. Usar mascarilla y guantes de jebe durante su limpieza.
- ◆ Todos los accidentes y exposiciones reales o potenciales a material infeccioso se notificarán inmediatamente al jefe del laboratorio. **Se debe hacer un informe escrito de tales accidentes** (ver Anexos).





MEDIDAS EN CASO DE ACCIDENTES

a. *Inoculación accidental, cortes o abrasiones, quemaduras pequeñas*

- ◆ Se deberá quitar la ropa protectora de la persona afectada.
- ◆ Lavarse las manos y las partes lesionadas con agua y jabón.
- ◆ Aplicarse un desinfectante cutáneo adecuado, dirigirse al médico e informarle sobre la causa de la herida y sobre los microorganismos implicados.



b. *Rotura o derramamiento de recipientes con cultivos*

- ◆ En caso de accidentes por derrame de una muestra en el piso o la mesa, cubrir con papel periódico. Empapar este cuidadosamente con fenol al 5% y dejar que actúe durante 30 minutos como mínimo antes de limpiar el área.
- ◆ En todo momento usar guantes.



c. *Ingestión accidental de material posiblemente infeccioso.*

- ◆ Quitar la ropa protectora, trasladarse al servicio médico. Se informará al médico sobre el material ingerido y se seguirá sus consejos.
- ◆ **El accidente deberá ser registrado.**
(Ver Anexos).



c. Emisión de un aerosol posiblemente peligroso

- ◆ Todas las personas deberán evacuar inmediatamente la zona afectada. Se colocarán señales que indiquen: "Prohibida la entrada".
- ◆ Al cabo de una hora podrá efectuarse la descontaminación, para ello se usará ropa protectora y protección para las vías respiratorias.
- ◆ Las personas afectadas serán atendidas en el servicio médico.

MATERIAL DE BIOSEGURIDAD RECOMENDADO**a. Dispositivos para sustituir el uso de la pipeta con la boca**

- ◆ El uso de tapón de algodón en la pipeta, **no constituye un filtro bacteriano eficaz y puede permitir el paso de partículas durante la succión.**
- ◆ Cuando el tapón está muy ajustado puede requerirse una succión energética, con el riesgo de aspirar el algodón, un aerosol e incluso líquido.
- ◆ El empleo de dispositivos especiales permite evitar la ingestión de agentes patógenos o de sustancias químicas.



b. Cámaras o cabinas de seguridad biológica

- ◆ Constituye el principal elemento que actúa como barrera física para evitar el riesgo de infecciones transmitidas por el aire (aerosoles).
- ◆ Impide la salida de estos aerosoles a la atmósfera del laboratorio y por lo tanto su inhalación por el personal. No impiden las salpicaduras y no son eficaces contra los riesgos químicos.
- ◆ Estas cámaras de seguridad biológica se utilizan en los siguientes casos:
 - En los procedimientos con grandes posibilidades de producir aerosoles, con riesgo de infección transmitida por el aire. Por ejemplo en la trituración, el mezclado, las agitaciones o mezclas energéticas, o la apertura de envases con material infeccioso.
 - Cuando se manejan concentraciones elevadas o grandes cantidades de material infeccioso.



b. Frascos y tubos con tapa rosca

- ◆ Se usan para lograr una barrera física de las muestras y cultivos.



c. Autoclaves

- ◆ Se usan para esterilizar el material contaminado.

PROCEDIMIENTOS PARA LA ESTERILIZACIÓN Y DESINFECCIÓN DE MATERIAL

- ◆ **Esterilizar**

Significa **eliminar** de un objeto o de una sustancia **todos los virus, bacterias y esporas**. En consecuencia, el material de laboratorio que se ha esterilizado queda libre de microorganismos vivos.

- ◆ **Desinfección**

Se realiza mediante **productos químicos** que matan todos los virus y bacterias, pero **no las esporas**.

OBJETIVOS

- ◆ Preparar los materiales para la recolección de muestras (deben estar estériles placas Petri, tubos, etc.).
- ◆ Desinfectar los materiales contaminados.
- ◆ Preparar los materiales que se emplean en los cultivos bacterianos (placas Petri, pipetas Pasteur, tubos, etc.).

MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN Y DESINFECCIÓN

- ◆ En el laboratorio médico, la esterilización y la desinfección se logra con los siguientes métodos:
 - **Calor húmedo.**
Autoclave, olla de presión, ebullición.
 - **Calor seco.**
Horno de aire caliente, flameado.
 - **Desinfección intensiva por inmersión en productos químicos.**
Hipoclorito sódico, cloramina, etc.
 - **Desinfección por frotación con un producto químico.**

CALOR HÚMEDO

- ◆ La esterilización por vapor (autoclave) es el procedimiento de elección para el instrumental médico de uso repetido.
- ◆ Las autoclaves y las ollas a presión deben funcionar a 121 °C (250 °F) durante un mínimo de 20 minutos. Esta temperatura equivale a una presión de 1 atmósfera por encima de la presión atmosférica (010,325 newtons/m²).

a. *Olla de presión*

- ◆ Un tipo de autoclave barato es la olla a presión corriente, convenientemente modificada (OMS/UNICEF).
- ◆ Las ollas de presión son cacerolas amplias, construidas para cocinar alimentos con gran rapidez empleando vapor a presión. En laboratorios pequeños se usan para esterilizar los utensilios con que se recolectan las muestras.



PROCEDIMIENTO

1. Llenar con agua el fondo de la olla.
2. Colocar los materiales que se van a esterilizar en la canastilla, que se sostendrá arriba del nivel del agua por medio de un soporte.
3. Los utensilios envueltos se deberán poner en posición vertical, **nunca en posición horizontal**.

b. Autoclave

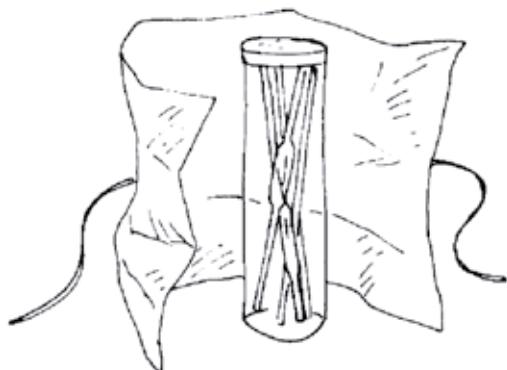
PREPARACIÓN DE MATERIALES PARA LA ESTERILIZACIÓN EN AUTOCLAVE

MATERIAL DE VIDRIO



- ◆ Los tubos de muestras, las placas Petri, etc.; se envolverán en papel Kraft y se atarán con cordeles.

PIPETAS PASTEUR



- ◆ Se colocarán en tubos amplios y largos, que se taponarán inmediatamente después.
- ◆ También se pueden envolver con varias hojas de papel Kraft.



c. **Ebullición**

- ♦ Este procedimiento solo se debe usar cuando no hay otra alternativa. Usar un recipiente especial para esterilizar por ebullición, o si no una cacerola.

PROCEDIMIENTO

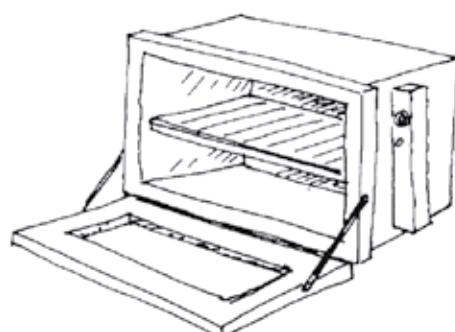
1. Llenar con agua el fondo de la olla.
2. Colocar los materiales que se van a esterilizar en la canastilla, que se sostendrá arriba del nivel del agua por medio de un soporte.
3. Los utensilios envueltos se deberán poner en posición vertical, nunca en posición horizontal.
4. Colocar los utensilios metálicos (pinzas, etc.) en el recipiente cuando el agua esté hirviendo.
5. Hervir durante 20 minutos los utensilios para colectar muestras.



CALOR SECO

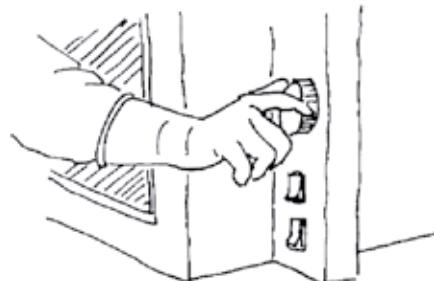
a. **Horno de aire caliente**

- ♦ La esterilización por el calor seco en horno eléctrico solo se puede emplear con utensilios de vidrio o metal (pipetas, etc.) que puedan soportar una temperatura de 170 °C (340 °F).
- ♦ Los hornos domésticos corrientes constituyen un buen recurso para la esterilización por calor seco.



PROCEDIMIENTO

1. Preparar el material para esterilizar, del mismo modo que para el procedimiento de autoclave.
2. Los tapones de algodón no deberán ser demasiados gruesos, de modo que pueda entrar el aire. Levantar ligeramente las tapas de los estuches metálicos y disponer de modo que miren a la parte posterior del horno.
3. El tiempo de esterilización es de 2 horas a 170 °C (340 °F).
4. Apagar el horno. Esperar a que la temperatura descienda hasta 40 °C. Abrir la puerta del horno. Cerrar las tapas de los estuches metálicos. Sacar los materiales estériles.
5. El papel empleado para envolverlos deberá haber tomado un color marrón oscuro. Si el color del papel es amarillo pálido indicará que el horno no se ha calentado lo suficiente; si el papel se ha ennegrecido indicará que el horno se ha calentado demasiado.

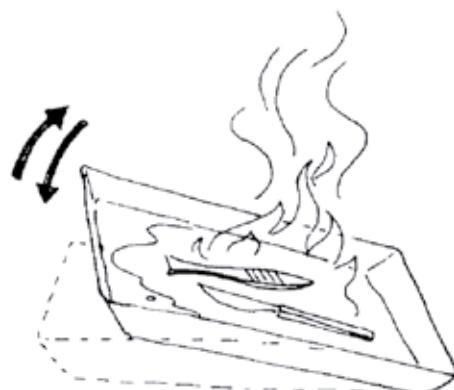


b. **Flameado**

Este procedimiento solo se deberá utilizar con utensilios metálicos como pinzas y bisturíes. **No es conveniente para uso general.**

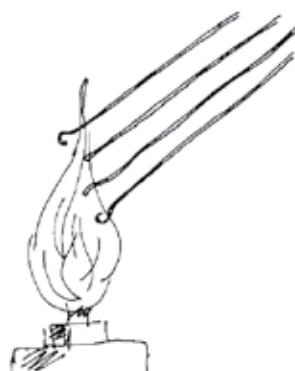
PROCEDIMIENTO

1. Colocar los utensilios en una bandeja metálica.
2. Añadir unas diez gotas de etanol y encender el fuego.





3. Durante el flameado, inclinar la bandeja de un lado a otro.
4. Calentar las asas bacterianas en la llama de un mechero Bunsen o de alcohol, hasta que el asa se ponga al rojo vivo.



DESINFECCIÓN INTENSIVA POR INMERSIÓN EN PRODUCTOS QUÍMICOS

a. *Desinfectantes químicos*

- ◆ Las fórmulas de los productos desinfectantes comerciales presentan grandes diferencias. Es esencial, por lo tanto, que las diluciones se hagan de acuerdo con lo recomendado por los fabricantes.

PRINCIPIOS GENERALES

1. La mayoría de los desinfectantes químicos **tienen efectos tóxicos, por lo que se utilizarán guantes, delantal y protección ocular**, al diluir desinfectantes a granel.
2. **En la práctica, los desinfectantes químicos no son confiables** porque pueden quedar inactivados por la sangre o por cualquier otra materia orgánica. También pueden perder rápidamente potencia si se guardan en un sitio caluroso.
3. **En el caso de instrumentos punzantes o cortantes, solo debe utilizarse como último recurso**, cuando no se pueda recurrir a la esterilización, asegurando que se limpie minuciosamente el instrumental antes de sumergido en el desinfectante químico.



b. Desinfectantes químicos eficaces para inactivar el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

- Hipoclorito sódico	0,1 - 0,5% de cloro disponible.
- Cloramina	2% (tosilcloramida sódica)
- Etanol	70%
- Alcohol isopropílico	70%
- Yodopolividona	2,5%
- Formaldehído	4%
- Glutaral (glutaraldehído)	2%
- Peróxido de hidrógeno	6%

HIPOCLORITO SÓDICO (LÍQUIDOS BLANQUEADORES, LEJÍA, ETC.)

- ◆ Son baratos y fáciles de adquirir. Matan bacterias y virus.
- ◆ Tienen dos inconvenientes importantes:
 - **Se deterioran**
Las soluciones **deben estar preparadas recientemente**, la descomposición rápida puede ser un problema importante en las ciudades de clima cálido.
 - **Son corrosivas**
Corroen el acero, que contiene níquel, cromo, hierro y otros materiales oxidables. Las soluciones no deben prepararse en recipientes metálicos, ya que estos se corroen rápidamente.
El contacto no debe durar más de 30 minutos e irá seguido de un enjuague y secado minucioso.

CLORAMINA (TOSILCLORAMIDA SÓDICA, CLORAMINA T)

- ◆ Es más estable que el hipoclorito sódico. Sin embargo, debe protegerse de la humedad, la luz y el calor excesivo.
- ◆ Puede obtenerse en forma de polvo o de tabletas.



ALCOHOL ETÍLICO Y ALCOHOL ISOPROPÍLICO

- ◆ El alcohol etílico (etanol) y el alcohol isopropílico tienen propiedades desinfectantes semejantes. Son eficaces para formas vegetativas de bacterias, mycobacterias, hongos y virus, luego de algunos minutos de contacto. No son eficaces contra esporas bacterianas.
- ◆ Para conseguir la máxima eficacia, deben usarse en una concentración de 70% (70 mL de alcohol absoluto y 30 mL de agua destilada). El etanol puede emplearse en su forma desnaturalizada, que puede ser más barata.

YODOPOLIVIDONA

- ◆ Es un compuesto que lleva yodo. No debe usarse sobre aluminio y cobre. Puede usarse diluida al 2,5% (una parte de solución al 10% y tres partes de agua hervida). La inmersión durante 15 minutos en una solución al 2,5% permite hacer una desinfección intensiva del material limpio. Las soluciones diluidas (2,5%) para sumergir el instrumental deben renovarse todos los días.

FORMALDEHÍDO (FORMOL, FORMALINA)

- ◆ Las preparaciones comerciales de formaldehído (formol, formalina) contienen un 35 - 40% de formaldehído, un 10% de metanol y agua. Deben usarse en dilución 1: 10 (la solución final contiene 3,5 - 4% de formaldehído).
- ◆ Esta solución diluida destruye las formas vegetativas de bacterias, los hongos y los virus en 30 minutos y las esporas bacterianas al cabo de 3 horas. Después de la inmersión, enjuagar bien todo el material antes volver a utilizarlo. La solución y los vapores que emite son tóxicos e irritantes lo que limita su uso como desinfectante.

GLUTARAL (GLUTARALDEHÍDO)

- ◆ Se comercializa en forma de solución acuosa al 2% que hay que "activar" antes de usar, añadiendo polvo o líquido de glutaral que se mezcla con la solución acuosa y que la hacen alcalina. Una vez activada la solución, **no se debe guardar más de 2 semanas**. Si se enturbia, habrá que desecharla.

- ◆ Como solución activada, destruye las formas vegetativas de bacterias, los hongos y los virus en 30 minutos. Para destruir las esporas se precisa 10 horas de inmersión.
- ◆ El glutaral se considera actualmente un producto tóxico, irritante. Debe evitarse el contacto con la piel, los ojos y las vías respiratorias.

PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (AGUA OXIGENADA)

- ◆ La inmersión de material limpio en una solución al 6% proporciona una desinfección intensiva en 30 minutos.
- ◆ Se prepara a partir de una solución estabilizada al 30% (una parte de solución estabilizada al 30% y cuatro partes de agua hervida).
- ◆ El peróxido de hidrógeno no debe usarse en un ambiente caluroso. Tiene poder corrosivo, no debe usarse con objetos de cobre, aluminio, zinc o latón.

DESINFECCIÓN POR FROTACIÓN CON UN PRODUCTO QUÍMICO

- ◆ La frotación con un desinfectante adecuado es un procedimiento aceptable en el caso de superficies (mesas, etc.) y de salpicaduras de sangre. Cuando estas son visibles, se empezará por derramar desinfectante sobre la superficie; luego se retirará la mezcla de sangre y desinfectante.
- ◆ El hipoclorito sódico es el desinfectante más indicado.
- ◆ Si se usa alcohol hay que frotar la superficie varias veces porque el producto se evapora.





DILUCIONES DE COMPUESTOS QUE LIBERAN CLORO

Situaciones	"Limpias"(a)	"Sucias"(b)
Cloro libre requerido	0,1%(1 g/L)	0,5%(5 g/L)
Solución de hipoclorito sódico (5% de cloro libre)	20 mL/lL	100 ml/L
Hipoclorito cálcico (70% de cloro libre)	1,4 g/L	7,0 g/L
NaDCC en polvo (60% de cloro libre)	1,7 g/L	8,5 g/L
NaDCC en tabletas (1,5 g de cloro libre/ tableta)	1 tableta/L	4 tabletas/L
Cloramina	20 g/L	20 g/L

(a) Situaciones "limpias": Por ejemplo: instrumental médico limpio

(b) Situaciones "sucias": Por ejemplo: salpicaduras de sangre, instrumental sucio.

- ◆ La cantidad de cloro disponible que se precisa en las soluciones usadas para la desinfección intensiva depende de la cantidad de materia orgánica presente, ya que esta (por ejemplo: la sangre y la pus) inactiva el cloro.
- ◆ Los líquidos blanqueadores de uso doméstico suelen tener un 5% de cloro disponible.
- ◆ La lejía de sosa tiene cerca de un 5% de cloro disponible.
- ◆ La lejía concentrada tiene cerca de un 15% de cloro disponible.

ESTERILIZACIÓN Y DESINFECCIÓN DE MATERIAL

ESTERILIZACIÓN

- ◆ Inactiva (mata) todos los virus, bacterias y esporas.

- Esterilización por vapor a presión durante 20 minutos o más:
 - 121 °C (250 °F) a 1 atmósfera adicional.
 - ➡ En olla a presión o autoclave.

- Esterilización por calor seco:
 - 2 horas a 170 °C (340 °F).
 - ➡ En horno eléctrico

DESINFECCIÓN INTENSIVA

- ◆ Inactiva (mata) todos los virus y bacterias, pero no las esporas.

- Ebullición durante 20 minutos
 - ➡ En cacerola

- Inmersión en desinfectantes durante 30 minutos
 - ➡
 - Hipoclorito sódico al 0,5%
 - Cloramina al 2%
 - Alcohol etílico al 70%
 - Alcohol isopropílico al 70%
 - Yodopolividona al 2,5%
 - Formaldehído al 5%
 - Glutaral al 2%
 - Peróxido de hidrógeno al 6%



i ATENCIÓN!

- ◆ En la práctica y sobre el terreno, la desinfección intensiva con productos químicos no es confiable.



DESECHO DE MUESTRAS Y MATERIALES INFECTADOS

MANEJO DE DESECHOS

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ La gestión de residuos debe ser considerada como una parte importante de la seguridad en los laboratorios.
- ◆ Los desechos que se generan pueden estar contaminados por microorganismos o contener sustancias químicas tóxicas y peligrosas.
- ◆ La mejor manera de racionalizar los residuos es mediante una gestión integrada cuyos pilares básicos son la minimización, segregación y eliminación.
- ◆ El manejo y tratamiento de los desechos infecciosos debe considerarse antes, durante y después de realizadas las actividades de laboratorio.
- ◆ Hay que establecer un **sistema de identificación** y separación de desechos de muestras y materiales infectados:
 - Material contaminado para eliminación.
 - Material contaminado para el tratamiento en autoclave y reutilización.
 - Desechos no contaminados que pueden eliminarse con la basura.
- ◆ **No existe una clasificación universalmente aceptada de los residuos según su peligrosidad;** sin embargo, desde el punto de vista general, los residuos sanitarios, incluyendo los que se generan en un laboratorio de microbiología pueden agruparse en residuos biocontaminados, especiales y comunes. Una clasificación aceptable puede ser:
 - **Clase A: residuos biocontaminados**
Tipo A 1: atención al paciente. Instrumentos y materiales utilizados en la toma de muestra de sangre, tejidos y otros.

- Tipo A 2: material biológico.
- Tipo A 3: sangre humana y productos derivados.
- Tipo A 4: quirúrgicos y anatomopatológicos.
- Tipo A 5: animales contaminados.

- **Clase B: residuos especiales**

- Tipo B 1: químicos peligrosos.
- Tipo B 2: farmacéuticos
- Tipo B 3: radioactivos

- **Clase C: residuos comunes**

Similares a los domésticos. Incluye a los generados en administración como: cartón, papel, material de oficina, basura orgánica, etc.

- ♦ **Para fines de manejo y tratamiento de residuos infecciosos**, material capaz de producir una enfermedad infecciosa, estos se clasifican en: líquidos, sólidos y objetos punzantes - cortantes.

- **Residuos líquidos**

- ✓ La sangre, líquidos orgánicos, secreciones y otros pueden eliminarse directamente por el desagüe con agua abundante.
- ✓ Los líquidos infecciosos que se generan en el laboratorio como sobrenadantes de los cultivos, se aconseja recogerlos en un recipiente que contenga una solución de hipoclorito sódico recién preparada. Luego pueden ser eliminados por los desagües. No obstante, muchos laboratorios someten a los residuos líquidos, sangre incluida a un tratamiento en el autoclave.

- **Residuos sólidos**

- ✓ Las formas más frecuentes de tratamiento de los residuos sólidos son la incineración y esterilización por autoclave. **La incineración, es una actividad cada vez más restringida, debido a la contaminación que origina en las zonas urbanas donde están implantados.** Se aconseja transferir los residuos a empresas autorizadas para su eliminación.



- ✓ Las muestras examinadas en el laboratorio (heces, sangre, pus, esputo, orina, etc.) frecuentemente son infectantes. La esterilización en autoclave es la forma más común de tratar este tipo de residuos. Se debe asegurar que el ciclo del autoclave permita la esterilización en toda la masa de los residuos.
- ✓ Los procedimientos para materiales limpios no sirven para el tratamiento de los desechos, siendo aconsejable prolongar el tiempo y aumentar la presión del proceso de autoclavado (Ejemplo: material de vidrio contaminado autoclavado por una hora a 121 °C y 1,5 atmósferas de presión).
- ✓ La utilización de indicadores químicos y el tratamiento térmico no siempre asegura el control de la eficacia. Para evitar una falsa seguridad; alternativamente se debe considerar el control riguroso sistemático en cada proceso (por ejemplo: registros de presión y temperatura) y el mantenimiento apropiado del autoclave.

– **Residuos sólidos**

- ✓ Constituyen un claro riesgo de inoculación accidental de microorganismos. Todos estos materiales deben ser colocados en recipientes específicos que sean resistentes a la punción y con cierre seguro, para posteriormente depositarlos en los recipientes rígidos destinados a los residuos sólidos.

♦ **Para fines de manejo y tratamiento de residuos químicos (agentes químicos)** considerada como la segunda fuente de riesgo de exposición de las personas que trabajan en laboratorio, se debe contar con un procedimiento para el tratamiento de residuos químicos como:

- Ácidos inorgánicos.
- Bases inorgánicas, sales básicas y disoluciones básicas.
- Azida de sodio.
- Aldehídos, cetonas y disolventes orgánicos.
- Bromuro de etidio.
- Colorantes utilizados en las tinciones de Gram, Giemsa, Papanicolau, Auramina,
- Naranja de acridina.
- Metales pesados, mercurio y compuestos organomercuriales.
- Residuos radiactivos

INCINERACIÓN

a. Fabricación de un incinerador

1. Disponer de un barril o latón metálico grande, usado.
2. Fijar con firmeza una **rejilla de metal resistente (R)** aproximadamente a un tercio de la altura del barril.
3. Cortar en el metal una **abertura amplia o ventanilla (V)** abajo del nivel que ocupa la rejilla.
4. Conseguir una **tapa suelta (T)** para el barril.



b. Procedimiento de incineración

1. Al terminar el trabajo de cada mañana y cada tarde colocar en la rejilla del incinerador todas las cajas usadas con heces y esputo.

El barril metálico deberá estar firmemente cerrado (por medio de la tapa y la ventanilla) excepto durante la incineración.

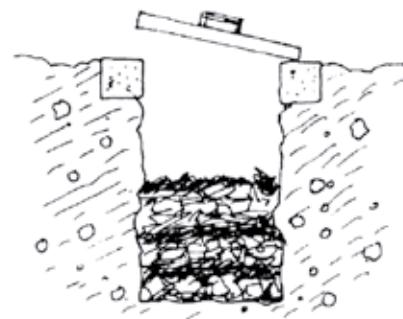


2. Incinerar una vez por semana o más frecuentemente, si es necesario. Llenar el fondo del barril con papeles, palos, virutas, etc.
 3. Quitar la tapa. Encender el fuego y alimentarlo hasta que todos los materiales infectados se encuentren reducidos a cenizas.
- ♦ **Estas cenizas no son peligrosas y se pueden arrojar al basurero.**



ENTIERRO DE DESECHOS

1. Abrir una fosa de 4 a 5 metros de profundidad y de 1 a 2 metros de ancho.
2. Fabricar una tapa que se ajuste con firmeza a la boca de la fosa. Es conveniente reforzar el borde de la boca de la fosa con un revestimiento de ladrillos o piedras.
3. Dos veces al día arrojar en la fosa las cajas usadas con heces, esputo u otras materias infectadas. Colocar inmediatamente la tapa en su lugar.
4. Una vez por semana cubrir los desechos con una capa de hojas secas (de 10 centímetros de espesor, aproximadamente). Si es posible, en vez de hojas secas depositar una capa de cal viva por semana.



MATERIAL CONTAMINADO PARA EL TRATAMIENTO EN AUTOCLAVE Y REUTILIZACIÓN

ESTERILIZACIÓN Y LIMPIEZA DE LOS RECIPIENTES NO DESECHABLES

- ◆ Los frascos y matraces pueden contener:
 - Materias sumamente infecciosas (heces, esputo, pus, líquido cefalorraquídeo).
 - Otras muestras (sangre, orina).

a. Recipientes con heces

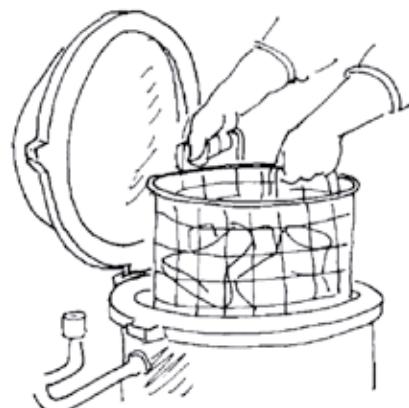
- ◆ Llenar los frascos que contengan heces con una solución de fenol al 5% u otro desinfectante similar. Dejarlos en reposo por 24 horas. A continuación, vaciarlos en el lavadero. Limpiar los frascos con detergente y agua.

**b. Recipientes con esputo y tubos con pus o líquido cefalorraquídeo**

- ◆ Existen varios procedimientos.

USO DEL AUTOCLAVE

- ◆ Este es el procedimiento más conveniente.
1. Colocar los recipientes en el autoclave tal como se encuentran y esterilizarlos durante 60 minutos a 121 °C para destruir todos los microorganismos.
 2. Una vez que se hayan enfriado vaciarlos en el lavadero.
 3. Limpiarlos con agua y detergente.





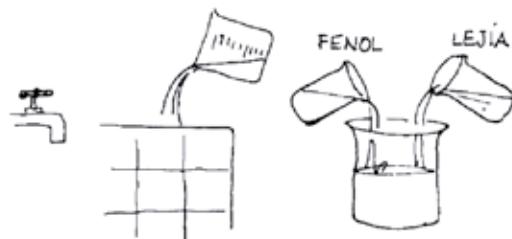
EBULLICIÓN EN SOLUCIÓN DETERGENTE

1. Se requiere un recipiente o cacerola amplia especial para este propósito.
2. Hervir los recipientes de esputo, durante 30 minutos, en agua que contenga polvos para lavar en solución fuerte (cristales de carbonato sódico), a razón de 60 mL por cada litro de agua.



EMPLEO DE SOLUCIÓN DE FORMALDEHÍDO O FENOL

1. Colocar en cada recipiente de esputo:
 - 10 mL de solución de formaldehído sin diluir, o
 - 5 mL de fenol al 5%. Dejar en reposo durante 24 horas.
2. Luego, enjuagar.



c. Matraces con orina

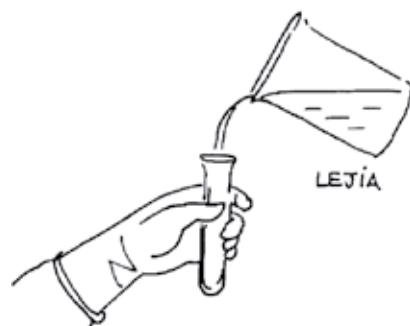
1. Vaciar los matraces en el lavadero.
2. A continuación, llenarlos con:
 - Una solución de lejía comercial al 10%, o
 - Una solución de fenol al 2%.
3. Dejarlos en reposo durante 24 horas. Luego enjuagar.



d. Tubos con sangre

- 1.** Los tubos con sangre extraída el mismo día se deberán:

- Enjuagar con agua fría corriente.
- Remojar en una solución detergente.



- 2.** Los tubos con sangre que han permanecido varios días a temperatura ambiente, donde los microorganismos se pueden multiplicar, se deberán:

- Llenar con una solución de lejía comercial al 10%.
- Dejar en reposo durante 12 horas.
- Enjuagar y limpiar enseguida.

PROCEDIMIENTO PARA EL TRATAMIENTO DE MATERIAL INFECTADO

Procedimiento	Material infectado	Material infectado reutilizable
Desinfectar	Sí	Sí
Usar autoclave	Sí	Sí
Incinerar	Sí	No
Lavar	No	Sí



TRANSPORTE DE DESECHOS

PRINCIPIOS GENERALES

a. *Transporte de desechos infecciosos*

- ◆ Los recipientes para desechar los residuos de riesgo deben ser rígidos, impermeables, resistentes a ácidos, álcalis y de cierre hermético.
- ◆ El transporte del material contaminado del laboratorio al área de auto clavado o incineración, lo realiza el personal técnico que cuente con los medios adecuados y equipo de protección personal.
- ◆ Las bolsas de color rojo rotuladas como “Riesgo Biológico” ó “Material Contaminado” son autoclavadas y eliminadas con la basura o incineradas.
- ◆ Los recipientes con residuos nunca se apilan o se colocan en zonas elevadas, tanto durante su almacenamiento intermedio (no debe superar las 24 horas) como durante el transporte.
- ◆ Si los residuos son punzantes o cortantes debe utilizarse recipientes rígidos resistentes a la perforación cuyo volumen no supere los 2 L y que contengan desinfectante.
- ◆ Los residuos biocontaminados y especiales se transportan en los propios recipientes en los que se depositan. No se recomiendan recipientes de un volumen superior a los 60 L.
- ◆ No se transportan a la vez residuos de riesgo junto con residuos comunes.
- ◆ Debe evitarse originar aerosoles durante el transporte de los residuos biológicos, en especial aquellos que contengan patógenos cuya vía de transmisión sea la aérea. Los recipientes que los contengan se manipulan sin hacer movimientos bruscos.
- ◆ No es apropiada la utilización de escaleras para el transporte de los residuos de Biocontaminados.
- ◆ Las bolsas de recolección de residuos sólidos se deben de diferenciar por

colores: residuos biocontaminados: color rojo; residuos químicos: color amarillo; residuos comunes: color negro. Estas bolsas deben ser de polietileno de 7,5 μ de espesor, con una capacidad del 20 % superior al volumen del recipiente que la contiene.

b. Transporte de residuos químicos

- ◆ La manipulación de los desechos químicos debe llevarse a cabo por personal capacitado en el manejo de los mismos, provisto de equipos de protección personal.
- ◆ En principio se debe procurar reciclar los desechos químicos.
- ◆ Los desechos químicos no deben eliminarse directamente al sistema de desagüe, sin el tratamiento previo. Se debe tomar en cuenta que las cañerías antiguas, manufacturadas de metal, pueden ser dañadas incluso por sustancias diluidas.
- ◆ Los solventes miscibles con el agua (previamente diluidos a lo menos 1 en 10, los ácidos y los álcalis previamente diluidos 1 en 30), se pueden desechar en el desagüe tomando las precauciones del caso.
- ◆ Los recipientes con residuos nunca se apilan o se colocan en zonas elevadas, tanto durante su almacenamiento intermedio como durante el transporte.
- ◆ Los residuos que puedan originar tóxicos volátiles se almacenan en un área bien ventilada.
- ◆ Debe evitarse la proximidad de los residuos inflamables a cualquier fuente de calor.
- ◆ Debe evitarse originar aerosoles durante el transporte de los residuos químicos. Los recipientes que los contengan se manipulan sin hacer movimientos bruscos.
- ◆ No es apropiada la utilización de escaleras para el transporte de los residuos especiales.
- ◆ En los Anexos se muestran los criterios para el almacenamiento adecuado de sustancias químicas.

CAPÍTULO

II

USO, CUIDADOS Y MANTENIMIENTO PREVENTIVO DE EQUIPOS Y MATERIALES DE LABORATORIOS

EL MICROSCOPIO.....	49	ESPECTROFOTÓMETRO.....	70
COMPONENTES DEL MICROSCOPIO.....	49	AGLUTINOSCOPIO.....	71
MEDIDAS GENERALES DE CONSERVACIÓN DEL MICROSCOPIO.....	53	HEMOGLOBINÓMETRO DE SAHLÍ.....	72
Materiales.....	53	ROTADOR.....	72
Limpieza de los objetivos.....	54	MATERIAL DE VIDRIO.....	73
Limpieza de los oculares.....	54	PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR MATERIAL DE VIDRIO SUCIO.....	73
Limpieza del condensador y el espejo.....	55	PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR MATERIAL DE VIDRIO NUEVO.....	74
Limpieza del bastidor y la platina.....	55	PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR LÁMINAS PORTAOBJETOS NUEVAS.....	74
Precauciones adicionales.....	55	PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR LÁMINAS PORTAOBJETOS SUCIAS.....	75
EL AUTOCLAVE.....	58	PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR PIPETAS.....	75
TIPOS DE AUTOCLAVES.....	58	PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR CUBREOBJETOS.....	76
COMPONENTES DEL AUTOCLAVE.....	58		
CALENTAMIENTO DEL AUTOCLAVE.....	59		
PROCEDIMIENTOS PARA LA ESTERILIZACIÓN....	60		
BALANZAS.....	63		
TIPOS DE BALANZAS.....	63		
PROCEDIMIENTO PARA PESAR.....	64		
CENTRÍFUGAS.....	65		
COMPONENTES DE UNA CENTRÍFUGA.....	65		
TIPOS DE CENTRÍFUGAS.....	66		
PROCEDIMIENTO PARA USAR LA CENTRÍFUGA ELÉCTRICA.....	67		
INCUBADORA.....	69		
POTENCIÓMETRO.....	69		

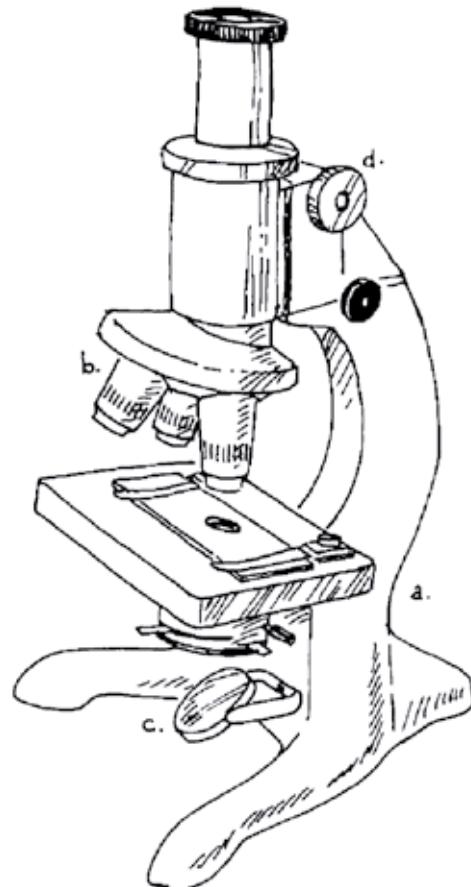
EL MICROSCOPIO

COMPONENTES DEL MICROSCOPIO

- ◆ Se pueden agrupar en cuatro sistemas:
 - a. El sistema de soporte.
 - b. El sistema de aumento.
 - c. El sistema de iluminación.
 - d. El sistema de ajuste.

a. El sistema de soporte

- ◆ Consiste en:
 - El pie.
 - El bastidor.
 - El revólver (cambiador de objetivos).
 - La platina.
 - La platina mecánica, que imprime un movimiento lento y regulado al porta objeto.



b. El sistema de aumento

LOS OBJETIVOS

- ◆ El poder de aumento de cada objetivo se indica por un número grabado en la manga de la lente:
 - El objetivo 10x aumenta 10 veces. Su distancia de operación es de 5 - 6 mm.

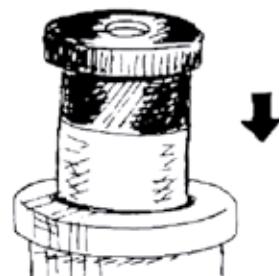




- El objetivo 40x aumenta 40 veces. Su distancia de operación es de 0,5 - 1,5 mm.
- El objetivo 100x aumenta 100 veces. Su distancia de operación es de 0,15 - 0,20 mm.
- ♦ El objetivo de 100x generalmente se encuentra marcado con un anillo rojo para indicar que se debe usar con aceite de inmersión.
- ♦ Cuanto mayor sea **el poder de resolución del objetivo**, más clara será la imagen.

EL OCULAR

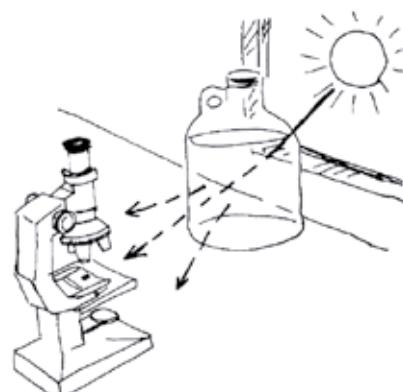
- ♦ El poder de aumento se encuentra marcado en el ocular:
 - Un ocular 4x aumenta 4 veces la imagen que produce el objetivo.
 - Un ocular 10x aumenta la imagen 10 veces.
- ♦ Para calcular el aumento total de la imagen del objeto que se observa, se multiplica el poder de aumento del objetivo por el del ocular. El poder de aumento de los microscopios, utilizados en los laboratorios médicos oscila entre 50 y 1 000.



c. *El sistema de iluminación*

LA FUENTE LUMINOSA

- ♦ Luz eléctrica
Puede proporcionarla un foco contenido en el microscopio por debajo de la platina o mediante un foco exterior colocado frente al microscopio.

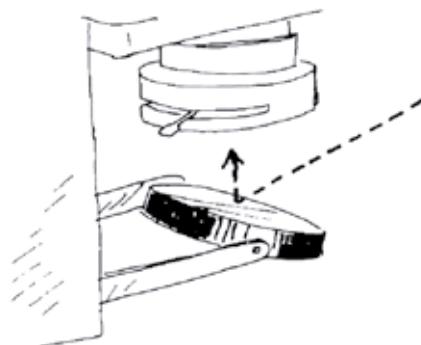


♦ Luz del día

El microscopio nunca se debe utilizar ni debe permanecer bajo la luz directa del sol. Deberá estar bien iluminado, pero se usará una luz amortiguada. Si la luz del sol es excesivamente brillante, se colocará frente al microscopio una botella de vidrio claro, llena de agua, para reducir la intensidad de la luz.

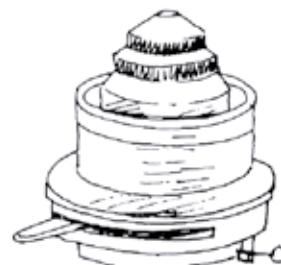
EL ESPEJO

- ♦ El espejo refleja los rayos de la fuente luminosa sobre el objeto. Tiene una superficie plana y otra cóncava. El lado cóncavo constituye un condensador de escaso poder.



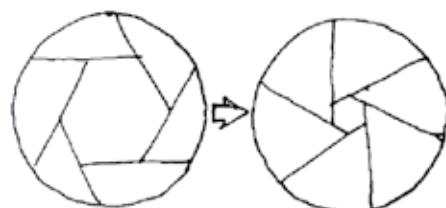
EL CONDENSADOR

- ♦ Lleva los rayos luminosos a un foco común sobre el objeto que se habrá de examinar.
- ♦ Se encuentra colocado entre el espejo y la platina.
- ♦ Se puede elevar (iluminación máxima) y bajar (iluminación mínima). Se debe centrar y ajustar adecuadamente.



EL DIAFRAGMA

- ♦ Se encuentra dentro del condensador, se utiliza para reducir o ampliar el ángulo, y, por lo tanto, también la cantidad de luz que entra en el condensador.





FILTROS

- ◆ En algunos microscopios se ajustan filtros de colores (por ejemplo: azules) debajo del condensador.

d. *El sistema de ajuste*

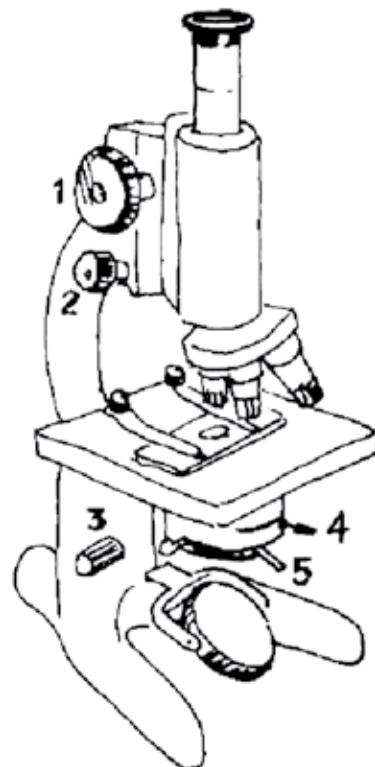
Este sistema comprende:

I. LA CREMALLERA DE AVANCE RÁPIDO

- ◆ Es el tornillo mayor. Se utiliza para lograr la aproximación del enfoque.

2. EL TORNILLO MICROMÉTRICO DE AVANCE LENTO

- ◆ Hace que el objetivo se desplace más lentamente. Se emplea para conseguir un enfoque perfecto del objeto.



3. EL TORNILLO DE AJUSTE DEL CONDENSADOR

- ◆ Se utiliza para elevar el condensador y aumentar la iluminación o descenderlo y reducir la iluminación.

4. LOS TORNILLOS PARA CENTRAR EL CONDENSADOR

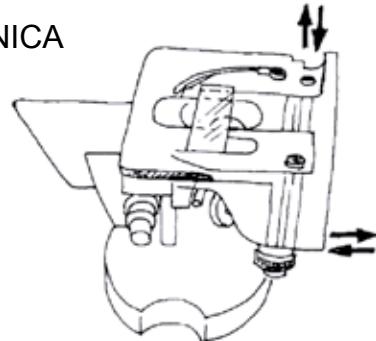
- ◆ Puede haber tres tornillos colocados alrededor del condensador. Se usan para centrar el condensador exactamente en relación con el objetivo.

5. EL ELEVADOR DEL DIAFRAGMA IRIS

- ◆ Es un pequeño elevador que se encuentra fijo al condensador. Se puede mover para cerrar o abrir el diafragma, reduciendo o aumentando así el ángulo y la intensidad de la luz.

6. REGULADORES DE LA PLATINA MECÁNICA

- ◆ Se usa para desplazar el portaobjeto sobre la platina. Un tornillo lo desplaza hacia atrás y hacia delante. Otro tornillo lo desplaza a la izquierda o la derecha.



MEDIDAS GENERALES DE CONSERVACIÓN DEL MICROSCOPIO

- ◆ La inspección del microscopio antes de su uso y la limpieza después de su uso son hábitos que contribuyen a la buena conservación de este equipo.

MATERIALES

- Trapo de lino fino.
- Papel lente o papel absorbente tipo pañuelo descartable. También una piel de gamuza o trapo del tipo que no desprenda pelusa.
- Un frasco pequeño de xilol (o tolueno).
- Una pequeña pera de goma o pincel fino.



LIMPIEZA DE LOS OBJETIVOS



OBJETIVOS SECOS

- ◆ Limpiados con un trapo suave, moviendo el trapo de un lado a otro y no en círculos.

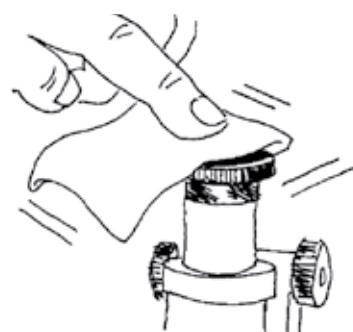


OBJETIVOS DE INMERSIÓN EN ACEITE

- ◆ Deben limpiarse después de su uso con papel especial para lentes o papel absorbente, humedecido con tolueno o xilol para eliminar el aceite de inmersión. **Por ningún motivo la lente de inmersión quedará sin limpiarse, en caso contrario el aceite se secaría y ocasionaría la inutilización del objetivo.**
- ◆ Al terminar la jornada diaria de trabajo, antes de guardar el microscopio, quitar el polvo de los objetivos arrojándoles aire con la pera de goma. Si es necesario, limpiar el polvo remanente usando el pincel fino.

LIMPIEZA DE LOS OCULARES

- ◆ Limpiar la superficie superior de la lente (en la que se aplica el ojo) con un trapo suave o papel de seda.
- ◆ Limpiar la superficie inferior de la lente (dentro del tubo del microscopio) con el pincel fino.





LIMPIEZA DEL CONDENSADOR Y EL ESPEJO

- ◆ El condensador se limpia de la misma manera que los objetivos, con un trapo suave o papel de seda humedecido con xilol. El espejo se limpia con trapo suave humedecido con alcohol etílico de 95°.

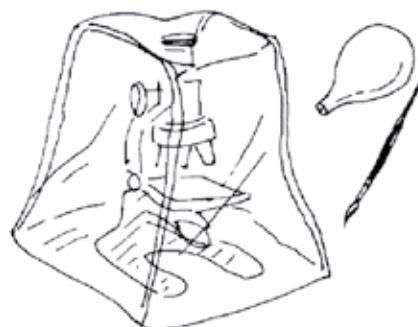
LIMPIEZA DEL BASTIDOR Y LA PLATINA

- ◆ Limpiar con una pieza de piel de gamuza o un trapo suave, que no desprenda pelusa.
- ◆ Nunca se debe usar xilol ya que puede desprender la pintura negra del microscopio.
- ◆ La platina se puede limpiar usando papel absorbente impregnado de vaselina.

PRECAUCIONES ADICIONALES

EN CLIMAS CÁLIDOS Y SECOS

- ◆ El problema principal es el polvo. Las partículas finas penetran en las roscas de los tornillos y debajo de las lentes. Se puede evitar tomando en cuenta lo siguiente:
 - Mientras no se use, conservar el microscopio bajo una cubierta de material plástico a prueba de aire.
 - Limpiar el microscopio con aplicaciones de aire de la pera de goma.
 - Limpiar las lentes con una brocha especial o un pincel fino.

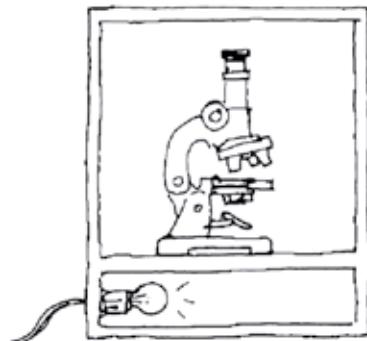


EN LOS CLIMAS CÁLIDOS Y HÚMEDOS



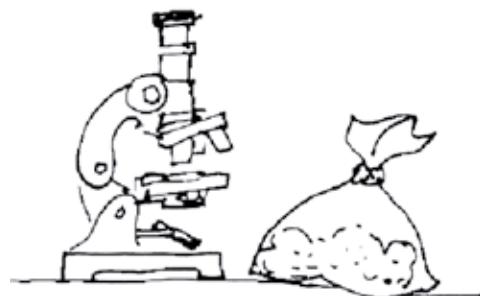
EN LOS LABORATORIOS QUE CUENTAN CON ELECTRICIDAD

- ◆ Guardar el microscopio en un armario templado, acondicionado mediante uno o dos focos de 50 vatios.



EN LOS LABORATORIOS QUE NO CUENTAN CON ELECTRICIDAD

- ◆ Colocar junto al microscopio una bolsa de 15 - 20 cm de diámetro, con no menos de 250 g de gel de sílice azul (que indica humedad al tomar un color rojizo). Cuando el silicagel se torne rosado se debe cambiar por otro o calentar hasta que se tome azul para su reutilización.



 **iATENCIÓN!**

- ◆ **Nunca debe** limpiar las lentes de los objetivos o los oculares del microscopio **con etanol**.
- ◆ **Nunca debe** sumergir los objetivos del microscopio **en xilol o etanol**, pues se aflojarían.
- ◆ **Nunca debe** emplear **papel ordinario o algodón** para limpiar las lentes.
- ◆ **Nunca debe** tocar los objetivos con los dedos.
- ◆ **Nunca debe** limpiar los soportes o la platina con xilol.
- ◆ **Nunca debe** limpiar las lentes internas de los oculares o los objetivos **con trapo o papel** (esto desprendería la capa antirreflejante); utilizar solamente un pincel fino.
- ◆ **Nunca debe** dejar el microscopio sin los oculares, a menos que se taponen los orificios.
- ◆ **Nunca debe** guardar el microscopio en estuches de madera cerrados si la región es cálida y húmeda.
- ◆ **Nunca debe** dejar el microscopio con aceite de inmersión en el objetivo.
- ◆ **Nunca debe** llevar el microscopio cogiéndolo por el bastidor con una mano; utilizar ambas, una en el pie y la otra en el bastidor

EL AUTOCLAVE



- ◆ El vapor de agua a presión constituye el procedimiento más eficaz de esterilización del material de laboratorio.

TIPOS DE AUTOCLAVES

- Autoclave de desplazamiento por gravedad.
- Autoclave de vacío.
- Autoclave de olla a presión.

COMPONENTES DEL AUTOCLAVE

I. CALDERA

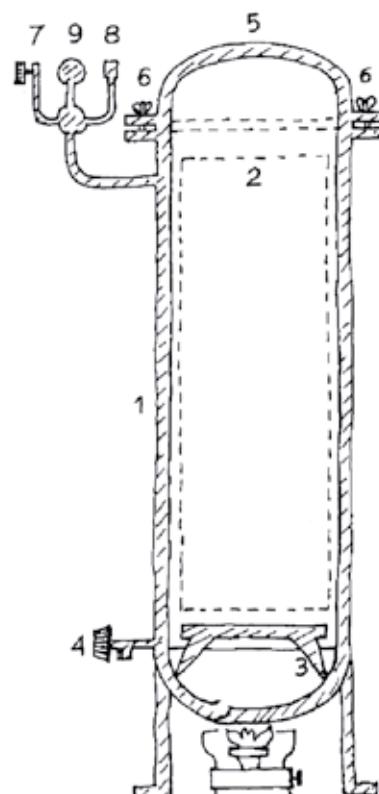
- ◆ Consiste en un cilindro amplio y profundo en el que se colocan los utensilios para esterilizar.

2. CANASTA

- ◆ Es una canasta amplia de alambre donde se ponen los utensilios que se esterilizarán.

3. SOPORTE DE CANASTA

- ◆ Se encuentra en el fondo del autoclave y sostiene la canasta por encima del nivel del agua.





4. DRENAJE

- ◆ Dispositivo colocado en la base de la caldera, por donde sale el exceso de agua.

5. TAPA

- ◆ La tapa cubre y cierra herméticamente la caldera; se ajusta mediante una arandela de goma.

6. SUJETADORES DE LA TAPA

- ◆ Estos sujetadores, junto con la arandela de goma, cierran herméticamente la tapa e impiden que escape el vapor.

7. VÁLVULA DE SALIDA DEL AIRE

- ◆ Esta válvula, que se encuentra en la parte superior de la caldera o en la tapa, se emplea para dejar que salga el aire cuando empieza el agua a calentarse.

8. VÁLVULA DE SEGURIDAD

- ◆ Se halla en la parte superior de la caldera o en la tapa, y deja escapar el vapor cuando la presión se eleva demasiado, evitando así que ocurra una explosión.

9. INSTRUMENTOS INDICADORES DE LA TEMPERATURA O DE LA PRESIÓN

- ◆ Se encuentran en la parte superior de la caldera o en la tapa. La temperatura se indica en grados Celsius (°C).

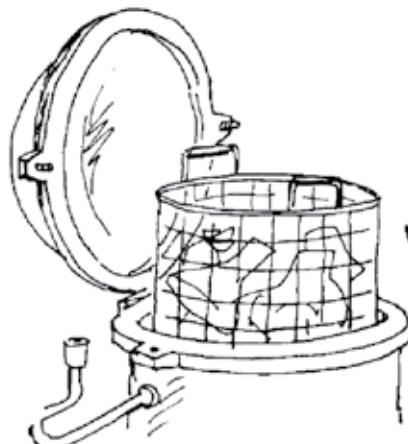
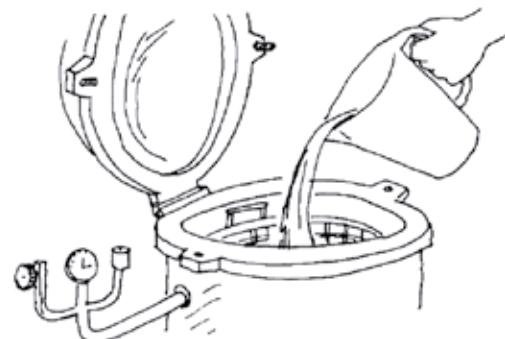
CALENTAMIENTO DEL AUTOCLAVE

- ◆ El sistema de calentamiento puede estar construido dentro del autoclave en forma de dispositivos eléctricos o de gas.
- ◆ De lo contrario, el autoclave se calentará sobre un quemador de gas butano o de gas de kerosene (primus).

PROCEDIMIENTOS PARA LA ESTERILIZACIÓN



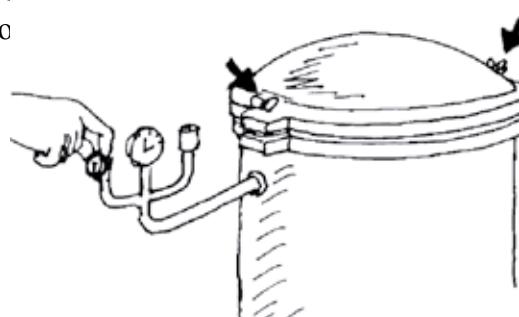
1. Llenar con agua el fondo de la autoclave, hasta el soporte de la canasta



2. Introducir en el autoclave la canasta con los materiales que se van a esterilizar.

El material y los objetos que se han de esterilizar deben agruparse sin apretarlos de modo que el vapor pueda circular sin dificultad y que pueda salir fácilmente. Las bolsas de plástico estarán abiertas para que el vapor penetre en su contenido.

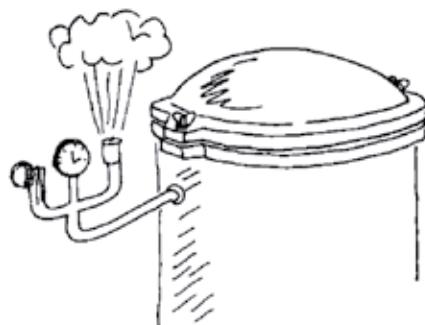
3. Cerrar la tapa del autoclave, cerciorándose que la arandela de goma se encuentre en su surco. Entornillar a niveles iguales los sujetadores de la tapa.



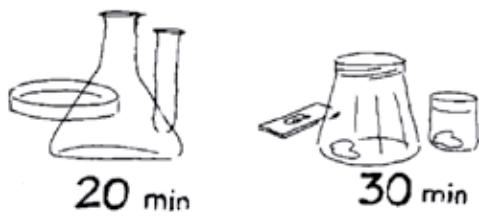
4. Abrir la válvula de salida del aire.

5. Iniciar el calentamiento del autoclave.

6. Vigilar la válvula de salida del aire hasta que aparezca un chorro de vapor, que se hará uniforme y continuo en 3 - 4 minutos. Esto indicará que todo el aire se ha expulsado del autoclave.



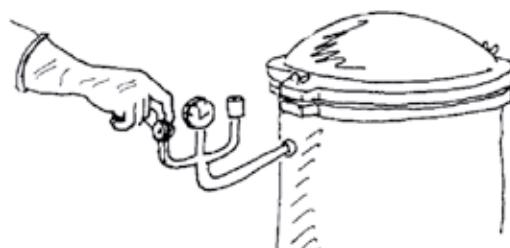
7. Cerrar a continuación la válvula de salida del aire.



8. Observar el indicador, cuando llegue a 121°C se deberá regular el calor para conservarlo y empezar a medir un tiempo mínimo de 20 minutos para material de vidrio y un tiempo de 30 minutos para recipientes que contengan material infectado (esputo, pus, etc.).

9. Reducir totalmente el calor tan pronto como se cumpla el tiempo requerido.
10. Cuando la temperatura descienda a menos de 100°C abrir la válvula de salida del aire para igualar las presiones dentro y fuera del autoclave.

11. Cuando cese el silbido aflojar los sujetadores de la tapa y quitarla. Dejar enfriar el autoclave y, a continuación, retirar la canasta con los materiales estériles.





⚠ ¡ATENCIÓN!

- 1.** **No** maniobrar el dispositivo de drenaje ni la válvula de salida del aire mientras se esté efectuando el calentamiento a presión.
- 2.** **No** hacer un calentamiento demasiado rápido para aumentar la presión una vez que la válvula de salida se ha cerrado.
- 3.** **No** permitir que el autoclave se enfrié durante demasiado tiempo. Si el aparato se deja varias horas sin abrir la válvula de salida, se forma un vacío y los materiales estériles se pueden romper.
- 4.** **No permitir que los operadores no lleven guantes y viseras** para proteger los brazos, las manos, la cara y el cuello cuando abran la autoclave, incluso cuando la temperatura del contenido haya bajado a 80°C.

BALANZAS

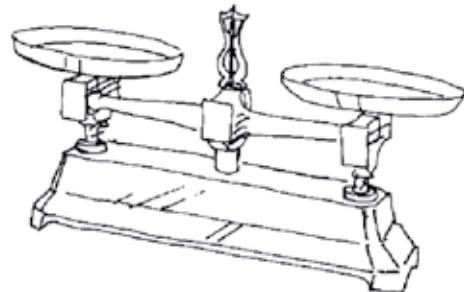
- ◆ La sensibilidad de una balanza es la masa más pequeña que esa balanza puede pesar con precisión.

TIPOS DE BALANZAS

a. *Balanza abierta de dos platillos*

Tiene dos platillos. Puede usar pesas separadas o tener una varilla graduada en la que se coloca una pesa corrediza. Se emplea para pesar cantidades grandes (hasta varios kilos).

Su sensibilidad es de 0,5 g (500 mg).



b. *Balanza analítica*

- ◆ Pesa cantidades pequeñas (0,001 a 410 g, dependiendo del modelo) o cuando se requiere gran precisión, por ejemplo: 3,88 g, 0,200 g.
- ◆ Su sensibilidad es de 0,5 mg - 0,1 mg, dependiendo del modelo de la balanza.
- ◆ Para usar correctamente la balanza analítica se deben seguir las siguientes instrucciones:
 - I. Mantener conectado el equipo durante el día de trabajo a 220 v.
 2. Presionar la tecla Zero/ON para encender el equipo.

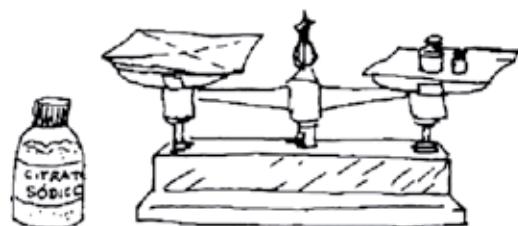


- 3.** Seleccionar la unidad de pesaje con la tecla Mode/Off.
- 4.** Colocar soporte o papel para pesar, sobre la plataforma del equipo.
- 5.** Presionar nuevamente la tecla Zero/On, para volver a cero la pantalla.
- 6.** Colocar el (los) elemento (s) a pesar sobre el soporte colocado en la plataforma.
- 7.** Para hacer la lectura del peso, esperar que el indicador de estabilidad indique (0000) y se visualice en la pantalla.
- 8.** Retirar el material pesado de la plataforma del equipo.
- 9.** Apagar el equipo presionando momentáneamente la tecla Mode/Off
- 10.** Al término del uso desconectar el equipo.

PROCEDIMIENTO PARA PESAR

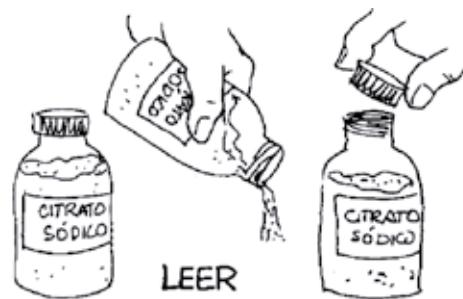
- ♦ Es importante seguir las siguientes instrucciones y así evitar confusiones.

- 1.** Colocar a la izquierda de la balanza el papel en que pesará la sustancia.
- 2.** En el platillo derecho colocar las pesas equivalentes al peso del papel más el de la cantidad de sustancia que va a pesar.



3. Leer la etiqueta de la sustancia:

- Antes de retirar el recipiente de la alacena.
- Mientras se pesa la sustancia.
- Despues de pesar la sustancia.



4. Rotular la sustancia pesada

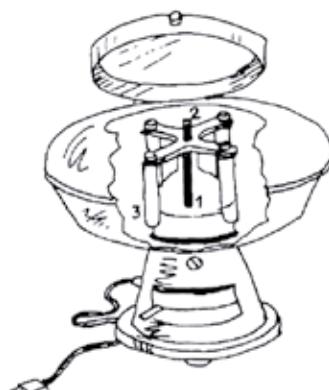
CENTRÍFUGAS

- ◆ La fuerza centrífuga hace que un cuerpo se ponga en movimiento circular a gran velocidad, de este modo las partículas que hay en los líquidos se colocan en el fondo de los tubos de centrifugación y se forman los sedimentos centrifugados.
- ◆ Estos sedimentos pueden contener, según el líquido centrifugado: células sanguíneas, huevos de parásitos, células de los conductos urinarios, etc.

COMPONENTES DE UNA CENTRÍFUGA

I. EJE CENTRAL

- ◆ El cual gira a gran velocidad.



2. CABEZAL FIJO AL EJE

- ◆ Está provisto de cubetas para sostener los tubos de centrifugación.



3. TUBOS DE CENTRIFUGACIÓN

- ◆ Contienen el líquido que se va a centrifugar. Se montan en el cabezal.

4. CRONÓMETRO

- ◆ Detiene la centrífuga automáticamente cuando se cumple el tiempo.

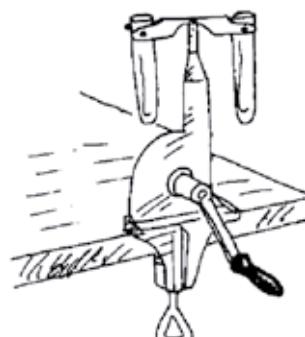
5. CONTADOR DE REVOLUCIONES

- ◆ Tiene una aguja que indica la velocidad en revoluciones por minuto.

TIPOS DE CENTRÍFUGAS

a. *Centrífuga manual*

- ◆ Gira por medio de un manubrio. Contiene de 2 a 4 tubos.
- ◆ Se usa para examinar sedimentos en la orina y para concentrar ciertos parásitos en las heces.



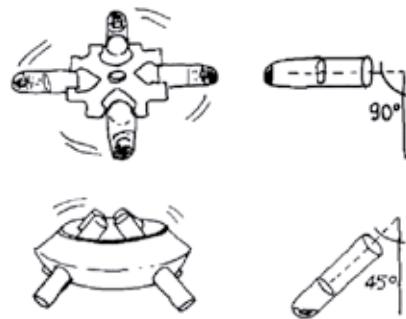
b. *Centrífugas eléctricas*

- ◆ Las centrífugas eléctricas se construyen con dos tipos de cabezal.



CABEZAL OSCILANTE

- ◆ Durante la centrifugación los tubos se colocan en posición horizontal.



CABEZAL OBLICUO

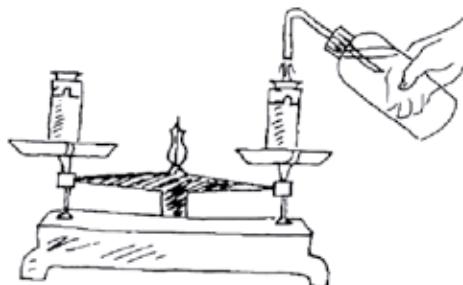
- ◆ Sostiene los tubos en un ángulo de 45°, durante la centrifugación. Es útil en los ensayos de aglutinación para determinar grupos sanguíneos por el método del tubo de ensayo.

PROCEDIMIENTO PARA USAR LA CENTRÍFUGA ELÉCTRICA

- I. Equilibrar las cubetas. Si están numeradas, colocar el tubo 1 frente al tubo 2, el tubo 3 frente al tubo 4.

Equilibrar los tubos que se encuentren frente a frente pesándolos en sus cubetas en una balanza de dos platillos:

- Agregar al tubo de menor peso cierta cantidad del líquido que va a centrifugar, o
- Agregar agua en la cubeta que contenga el tubo de menor peso.



Si solo se va a centrifugar un tubo que contenga líquido, equilibrarlo con un tubo idéntico lleno de agua.

2. Encender el motor y aumentar gradualmente la velocidad girando con lentitud la perilla hasta lograr la velocidad deseada.

3. Detener la centrífuga gradualmente, algunos modelos tienen frenos.
4. Retirar los tubos lentamente y con cuidado.

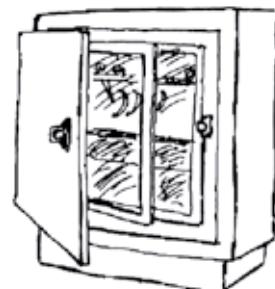


¡ATENCIÓN!

- ◆ **No** abrir la centrífuga hasta que se haya detenido completamente.
- ◆ **No** reducir la velocidad de la centrífuga con la mano
- ◆ Consevar la centrífuga limpia.
- ◆ Enjuagar las cubetas después de su uso.
- ◆ Limpiar todos los residuos del material centrifugado,etc.

INCUBADORA

- ◆ Está provista de un calentador que nos permite obtener temperaturas entre 25 a 100 °C. Es controlada mediante un termómetro.
- ◆ Para incubar bacterias y otros organismos, se usa una temperatura constante.
- ◆ Para su buen uso se debe seguir las recomendaciones del fabricante.

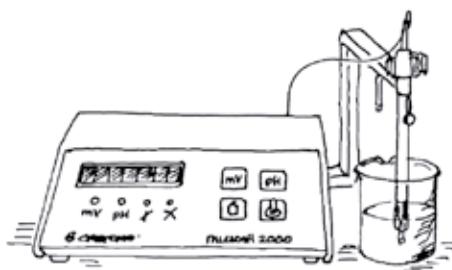


¡ATENCIÓN!

- ◆ Es importante medir todos los días la temperatura de la incubadora y anotarla en una hoja adecuada para este fin, donde se consigne: la fecha, hora y firma del usuario. Esta medida nos asegura un control diario del buen funcionamiento del sistema.

POTENCIÓMETRO

- ◆ Es un equipo que se usa para medir la diferencia de potencial entre dos puntos. Se utiliza en el laboratorio para medir el pH de las soluciones.
- ◆ Consta de un conductor de sección uniforme por el cual circula una corriente continua, la diferencia de potencial entre dos puntos cualesquiera es proporcional a la distancia entre ellos.



ESPECTROFOTÓMETRO



- ♦ La **espectrofotometría**, se basa en la propiedad de ciertas sustancias que tienen color propio, o pueden dar lugar a productos finales coloreados con ciertas reacciones químicas. De esta manera, la intensidad del color puede utilizarse para medir la concentración de dicha sustancia.
- ♦ El espectrofotómetro consta de las siguientes partes:

FUENTE DE LUZ

Cuando se trabaja con luz visible y ultravioleta, se emplea un foco con filamento de tungsteno. Habitualmente se trata de una lámpara de bajo voltaje constante o de una batería.



DISPOSITIVO DE MONOCROMIA

Suelen emplearse filtros de luz de vidrio coloreado o de gelatina coloreada con sustancias adecuadas, entre dos placas de vidrio. Los filtros de vidrio o gelatina coloreada transmiten la luz entre límites bastante amplios de longitudes de onda. Este hecho hace que no pueda utilizarse cuando se requiere trabajar con longitudes de onda más precisas.

PORTAMUESTRAS

Pueden ser tubos de ensayo redondos o cubetas de paredes planas. Se emplea generalmente tubos redondos, por su menor costo.

CONTROL DE SENSIBILIDAD

Se utiliza una hendidura variable o un diafragma iris para modificar la cantidad de luz que llega al elemento fotosensible.



DETECTORES FOTOSENSIBLES

Son photoceldas de capa interpuesta, formadas por una placa metálica sobre la cual se deposita un semiconductor. El voltaje que produce la photocelda de capa interpuesta es proporcional a la cantidad de luz que llega y se mide directamente.

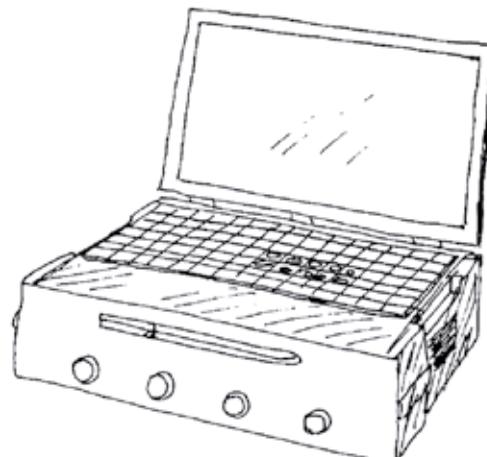
UN APARATO DE LECTURA O REGISTRO, GALVANÓMETRO CALIBRADO EN UNIDADES DE ABSORBANCIA O GRAFICADOR

Para los análisis químicos habituales, suelen preferirse los instrumentos basados en photoceldas con capa interpuesta, pues su mantenimiento no es costoso.

Para manejar adecuadamente la instalación, contribuir al mantenimiento del sistema, se requiere seguir las instrucciones del fabricante. Es preciso, asimismo, conocimientos de química.

AGLUTINOSCOPIO

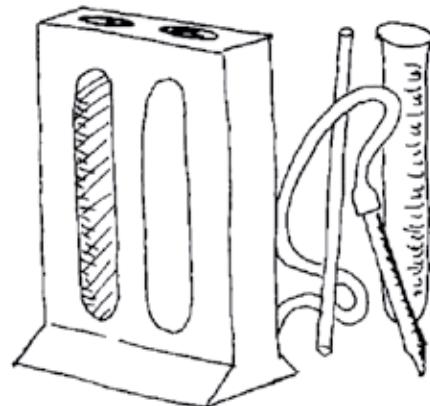
- ◆ Se utiliza en la prueba serológica para el diagnóstico de brucellosis.
- ◆ Está compuesto de un estuche de madera de 48 x 33 x 12 cm. Lleva en su parte anterior un tubo fluorescente de 15 vatios o un foco de 25 vatios, que permite iluminar oblicuamente la mezcla de suero antígeno.
- ◆ Tanto el interior como el exterior está pintado de color negro mate. Está provisto de una tapa de vidrio para evitar una evaporación demasiada rápida de la mezcla de suero.



HEMOGLOBINÓMETRO DE SAHLI

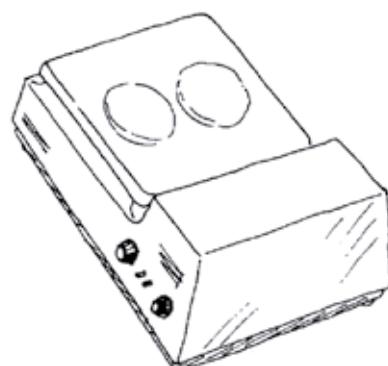


- ◆ Es un equipo que mide la hemoglobina por comparación visual, el principio que la sustenta es que la sangre se diluye en una solución ácida y la hemoglobina se transforma en hematina ácida. El color de la solución de ensayo se compara con el de un cristal de referencia.
- ◆ Consta de un tubo especialmente calibrado que contiene solución ácida. La mezcla de la sangre y el ácido producirá un color castaño pardusco. Este tubo calibrado se coloca en el hemoglobinómetro y se compara con el color del tubo patrón de referencia.
- ◆ Es un instrumento de fácil manejo pero no es útil para calcular con precisión la hemoglobina, porque no todas las formas de la hemoglobina circulante se transforman en hematina ácida y la comparación de colores a simple vista no es exacta.



ROTADOR

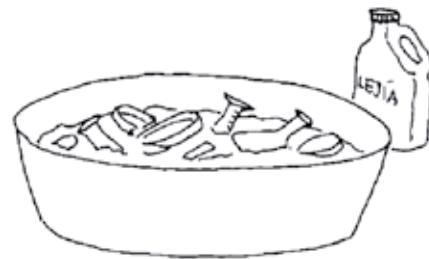
- ◆ Es un agitador rotatorio de 180 ciclos por minuto, que describe un círculo de 2 cm de diámetro en un plano horizontal. Se utiliza en la prueba de VDRL.
- ◆ Sobre la plataforma rotatoria se encuentran dos placas de vidrio con anillos de cerámica que limitan superficies de 14 mm de diámetro.
- ◆ A la izquierda de la plataforma se ve un contador que registra el número



MATERIAL DE VIDRIO

PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR MATERIAL DE VIDRIO SUCIO

1. Colocar en un recipiente que contenga lejía al 10%, los materiales sucios y dejar en reposo por 2 - 3 horas.
2. Eliminar la lejía lavando el material a chorro de agua, enseguida dejar en solución saturada de detergente durante 30 minutos.
3. Lavar con cepillo (cepillar 4 veces), enjuagar con agua de caño y luego con agua destilada.
4. Escurra los materiales (vasos, matraces, probetas), con las bocas hacia abajo en una canastilla de alambre y cubrir con tela delgada.
5. El material limpio y seco se deberá guardar en una alacena para protegerlo del polvo. Es mejor taponar los utensilios de vidrio con algodón no absorbente, o cubrir la boca con pequeñas tapas hechas de papel *Kraft*.



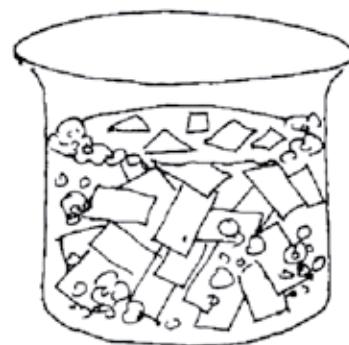
PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR MATERIAL DE VIDRIO NUEVO



- ♦ Los materiales de vidrio nuevo que nunca se utilizaron son ligeramente alcalinos. Para neutralizarlos debe hacerse lo siguiente:
 1. Poner en un recipiente adecuado 3 litros de agua con 60 mL de ácido clorhídrico (solución al 2%).
 2. Sumergir los materiales de vidrio sin usar en esta solución por 24 horas.
 3. Enjuagar dos veces con agua corriente y una vez con agua desmineralizada. Por último, secarlos.

PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR LÁMINAS PORTAOBJETOS NUEVAS

1. En un recipiente adecuado preparar agua con detergente, colocar las láminas una a una y dejarlas en remojo toda la noche.
2. Enjuagar cada lámina con agua de caño.
3. Limpiar una a una, con un trapo suave, que no desprenda pelusa. Colocarlas separadas, sobre una hoja de filtro de papel, una a una. Dejarlas secar. Luego, juntarlas en grupos de 10 o 20 y envolverlas con hojas de papel.



PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR LÁMINAS PORTAOBJETOS SUCIAS

- 1.** Si presentan residuos de aceite de inmersión frotarlas con papel periódico.
- 2.** Preparar un recipiente con agua fría o tibia y detergente. Si las láminas se han usado con muestras infectadas (orina, heces, etc.) se deben colocar en solución desinfectante. Dejarlas en remojo durante 24 horas.
- 3.** Enjuagarlas por separado bajo el chorro de agua y a continuación ponerlas en remojo durante 30 minutos en un recipiente lleno de agua.
- 4.** Para la limpieza, secado y envoltura, seguir las mismas instrucciones que se han dado para los portaobjetos nuevos.



PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR PIPETAS

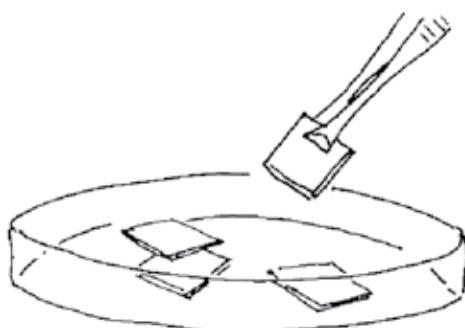
- 1.** Tan pronto como se haya usado una pipeta colocarla en un recipiente que contenga lejía al 10% o fenol al 5% por 2 - 3 horas.
- 2.** Enjuagar con agua de caño y lavar con solución saturada de detergente.
- 3.** Enjuagar cada una detenidamente con el chorro de agua del caño. Secar las pipetas de vidrio Pyrex en el horno de aire seco a 60 °C y las de vidrio ordinario en la incubadora a 37 °C o al aire.



PROCEDIMIENTOS PARA LIMPIAR CUBREOBJETOS



- ◆ Después de usar los cubreobjetos se pueden recuperar, limpiar y usar nuevamente.
- ◆ Para limpiarlos:
 1. Remojarlos en una solución de detergente más un desinfectante: 3 mL de detergente de uso doméstico en 200 mL de agua y 15 mL de lejía. Dejarlos en remojo durante 2 - 3 horas, moviéndolos suavemente de vez en cuando.
 2. Enjuagar cuatro veces el recipiente donde están los cubreobjetos con agua de caño, agitándolo suavemente.
 3. Lavar por último con agua desmineralizada.
 4. Escurrir los cubreobjetos, colocándolos cuidadosamente de punta sobre una pieza de gasa doblada.
 5. Secarlos en el horno de aire caliente a 60 °C.
 6. Conservarlos en una placa Petri pequeña. Utilizar una pinza para sacarlos.



CAPÍTULO



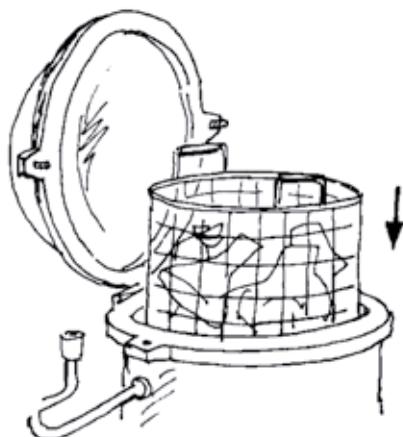
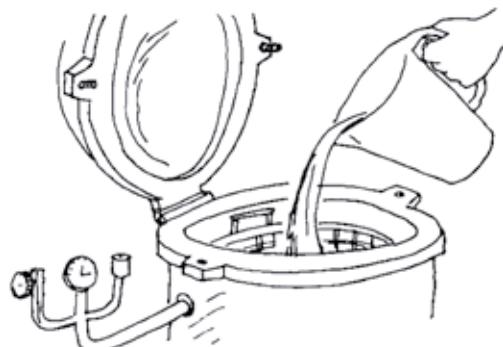
SANGRE

PROCEDIMIENTOS PARA LA ESTERILIZACIÓN	79	Materiales	125
RECIPIENTES PARA TOMA DE MUESTRAS	80	Método.....	126
Principios generales	80	Método de recuento.....	128
FRASCOS Y TUBOS PARA RECOLECTAR		RECUENTO DEL NÚMERO DE ERITROCITOS	
MUESTRAS DE SANGRE	82	O GLÓBULOS ROJOS.....	129
Para obtener sangre sin anticoagulante.....	82	Principios generales	129
Para obtener sangre con anticoagulante.....	82	Materiales	130
OBTENCIÓN DE SANGRE VENOSA	83	Método.....	130
Principios generales.....	83	Procedimiento de recuento.....	132
Sangre coagulada	84	HEMATOCRITO	134
Sangre anticoagulada.....	84	Principios generales	134
Materiales	85	Método de microescala	134
Método de obtención.....	85	HEMOGLOBINA: CÁLCULO DE	
OBTENCIÓN DE GOTAS GRUESAS.....	90	LA CIANOMETAHEMOGLOBINA	139
Materiales.....	90	MÉTODO FOTOMÉTRICO	139
Método de obtención.....	90	Principios generales	139
OBTENCIÓN DE SANGRE CAPILAR.....	93	Materiales	139
Método de obtención.....	93	Calibración del colorímetro	140
PREPARACIÓN DE EXTENSIONES DE SANGRE.....	94	Método fotométrico de la cianometahemoglobina	142
Principios generales.....	94	TIEMPO DE SANGRÍA	145
Materiales.....	94	MÉTODO DE DUKE	145
Método de obtención.....	94	Principios generales	145
Preparación de la extensión.....	95	Materiales	145
TINCIÓN DE EXTENSIONES DE SANGRE.....	99	Método.....	145
Principios generales	99	Resultados.....	147
Tinción de Leishman.....	99	TIEMPO DE COAGULACIÓN DE LA SANGRE	
Tinción de Giemsa	101	COMPLETA.....	148
Tinción de Wright.....	103	MÉTODO DE LEE Y WHITE	148
Resultados.....	104	Principios generales	148
LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS	105	Materiales	148
Tipos de células sanguíneas	105	Método	148
ESTUDIO DE LAS CÉLULAS		Resultados.....	150
SANGUÍNEAS.....	106	TIPIFICACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS y RH.....	151
HEMOGRAMA COMPLETO.....	106	Principios generales	151
Principios generales	106	CLASIFICACIÓN DE LOS GRUPOS A, B, y O	
Materiales	107	POR MEDIO DE ANTISUEROS	152
Método	107	Principios generales	152
Resultados anormales	110	Método del portaobjetos	153
Examen de los leucocitos	112	Método del tubo de ensayo	157
Descripción de los tipos de leucocitos	114	CLASIFICACIÓN DEL GRUPO RHESUS (Rh)	161
Células anormales	117	Principios generales	161
GLÓBULOS ROJOS O ERITROCITOS		Método del portaobjetos	161
ANORMALES	120	Método del tubo de ensayo	165
Principios generales	120	COMPATIBILIDAD SANGUÍNEA	167
Alteraciones estructurales en el tamaño	121	Principios generales	167
Alteraciones estructurales en la forma	122	Materiales	167
Alteraciones cromáticas	123	Método	167
Inclusiones anormales	124	Resultados	169
RECUENTO DEL NÚMERO DE LEUCOCITOS		VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN LOS	
O GLÓBULOS BLANCOS.....	125	ERITROCITOS	170
Principios generales	125	Principios generales	170
		Métodos	171
		Método de Westergren	171
		Método de Wintrobe	173

PROCEDIMIENTOS PARA LA ESTERILIZACIÓN

III

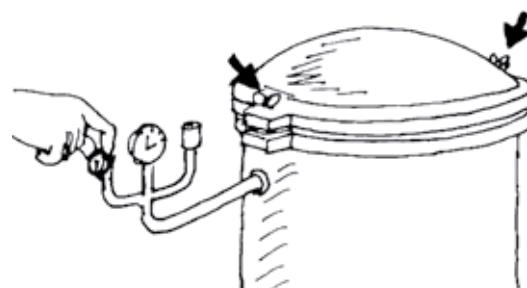
- Llenar con agua el fondo de la autoclave, hasta el soporte de la canasta



- Introducir en el autoclave la canasta con los materiales que se van a esterilizar.

El material y los objetos que se han de esterilizar deben agruparse sin apretarlos de modo que el vapor pueda circular sin dificultad y que pueda salir fácilmente. Las bolsas de plástico estarán abiertas para que el vapor penetre en su contenido.

- Cerrar la tapa del autoclave, cerciorándose que la arandela de goma se encuentre en su surco. Entornillar a niveles iguales los sujetadores de la tapa.



- Abrir la válvula de salida del aire.

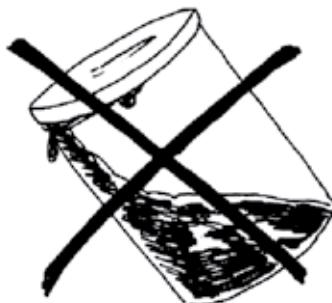
- Iniciar el calentamiento del autoclave.

RECIPIENTES PARA TOMA DE MUESTRAS

PRINCIPIOS GENERALES



- ♦ Los recipientes para las muestras pueden ser de vidrio o de plástico.



- ♦ Los recipientes **deben ser fuertes y no permitir fugas** cuando la tapa o el tapón están correctamente aplicados.



- ♦ Deben estar **correctamente rotulados** para facilitar la identificación en el laboratorio. Rotular el frasco o el tubo con el nombre o código que identifique al paciente, así como la fecha de la toma de muestra. No debe rotularse la tapa.

- ♦ Los formularios de petición de examen de la muestra no se envolverán alrededor de los recipientes sino que se colocarán por separado, de preferencia en sobres plásticos.



III



- ♦ En las muestras que se sospeche la presencia de **microorganismos infectantes**, por ejemplo, el **virus de hepatitis B** o el **virus de inmunodeficiencia humana (VIH)** deben estar identificados en el recipiente y en el formulario de examen con una etiqueta especial "**Peligro de infección**" o "Sustancia infecciosa".

- ♦ Para evitar fugas o derramamientos accidentales se debe usar recipientes secundarios como bandejas, o cajas, equipados con gradillas de modo que estén en posición vertical los recipientes que contienen las muestras.



- ♦ Los recipientes secundarios pueden ser de metal o de plástico. Se deben descontaminar con regularidad, por autoclave o con desinfectantes químicos.

FRASCOS Y TUBOS PARA RECOLECTAR MUESTRAS DE SANGRE

PARA OBTENER SANGRE SIN ANTICOAGULANTE



- ◆ Usar tubos limpios y secos con capacidad para 5 - 20 mL.
- ◆ El mejor tipo de tubo es aquel que se puede centrifugar, evitando así la manipulación excesiva de las muestras.

PARA OBTENER SANGRE CON ANTICOAGULANTE

- ◆ Usar frascos o tubos graduados limpios, secos antes de añadir el anticoagulante.
- ◆ Colocar etiquetas en los tubos de modo que el borde superior de éstas quede al nivel de la sangre que se requiere (2mL, 5mL, etc.) y guardarlos en un lugar seco.

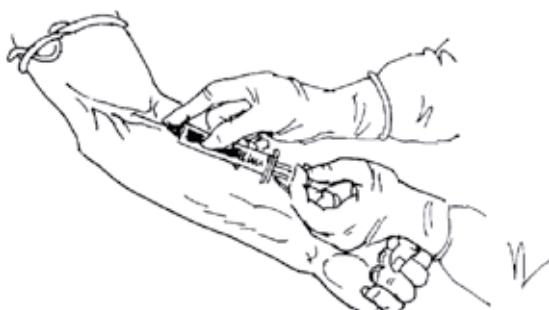
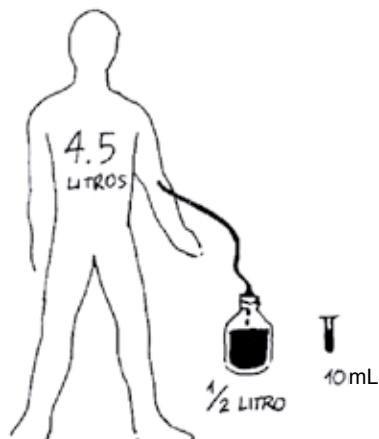


OBTENCIÓN DE SANGRE VENOSA

PRINCIPIOS GENERALES

III

- ◆ Un adulto que pesa 60 kilos tiene aproximadamente 4,5 litros de sangre. Por lo tanto, **no existe peligro** si se llenan dos o más tubos de ensayo de 10 mL para el estudio de su sangre. Se debe explicar esto a los pacientes que muestren temor al extraer sangre venosa.



- ◆ **La sangre venosa** se extrae de una vena del brazo por medio de una aguja y una jeringa.

- ◆ **Es importante considerar toda muestra como sospechosa** de VIH u otra enfermedad que puede ser transmitida por la sangre.



- ◆ **Usar guantes** durante la obtención y procesamiento de la muestra.

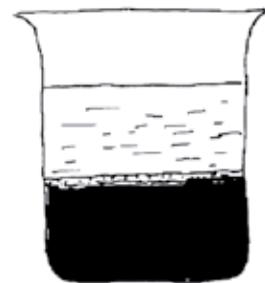
SANGRE COAGULADA

- ◆ Cuando la sangre se coloca en un tubo de vidrio se solidifica en 5 - 10 minutos formando un coágulo. Se separa en dos componentes:
 - El suero, un líquido amarillo.
 - El coágulo, una masa sólida de color rojo.



SANGRE ANTICOAGULADA

- ◆ Si se añade a la sangre un anticoagulante especial tan pronto como se extraiga, se evitará que se coagule y seguirá siendo líquida. La sangre tratada con un anticoagulante se separa en dos componentes:
 - El plasma, un líquido amarillo.
 - Las células sanguíneas, que se sedimentan y forman: una capa delgada de leucocitos y un precipitado de eritrocitos.



MATERIALES

- Etanol al 70% para desinfectar la piel.
- Algodón.
- Una ligadura hecha con un tubo de goma de 2 - 5 mm de calibre.
- Agujas estériles con calibre de 20, 19, 18. En niños menores de cinco años se usan agujas de calibre 23 o 25.
- Jeringas estériles con capacidad para 2,5, 10 o 20 mL de acuerdo con el examen solicitado. Verificar que la desembocadura de cada jeringa se ajuste adecuadamente a la entrada de las agujas.
- También se pueden utilizar jeringas descartables con sus respectivas agujas, provenientes de sus envases originales.
- Frascos y tubos para recolectar muestras de sangre.
- Rótulos para los frascos o tubos. Preparar y rotular el frasco o el tubo adecuado, que usará para el examen correspondiente.
- Un depósito de metal que contenga lejía u otro desinfectante para colocar el material utilizado.

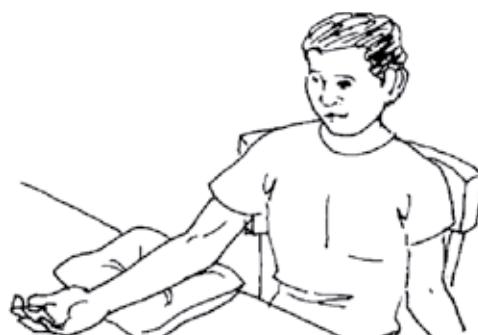


MÉTODO DE OBTENCIÓN

- ♦ Leer con cuidado la orden de examen del paciente y decidir la cantidad de sangre que se necesitará.

POSICIÓN DEL PACIENTE

- I. Si el paciente se encuentra en el laboratorio, hacer que se siente. Poner el brazo del paciente sobre la mesa de trabajo apoyándolo en un pequeño cojín bajo el codo, con la palma de la mano hacia arriba.



2. Si el paciente se encuentra en cama, extender el brazo del paciente en una posición descansada.



PUNTO PARA LA EXTRACCIÓN DE SANGRE



3. El sitio más adecuado es la vena que se encuentra en el pliegue anterior del codo, en el punto donde es más gruesa y visible.

USO DE LA JERINGA

4. Colocar la aguja en la jeringa, tocando sólo la base de la aguja. Asegurarse que la aguja y la jeringa no estén obstruidas.

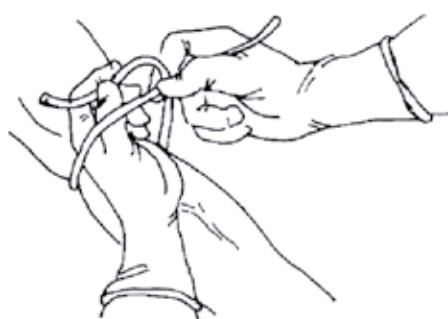


APLICAR LA LIGADURA



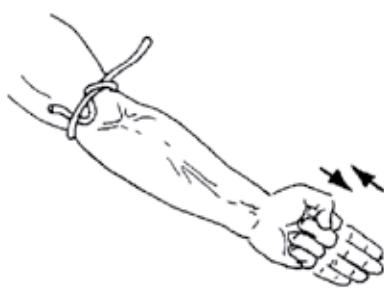
5. Aplicar la ligadura por encima del punto ubicado para la extracción de la sangre.
6. Con la mano derecha colocar, firmemente, la ligadura alrededor del brazo del paciente, y sujetar los extremos.

7. Con la mano izquierda tirar de un extremo cruzándolo y a continuación introducir este extremo por debajo de la parte principal de la ligadura.

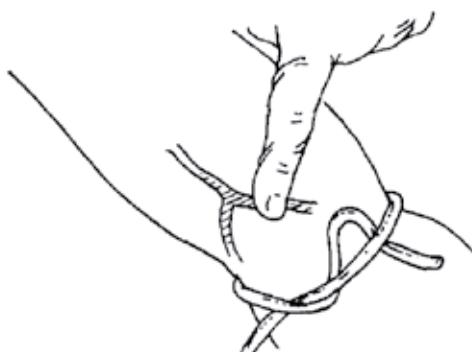


III

Se deberá ajustar, sólo lo suficiente para aminorar la corriente sanguínea y dilatar la vena, sin apretarla tanto que reduzca el paso de sangre por las arterias.



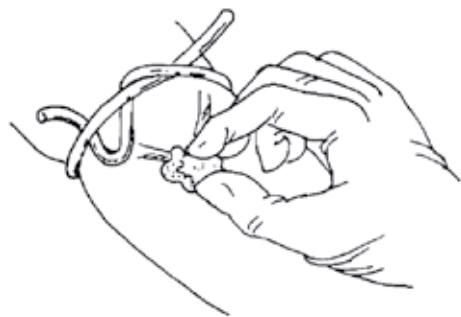
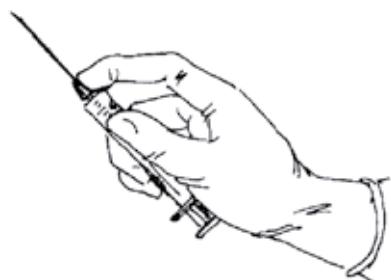
8. Pedir al paciente que abra y cierre la mano varias veces, para favorecer la dilatación de las venas.



9. Con el dedo índice de la mano izquierda palpar la vena en que se introducirá la aguja.



10. Desinfectar la piel con una pieza de algodón embebido en etanol al 70%.



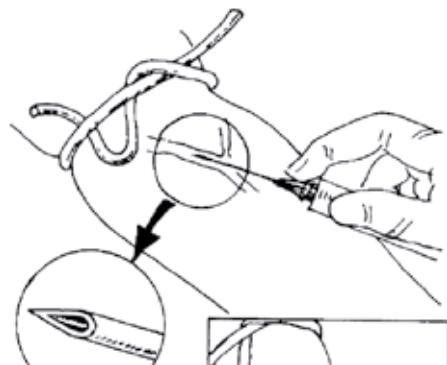
11. Tomar la jeringa con la mano derecha, colocando la yema del dedo índice sobre la base de la aguja.

12. Colocar la aguja sobre la vena, con el bisel hacia arriba.

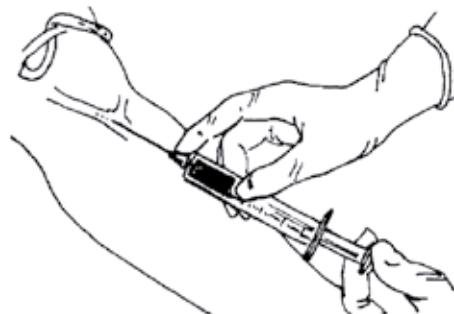
Introducir la aguja en el **centro de la vena**, sin dudar.

Nunca intentar punzar una vena por un lado.

Se sentirá que la aguja atraviesa la piel.

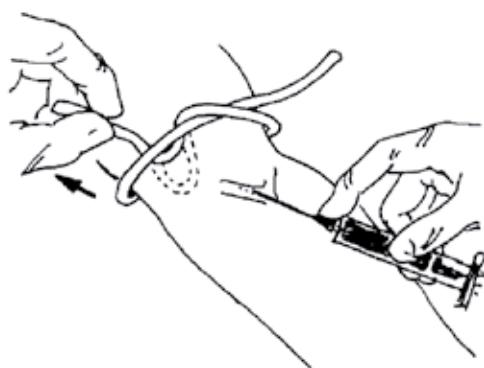


13. Introducir la aguja 1 - 1,5 cm a lo largo de la vena.

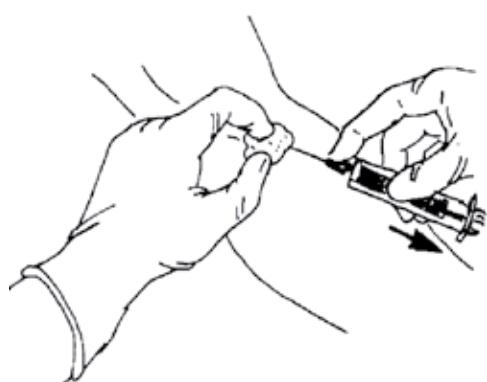


14. Con la mano izquierda tirar hacia atrás el émbolo de la jeringa muy lentamente. Deberá entrar sangre en la jeringa. Llenar la jeringa con la cantidad de sangre que necesite.

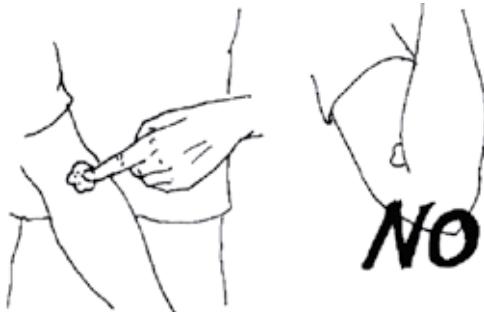
- 15.** Retirar la ligadura tirando del extremo doblado.



III



- 16.** Aplicar un pedazo de algodón seco sobre la parte donde se encuentra oculta la punta de la aguja. Sacar la aguja con un movimiento rápido.



- 18.** Luego de extraída la sangre venosa, retirar la aguja de la jeringa con el máximo cuidado y depositar la aguja en el recipiente de metal con desinfectante.

- 19.** Llenar los frascos o tubos rotulados con la muestra de sangre. Si estos recipientes contienen anticoagulante, mover varias veces con suavidad y uniformidad el recipiente. No agitar el contenido.

OBTENCIÓN DE GOTAS GRUESAS

- ♦ El propósito es la detección de parásitos en la sangre.



MATERIALES

- Etanol al 70% para desinfectar la piel.
- Algodón.
- Láminas portaobjetos limpios.
- Una lanceta estéril.



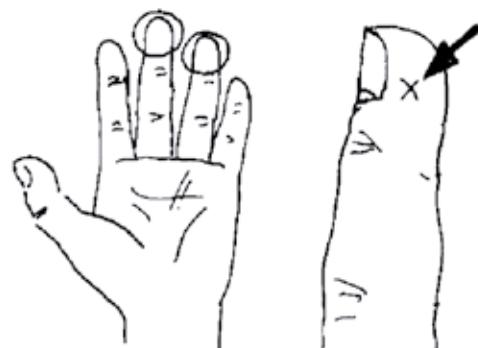
MÉTODO DE OBTENCIÓN

a. Punción del dedo

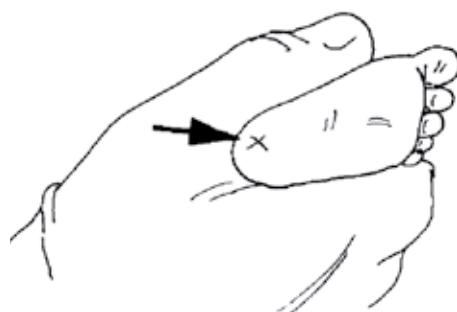
- I. Ubicar el dedo anular de la mano izquierda. En el lado externo del dedo, donde la sensibilidad es menor que en la punta.

No extraer sangre de:

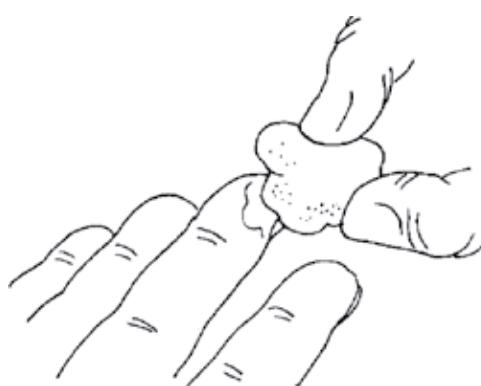
- El dedo índice o el pulgar.
- Un dedo infectado.



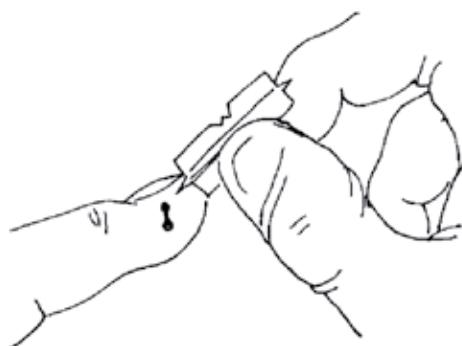
2. En los niños menores de 6 meses, ubicar el talón o el dedo gordo del pie.



III

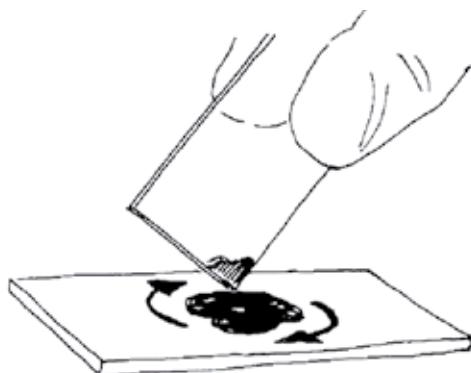


4. Punzar el dedo con la lanceta estéril con firmeza y rapidez.



5. Limpiar la primera gota de sangre con un pedazo de algodón seco.

- 6.** Con la mano derecha tomar un portaobjetos sosteniéndolo por los bordes. Con la mano izquierda oprimir el dedo para extraer una gota de sangre, que debe caer en el centro del portaobjeto sostenido con la mano derecha.



- 7.** Extender la sangre hasta lograr un círculo de aproximadamente 1cm de diámetro y haga que el espesor de la capa sea uniforme, para eso, usar la esquina de un portaobjeto limpio.

- 8.** Las gotas de sangre demasiado gruesas o demasiado delgadas no toman bien la tinción.

OBTENCIÓN DE SANGRE CAPILAR

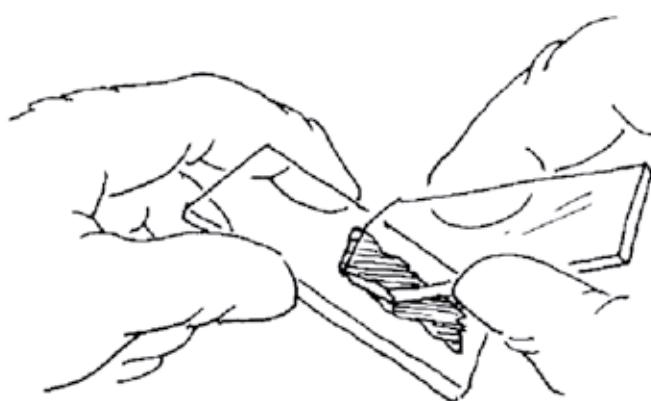
- ◆ Se usa para realizar los siguientes exámenes de laboratorio:

- Concentraciones del número de eritrocitos.
- Fracciones de volumen de eritrocitos.
- Cálculo de la cantidad de hemoglobina.
- Detección de parásitos.

III

MÉTODO DE OBTENCIÓN

- ◆ En relación con la obtención de sangre capilar ver: "**Obtención de gota gruesa de sangre**" hasta el paso 6. Luego proceder a preparar la extensión de sangre.



PREPARACIÓN DE EXTENSIONES DE SANGRE

PRINCIPIOS GENERALES



- ◆ La extensión se prepara repartiendo uniformemente una **gota pequeña de sangre** sobre un portaobjeto de manera que solo se deposite una capa de células.
- ◆ Después de teñir, las extensiones se usan para:
 - Determinar los porcentajes de las distintas clases de leucocitos.
 - Detectar glóbulos rojos o blancos anormales.
 - Identificar ciertos parásitos.

MATERIALES

- Alcohol.
- Algodón.
- Una lanceta estéril.
- Portaobjetos de vidrios limpios y desgrasados.



MÉTODO DE OBTENCIÓN

- ◆ Obtener sangre capilar o venosa.
- ◆ Dejar que la sangre salga libremente. **Recoger primero las muestras en que se determinarán las concentraciones de número de las células sanguíneas, si se han solicitado.**

PREPARACIÓN DE LA EXTENSIÓN

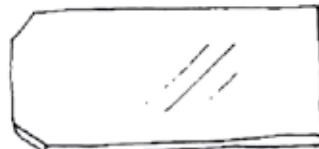
a. Lámina extensora

1. Lavar minuciosamente y limpiar con una pieza de tela suave embebida en una mezcla de etanol y éter.



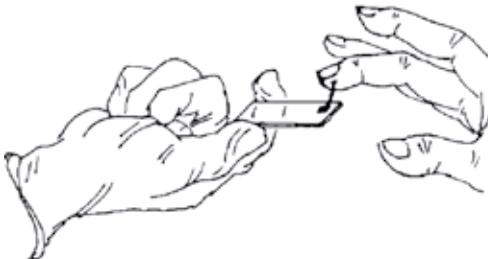
III

2. Elegir un portaobjeto cuyos bordes estén completamente lisos.



3. Con una sierra pequeña marcar diagonalmente hasta cierta profundidad dos esquinas de uno de los extremos del portaobjeto.

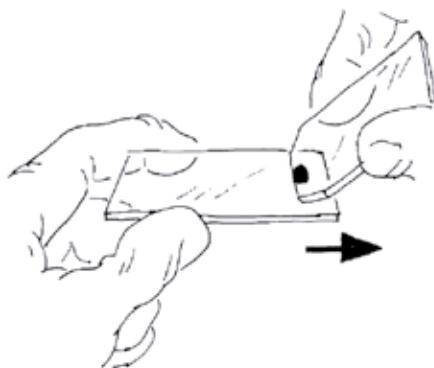
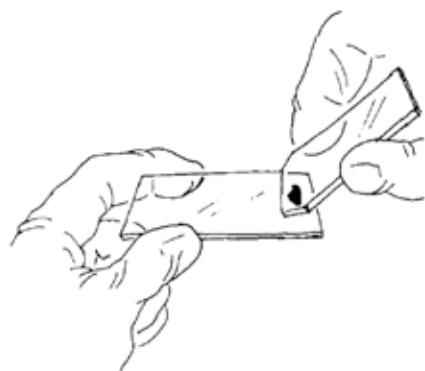
4. Cortar estas dos esquinas.



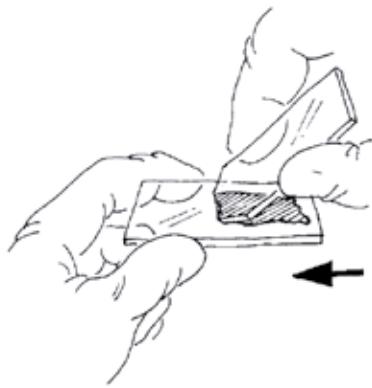
b. La extensión

1. Recoger una gota de sangre tocándola ligeramente con una cara del portaobjeto cerca del extremo de este.

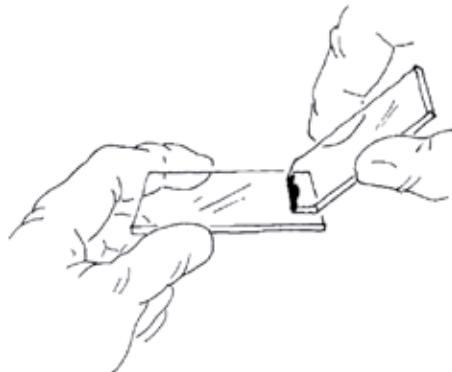
- 2.** Sostener el portaobjeto con una mano. Con la otra mano colocar el borde del portaobjeto que se ha recortado exactamente frente a la gota de la sangre.



- 4.** Dejar que la gota de sangre se extienda por el borde del portaobjeto recortado.



- 3.** Desplazar el portaobjeto recortado hacia atrás, hasta que toque la gota de sangre.



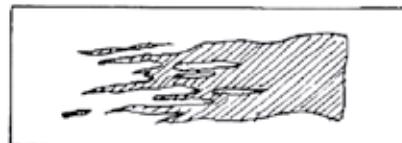
- 5.** Deslizar el portaobjeto recortado hacia el extremo opuesto del portaobjeto que contiene la gota de sangre con un movimiento suave (extender toda la gota de sangre antes de llegar al extremo del portaobjeto).

C. Una buena extensión

- ♦ Lograr una buena extensión es sumamente importante.

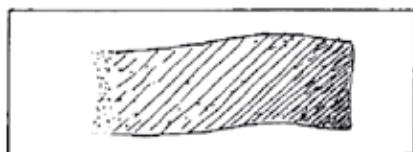
- I. Una extensión mal preparada producirá errores en la proporción o en el porcentaje de los tipos de leucocitos y hará imposible que se reconozca la morfología de los glóbulos rojos: **no** deberá haber líneas a lo ancho ni a lo largo de la extensión (la extensión debe tener tres partes: cabeza, cuerpo y cola).

No



III

Sí



2. El extremo de la extensión deberá terminar suave y gradualmente, sin interrupciones.

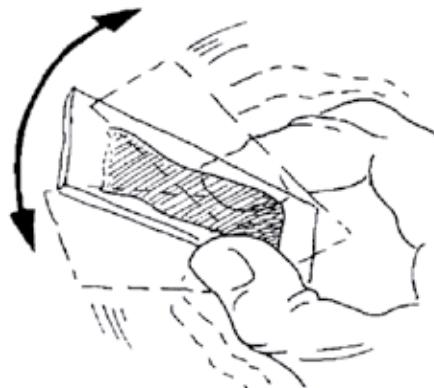
3. La extensión **no deberá ser demasiado larga ni gruesa**.

4. La extensión **no deberá tener espacios vacíos**, esto se produce cuando se usa portaobjeto con grasa.

5. **Marcar la extensión ya seca** con el nombre o código del paciente. Escribir éstos con un lápiz de grafito en un extremo del portaobjetos cerca a la porción gruesa de la extensión sanguínea.

d. Secado de la extensión

- I. Secar la extensión con rápidos movimientos en vaivén.



- ◆ Es importante que la extensión se seque de manera adecuada para conservar su calidad, en especial en climas húmedos.

e. Fijación de la extensión

- ◆ **Fijar las extensiones con metanol para su conservación.** Envuélvanse por separado una vez que estén secas, con hojas de papel blanco.

¡ATENCIÓN!

- ◆ **No extraer sangre de:**
 - El dedo índice o el pulgar.
 - Un dedo infectado.
 - La oreja (contiene demasiados monocitos)
- ◆ En caso de usar sangre venosa con anticoagulantes, utilizar solo EDTA(Etilendiamina tetraacético); otros anticoagulantes alteran la morfología de los leucocitos.
- ◆ No dejar la sangre con anticoagulante en reposo antes de preparar la extensión.
- ◆ En caso de obtener sangre venosa, colocar una gota mediana de sangre, directamente de la aguja de extracción, y luego seguir los pasos mencionados para la extensión de sangre.

TINCIÓN DE EXTENSIONES DE SANGRE

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ Las extensiones de sangre se colorean con las tinciones de Romanowski, que contienen azul de metileno y eosina.
- ◆ Entre las tinciones más usadas tenemos la:
 - Tinción de Wright.
 - Tinción de Giemsa.
 - Tinción de Leishman.

III

TINCIÓN DE LEISHMAN

- ◆ Es una coloración especial policromática utilizada para demostrar la presencia y morfología de microorganismos en sangre y tejidos, tales como: *bartonella*, *leptospira*, etc.

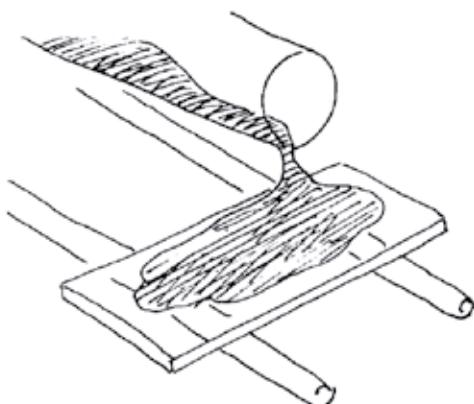
MATERIALES

- Dos varillas de vidrio colocadas a través del fregadero o sobre una cubeta para tinción.
- Solución amortiguada tamponada (ver Anexos).
- Colorante de Leishman (ver Anexos).
- Una gradilla para secar los portaobjetos.
- Un cronómetro.

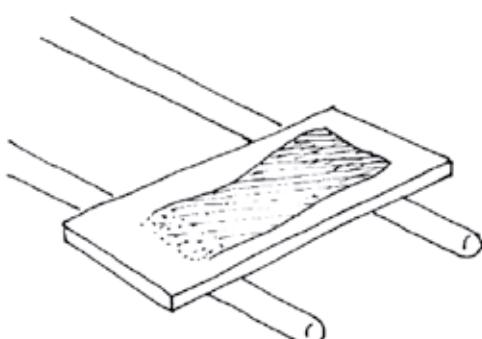
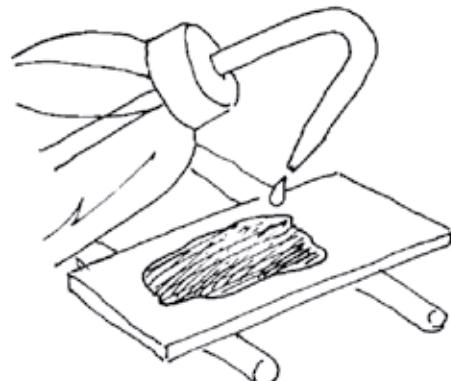


PROCEDIMIENTO

1. Fijar la extensión de sangre con metanol durante 2 - 3 minutos.



2. Cubrir la extensión de sangre con el colorante Leishman por 1 - 2 minutos.

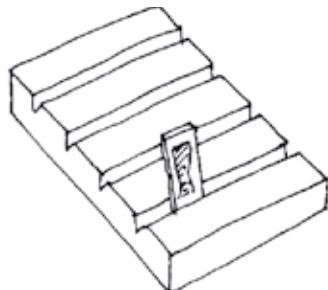


3. Sin eliminar el colorante, añadir solución amortiguada tamponada y mezclar.
4. Dejar actuar en reposo por 8 - 10 minutos.

5. Lavar con agua corriente. Dejar caer el chorro de agua en forma suave, empezando por el borde de la lámina inclinada.



III



6. Secar a temperatura ambiente.

7. Observar en el microscopio con objetivo de menor aumento y luego con objetivo de inmersión.

TINCIÓN DE GIEMSA

MATERIALES

- Metanol absoluto.
- Colorante Giemsa (ver Anexos).

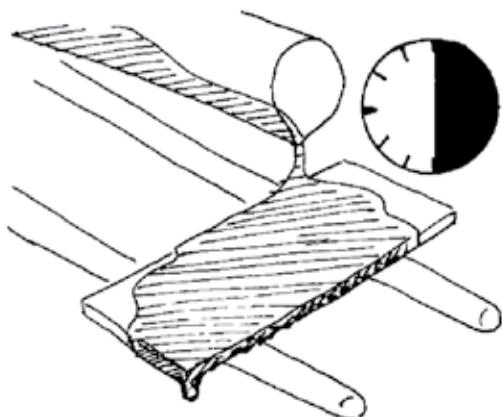
PROCEDIMIENTO

- I. Fijar la extensión de sangre con metanol duran





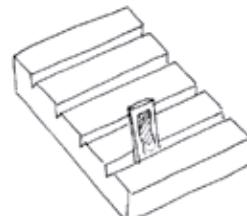
- 2.** Cubrir la extensión de sangre con colorante Giemsa diluido:
- 1 mL de solución *stock* de Giemsa en 9 mL de agua destilada o *buffer* fosfato (PBS) (ver Anexos).



- 3.** Dejar actuar en reposo por 30 minutos.



- 4.** Lavar con agua corriente. Dejar caer el chorro de agua en forma suave, empezando por el borde de la lámina inclinada.



- 5.** Dejar secar a temperatura ambiente.

- 6.** Observar en el microscopio con objetivo de menor aumento (40x) y luego con objetivo de inmersión (100x).

TINCIÓN DE WRIGHT



MATERIALES

- Colorante de Wright (ver Anexos) en un frasco gotero o un cuentagotas.
- Solución amortiguada tamponada (ver Anexos).

PROCEDIMIENTO

1. Cubrir la extensión de sangre con unas gotas de colorante Wright. Contar las gotas.
2. Dejar actuar en reposo durante 1 – 2 minutos.
3. Agregar sobre el colorante el mismo número de gotas de solución amortiguada tamponada y mezclar rápidamente, que puede ser hecho soplando suavemente (debe formarse una capa plateada).
4. Dejar reposar la mezcla por 10 minutos.
5. Lavar con agua corriente. Dejar caer el chorro de agua en forma suave, empezando por el borde de la lámina inclinada.
6. Dejar secar a temperatura ambiente.
7. Observar en el microscopio con objetivo de menor aumento (40x) y luego con objetivo de inmersión (100x).

RESULTADOS

- ◆ Cuando el método ha sido aplicado correctamente, se obtienen resultados similares:
 - Los eritrocitos se observan de color: **naranja**.
 - Los núcleos se observan de color: **púrpura**.
 - Los gránulos basófilos de color: **púrpura azulado**.
 - Los gránulos neutrófilos de color: **rojo lila**.
 - Los gránulos eosinófilos de color: **rojo naranja**.



¡ATENCIÓN!

- ◆ Evitar la formación de depósitos de colorante. Tienen aspecto de manchas negras y pequeñas en las extensiones de sangre.
- ◆ Evitar las tinciones defectuosas, que dan por resultados extensiones demasiado azules, oscuras o rojizas.
- ◆ Evitar portaobjetos alcalinos o solución amortiguadora alcalina. Producen que el frotis sea demasiado azul.
- ◆ La solución amortiguadora tamponada que se use debe prepararse al momento de su uso, ya que se acidifica al exponerse al aire.
- ◆ No usar portaobjetos sucios con grasa.

LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS

- ◆ La hematología es el estudio de la sangre, que comprende las células sanguíneas y el líquido que las rodea.
- ◆ Las células sanguíneas se pueden examinar con el microscopio.



TIPOS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS

a. Glóbulos rojos o eritrocitos

- Aspecto:** Células redondas, asemejan discos bicóncavos llenos de hemoglobina. No poseen núcleo.
- Tamaño:** 7,5 μm .
- Concentración en número:** Aproximadamente 5×10^{12} por litro de sangre ($5\ 000\ 000$ por mm^3 de sangre).
- Función:** Los eritrocitos transportan la hemoglobina, esta a su vez se combina con el oxígeno y lo lleva desde los pulmones hasta los tejidos. Llevan el bióxido carbónico de los tejidos a los pulmones.

b. Glóbulos blancos o leucocitos

- Aspecto:** Redondos, contienen un núcleo y algunos gránulos.
- Tamaño:** 9 - 20 μm .
- Concentración en número:** Aproximadamente 8×10^9 por litro de sangre ($8\ 000$ por mm^3 de sangre).
- Función:** Defensa del organismo contra las infecciones.

c. Plaquetas

- Aspecto:** Fragmentos de células de formas variadas (triangulares, estrelladas, ovales), con gránulos.
- Tamaño:** 2 - 5 μm .
- Concentración en número:** Aproximadamente 300×10^9 por litro de sangre ($300\ 000$ por mm^3 de sangre).
- Función:** Son importantes para la coagulación de la sangre.

ESTUDIO DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS

HEMOGRAMA COMPLETO



PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ No todos los leucocitos (glóbulos blancos) que circulan en la sangre son idénticos.
- ◆ Hay cinco tipos principales que se diferencian por el tamaño, la forma del núcleo y el color de los gránulos del citoplasma.
- ◆ La proporción o porcentaje de cada tipo de leucocitos es importante para el diagnóstico. Esta proporción o porcentaje se denomina: **Fórmula leucocitaria**.
- ◆ Para trabajar esta fórmula se cuentan 100 leucocitos y se anota el número que se ha encontrado de cada tipo de ellos.
- ◆ **Los valores normales** de los distintos leucocitos en su proporción relativa (**Fórmula leucocitaria porcentual**) y en cifras absolutas por mm³, son:

Fórmula leucocitaria	Proporción relativa (%)	Valores absolutos (mm ³)
Neutrófilos	55 - 65	4000 - 7000
Linfocitos	25 - 35	1500 - 3000
Eosinófilos	0,5 - 4	50 - 400
Monocitos	3 - 8	200 - 800
Basofilos	0,5 - 1	50 - 100

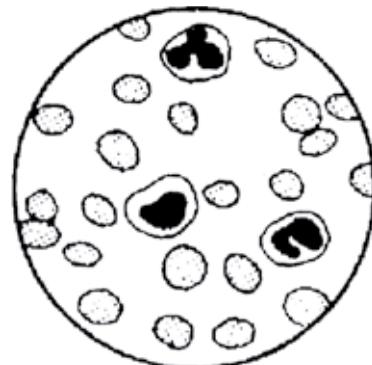
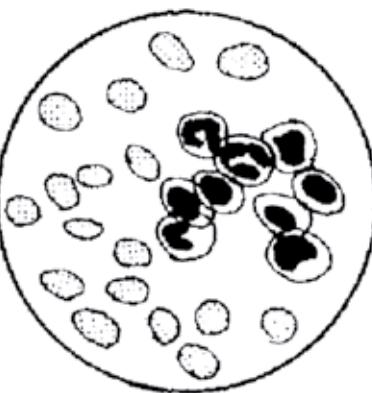
MATERIALES

- Un microscopio con objetivo 40x y un objetivo de 100x.
- Aceite de inmersión.
- Una extensión de sangre, coloreada con Giemsa.
- Un contador especial provisto de teclas, o uno que se haga por medio de frijoles o granos de maíz.



MÉTODO

a. Examen de la extensión

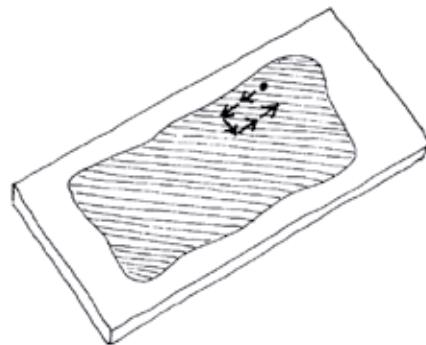


- I. Examinar la extensión de sangre coloreada con el objetivo de 40x para comprobar si los elementos celulares están bien distribuidos y la tinción es adecuada.
2. Verificar que los glóbulos blancos se encuentran uniformemente distribuidos en la extensión: si está mal distribuida es posible que los neutrófilos se hallen agrupados.
3. Verificar que la extensión no sea demasiado gruesa.
4. Si la lámina coloreada, está en buenas condiciones, colocar una gota de aceite de inmersión en la lámina y observar con el objetivo de 100x e iniciar el recuento de leucocitos.

b. Recuento de leucocitos



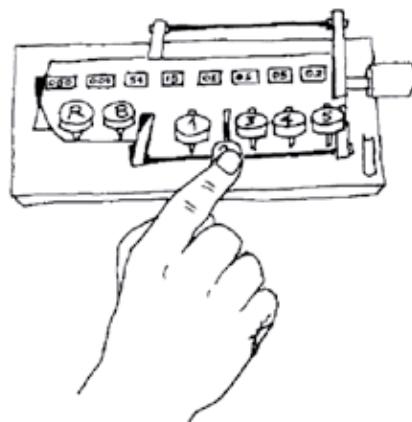
1. Iniciar el recuento en la última porción de la extensión, es decir, donde se observe que los eritrocitos comienzan a agruparse y sobreponerse.
2. Examinar una porción rectangular de la extensión mediante un movimiento ordenado, de un campo a otro, como se indica en la figura.
3. Tomar nota del tipo de leucocito que se observe en cada campo.
4. Contar un total de 100 leucocitos.



c. Procedimientos de recuento

MÁQUINA CON TECLADO

- ◆ Es una máquina contadora, con teclado.
- ◆ Cada tecla corresponde a un tipo de leucocitos. El número de cada tipo de leucocito se registra automáticamente.
- ◆ Es de costo elevado.



CON LÁPIZ Y PAPEL

- ♦ Trazar un cuadro con:
 - **Cinco columnas verticales.**
- N = Neutófilos
- E = Eosinófilos.
- B = Basófilos.
- L = Linfocitos.
- M = Monocitos.
- **Diez líneas horizontales.**



	N	E	B	L	M
1					1
2					
3					
4					1
5					
6					
7					
8					
9					
10					
TOTAL	58	8	1	28	5
FRACC.	0.58	0.08	0.01	0.28	0.05

- ♦ A continuación, marcar un palote en el cuadro correspondiente según el tipo de leucocito.
- ♦ Los totales de las columnas corresponderán al porcentaje de cada tipo de leucocitos.

Ejemplo: 58 será 58%
 5 será 5%, etc.

Estas cifras constituyen los resultados que se deben comunicar.

RESULTADOS ANORMALES



NEUTROFILIA

- ◆ Es el **aumento de la proporción de neutrófilos (más de 7 000) en sus formas inmaduras** (abastonados, mielocitos, metamielocitos).

LEUCOCITOSIS

- ◆ Es el **aumento de la cifra total de los leucocitos con cifras superiores a 10 000 o 12 000**. Se presenta en infecciones agudas graves.

DESVIACIÓN A LA IZQUIERDA

- ◆ Es el aumento de la proporción de neutrófilos en sus formas inmaduras (abastonados, mielocitos, metamielocitos). Se presenta en infecciones agudas graves.

EOSINOFILIA

- ◆ Es el **aumento de la proporción de eosinófilos (más de 400)**. Ocurre en casos de parasitosis, asma o alergias.

LINFOCITOSIS

- ◆ Es el **aumento de la proporción de linfocitos (más de 3 000)**. Ocurre en casos de infecciones virales (sarampión, etc.) y en ciertas infecciones crónicas (tuberculosis, etc.).

MONOCITOSIS

- ◆ Es el aumento de la proporción de monocitos (más de 800). Se puede observar en casos de infecciones bacterianas.

NEUTROPENIA



- ◆ Es la disminución del número de neutrófilos. Puede ocurrir en enfermedades infecciosas graves.

VALORES NORMALES DE LEUCOCITOS POR GRUPO DE EDAD

	Recién nacido	1-4años	10 años	Adultos
Neutrófilos	5 500 - 6 500	3 600 - 4 800	4 500 - 5 500	4 000 - 7 000
Linfocitos	200 - 400	200 - 500	200 - 500	50 - 400
Eosinófilos	0 - 100	0 - 100	0 - 100	50 - 100
Monocitos	3 000 - 3 500	4 400 - 5 400	4 400 - 4 500	1 500 - 3 000
Basofilos	300 - 600	300 - 600	300 - 600	200 - 800

PREDOMINIO DE LINFOCITOS

- ◆ En lactantes y niños menores de 10 años.

PREDOMINIO DE NEUTRÓFILOS

- ◆ En adultos, niños mayores de 10 años y recién nacidos.

EXAMEN DE LOS LEUCOCITOS

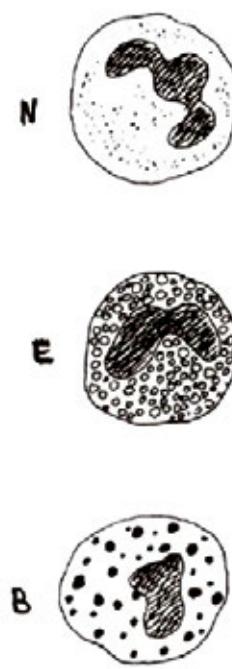
a. Se debe diferenciar y tomar nota

- ◆ Forma y tamaño de los leucocitos en comparación con los glóbulos rojos (R).
- ◆ Forma y tamaño del núcleo en relación con el área total de la célula de los diferentes leucocitos:



Característica	Núcleo	Esquema
Forma y tamaño	- Redondo(r) - Lobulado(l) - Dentado(d)	
Cromatina	Intensamente o débilmente teñida	
Posición	Central o excéntrica	

♦ Del **citoplasma** de los diferentes leucocitos:

Característica	Citoplasma	Esquema
Color	Incolor, rosáceo, azul pálido u oscuro	
Gránulos Los granulocitos son: neutrófilos, eosinófilos y basófilos	<ul style="list-style-type: none"> - Gránulos neutrófilos (N), pequeños, color malva. - Gránulos eosinófilos (E), grandes, color anaranjado - Gránulos basófilos(B), Voluminosos, color morado oscuro 	

III

- ♦ Las **vacuolas y nucléolos** constituyen áreas ovales o redondas, que no se tiñen o lo hacen débilmente.
- **Las vacuolas (V)** se encuentran en el citoplasma.
 - **Los nucléolos (N)** se encuentran en el núcleo.

EJEMPLO

- ♦ **Los neutrófilos polimorfonucleares (P)** tienen un núcleo con varios lóbulos y gránulos en el citoplasma (de allí que también se les llama granulocitos).
- ♦ **Los linfocitos (L) y los monocitos (M)** tienen un núcleo compacto y citoplasma con gránulos o sin ellos.

DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS DE LEUCOCITOS

a. *Neutrófilos polimorfonucleares o granulocitos*



- Tamaño:** 12 - 15 μm .
- Forma:** Redonda, bien definida.
- Citoplasma:** Abundante, rosáceo.
- Gránulos:** De color malva, muy pequeños, numerosos pero separados.
- Núcleo:** Varios lóbulos (de 2 a 5), unidos por puentes de cromatina, que tiene el aspecto de una masa uniforme de color morado oscuro. A medida que envejece el leucocito aumenta el número de lóbulos del núcleo.

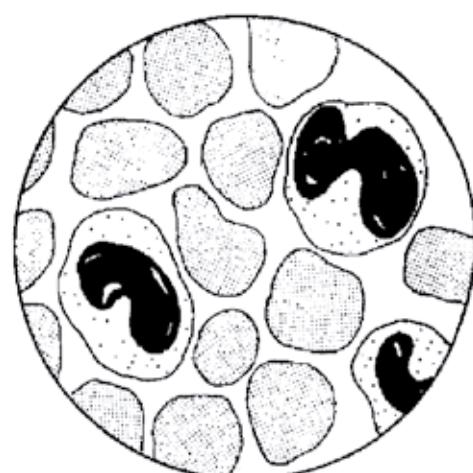


b. *Abastonados o neutrófilos polimorfonucleares inmaduros*

Llamados también "en banda" o "en cayado".

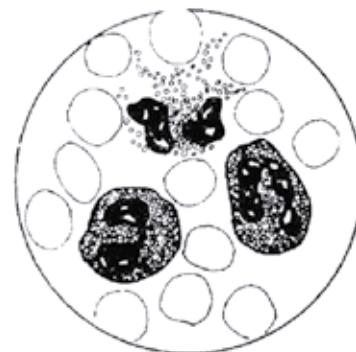
A diferencia de las anteriores es que el núcleo tiene forma de "S".

Si se observa este tipo de leucocitos notifíquese su porcentaje del mismo modo que las de otros tipos de leucocitos.



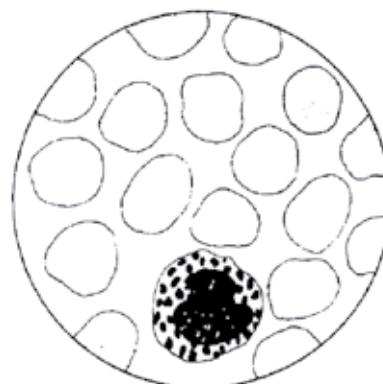
c. Eosinófilos polimorfonucleares

- Tamaño:** 12 - 15 μm .
- Gránulos:** Voluminosos, redondos, de color rojo anaranjado, abundantes y agrupados estrechamente.
- Núcleo:** Generalmente consta de dos lóbulos. Algunas veces se observa que estos leucocitos se han dañado y los gránulos se hallan diseminados en el exterior.



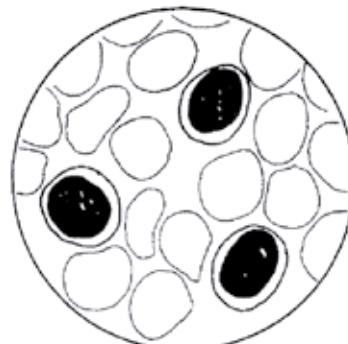
d. Basófilos polimorfonucleares

- Tamaño:** 11 - 13 μm .
- Forma:** Redonda.
- Gránulos:** Muy voluminosos, redondos, de color morado oscuro, abundantes pero menos estrechamente agrupados que los gránulos de los eosinófilos.
- Núcleo:** Difícil de observar, pues se halla cubierto por los gránulos.
- Vacuolas:** En el citoplasma se encuentran escasas vacuolas incoloras y pequeñas.



e. Linfocitos pequeños

- Tamaño:** 7 - 10 μm .
- Forma:** Redonda.
- Forma:** Redonda.

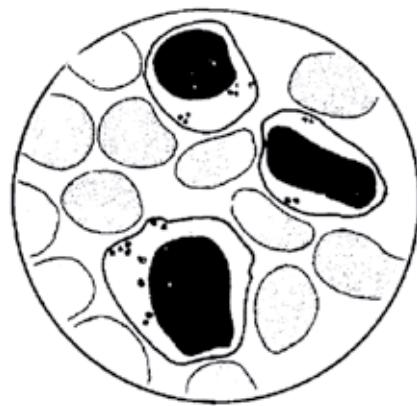


- Núcleo:** Voluminoso, ocupa la mayor parte de la célula; la cromatina es de color morado oscuro, y densa.
- Citoplasma:** La cantidad visible es reducida, de color azul y sin gránulos.

f. Linfocitos grandes

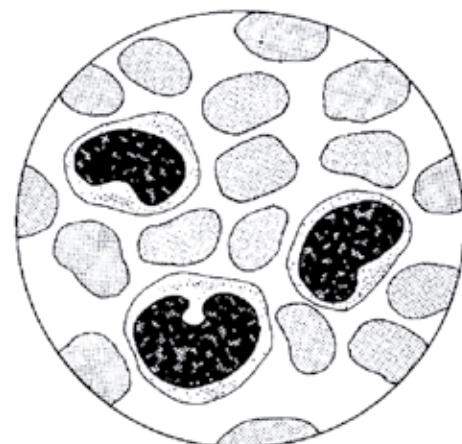


- Tamaño:** 10 - 15 μm .
- Forma:** Redonda o irregular.
- Gránulos:** Escasos, voluminosos y de color rojo oscuro.
- Núcleo:** Oval o redondo puede ocupar un lado de la célula.
- Citoplasma:** Abundante, de color pálido.



g. Monocitos

- Tamaño:** 15 - 25 μm ; son los leucocitos más grandes.
- Forma:** Irregular.
- Gránulos:** Sumamente pequeños; parecen partículas de polvo; generalmente rojizos.
- Núcleo:** Variable, en forma de riñón; la cromatina se dispone en cordones irregulares de color malva pálido.
- Vacuolas:** Casi siempre hay vacuolas en el citoplasma.



CÉLULAS ANORMALES

a. Células plasmáticas

Producen anticuerpos.

Se observa en casos de sarampión, tuberculosis, otras virosis, infecciones bacterianas y mieloma múltiple.

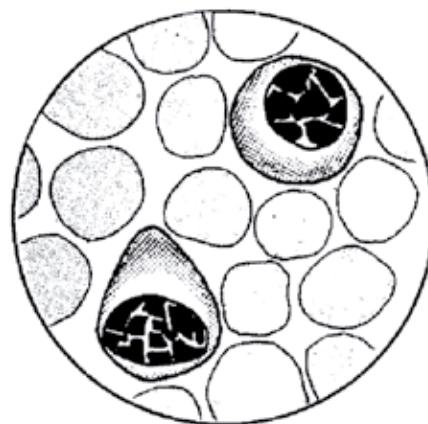
Tamaño: 12 - 15 μm .

Forma: Redonda.

Núcleo: Redondo, excéntrico, con la cromatina aglutinada semejante a una rueda.

Citoplasma: De color azul oscuro, con una tinción débil alrededor del núcleo (halo perinuclear característico).

Vacuolas: Numerosas, pequeñas visibles con dificultad.



III

b. Glóbulos rojos nucleados (normoblastos)

Los normoblastos son glóbulos rojos inmaduros y nucleados que normalmente se hallan en la médula ósea.

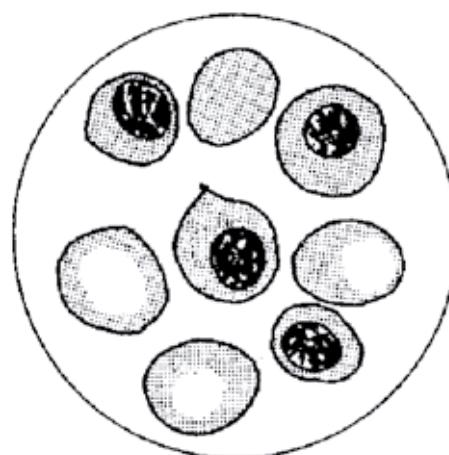
Se observa en casos de anemia.

Tamaño: 8 - 10 μm .

Forma: Redonda.

Núcleo: Redondo, a menudo excéntrico, con cromatina aglutinada y densa, se tiñe de color oscuro.

Citoplasma: De color azul grisáceo o rosa, sin gránulos.



c. Granulocitos inmaduros (mielocitos y metamielocitos)

Durante las enfermedades bacterianas graves los granulocitos polimorfonucleares inmaduros salen de la médula ósea a la sangre.

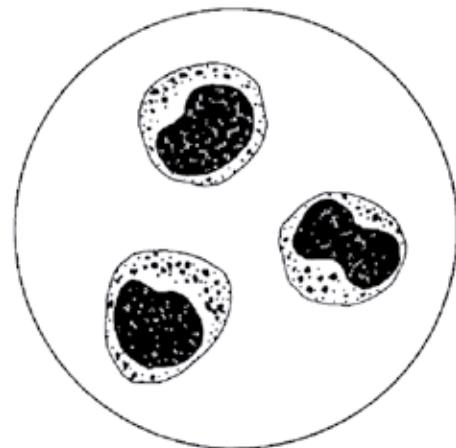


Tamaño: 12 - 18 μm .

Núcleo: Un solo núcleo sin lóbulos, con cromatina que varía entre el rojo oscuro y el morado.

Citoplasma: De color azul pálido o rosáceo.

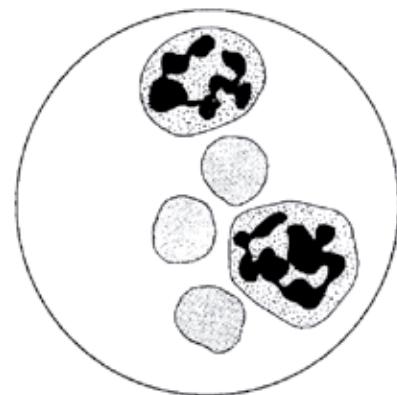
Gránulos: Abundantes, voluminosos, de color malva o rojo oscuro. A veces se observa granulaciones tóxicas con gránulos voluminosos que se tiñen de color oscuro.



d. Neutrófilos polimorfonucleares hipersegmentados

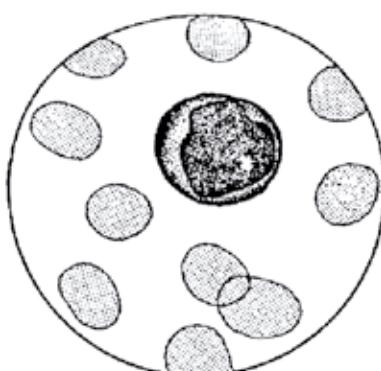
Son neutrófilos polimorfonucleares "viejos", cuyos núcleos presentan de 5 - 10 lóbulos y con frecuencia son voluminosos.

Se presentan en pacientes que sufren anemia macrocítica causada por deficiencias de ácido fólico o vitamina B-12.



e. Linfocitos atípicos

Se encuentran en infecciones por virus, por ejemplo sarampión, tos ferina. También en casos de tuberculosis y paludismo grave.



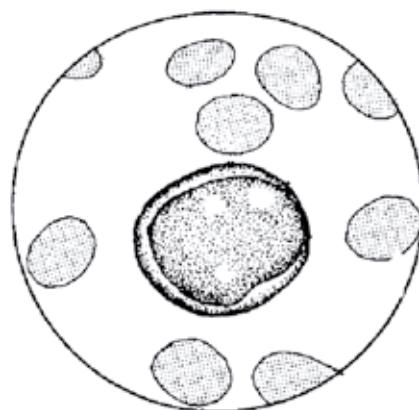
- Tamaño:** 12 – 18 μm .
- Forma:** Irregular.
- Núcleo:** Redondo, excéntrico, con nucléolos visibles.
- Citoplasma:** De color más oscuro que el de los linfocitos grandes; se oscurece a medida que se acerca a la pared de la célula.

f. **Mieloblastos**

Es el tipo más joven e inmaduro de todas las células de la serie granulocítica.
Se observan en pacientes con leucemia.



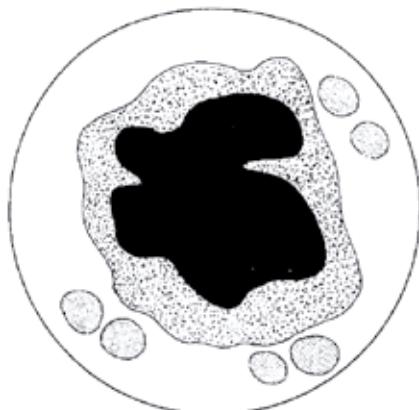
- Tamaño:** 15 - 25 μm
- Núcleo:** Grande, redondo, de color malva, cromatina laxa finamente distribuida, pálido, presenta de 1 - 5 nucléolos.
- Citoplasma:** De color azul oscuro, con un área clara que no se tiñe, situada alrededor del núcleo.



g. **Megacariocitos**

Son los precursores de las plaquetas de la médula ósea.

- Tamaño:** 60 - 100 μm .
- Núcleo:** Irregular, denso y con abundantes lóbulos.
- Citoplasma:** Lleno de gránulos pequeños y de plaquetas. La pared celular no está bien definida.



GLÓBULOS ROJOS O ERITROCITOS ANORMALES

PRINCIPIOS GENERALES



- ♦ En algunas enfermedades, principalmente anemias, los glóbulos rojos o eritrocitos pueden sufrir anormalidades:

- **Alteraciones estructurales:**

En la **forma** (**poiquilocitos**) en el **tamaño** (**anisocitosis**).

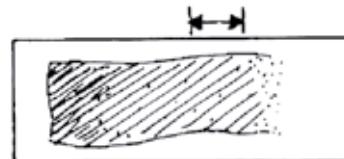
- **Alteraciones cromáticas:**

En la **concentración de hemoglobina**: (hipercromía, hipocromía, etc.).

- **Inclusiones anormales.**

- ♦ **Examen de la extensión**

Los eritrocitos se deben observar **antes del extremo donde termina la extensión de sangre** (en la parte final del cuerpo y comienzos de la cola), en esta porción se hallan separados unos de otros y si se tocan no se sobreponen.

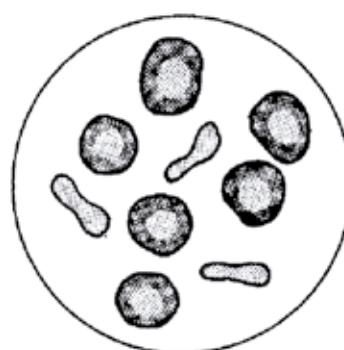


- ♦ **Glóbulos rojos o eritrocitos normales**

Tamaño: 7 - 8 μm .

Forma: Redonda o ligeramente irregular

Color: La periferia se tiñe de color rosa intenso; el centro lo hace de color rosa pálido, o bien es casi incoloro.



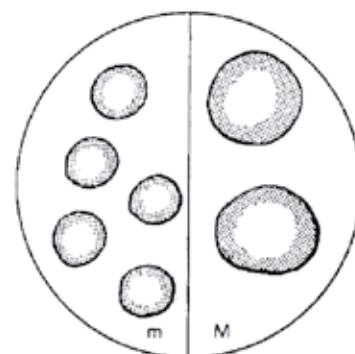
ALTERACIONES ESTRUCTURALES EN EL TAMAÑO

III

a. **Microcitos (m)**

Se observan en la anemia ferropénica.

Tamaño: Son eritrocitos pequeños, de aproximadamente 5 μm .



b. **Macrocitos (M)**

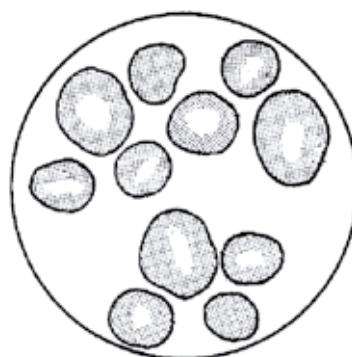
Se observan en anemias macrocíticas debido a deficiencia de ácido fólico o vitamina B 12 Y en ciertos padecimientos hepáticos.

Tamaño: Son eritrocitos grandes, de aproximadamente 9 - 10 μm .

c. **Anisocitosis**

Se observan en anemias de diferentes causas.

Tamaño: Son eritrocitos de diferentes tamaños que se encuentran en la misma sangre; hay eritrocitos de 9 μm mezclados con eritrocitos de 6 μm .



ALTERACIONES ESTRUCTURALES EN LA FORMA

a. *Poiquilocitos*

Se observan en anemias de diferentes causas



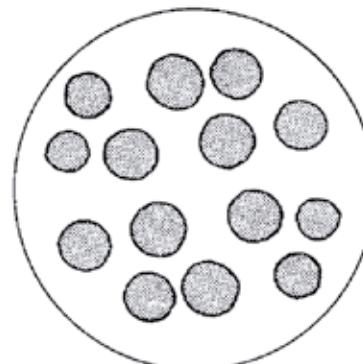
Formas: Son eritrocitos de diferentes formas que se encuentran en la misma sangre; hay eritrocitos de células redondas, ovales, triangulares, piriformes y dentadas.



b. *Esferocitos*

Se observan en anemia hemolítica.

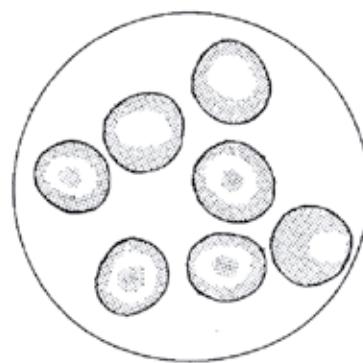
Tamaño: Pequeño (6 μm).
Forma: Completamente redonda.
Color: Uniforme. Todo el eritrocito se tiñe intensamente.



c. *Eritrocitos anillados*

Se observan en anemia drepanocítica, talasemia y otras anemias debido a hemoglobina anómala.

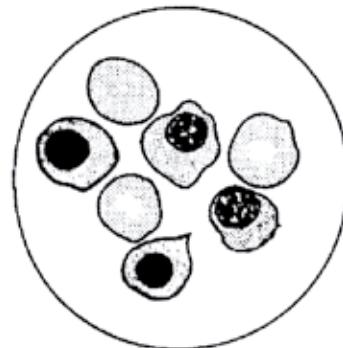
Tamaño: 6 - 8 μm .
Forma: Redonda o ligeramente irregular.
Color: El centro y la orilla se tiñen intensamente, pero entre ambos se observa un anillo incoloro.



d. Eritrocitos nucleados (normoblastos)

Se observan en las anemias graves y en las leucemias.

- Tamaño:** 8 - 10 μm
- Forma:** Redonda o irregular.
- Núcleo:** Pequeño, de color morado oscuro, excéntrico con cromatinas densas.
- Citoplasma:** De color rosa o azul grisáceo.

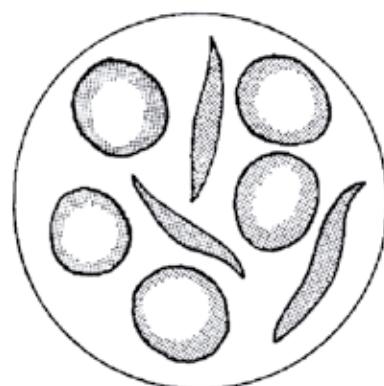


III

e. Eritrocitos falciformes

Se observan en las anemias falciformes o drepanocítica y la talasemia falciforme.

- Forma:** Alargada y estrecha con uno o ambos extremos curvos.

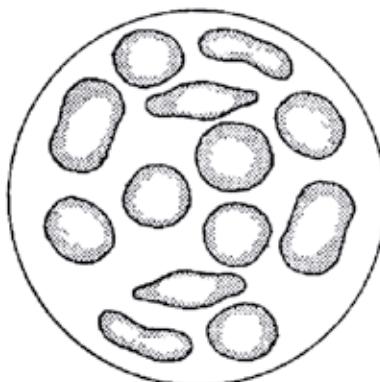


ALTERACIONES CROMÁTICAS

a. Eritrocitos hipocrómicos

Se observan en anemia ferropénica.

- Tamaño:** Normal o un poco menor que el normal.
- Color:** Sólo se tiñe la periferia a causa de la falta de hierro en el eritrocito.



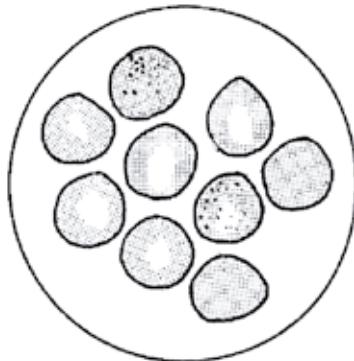
INCLUSIONES ANORMALES

a. *Eritrocitos que contienen gránulos basófilos*



Gránulos:

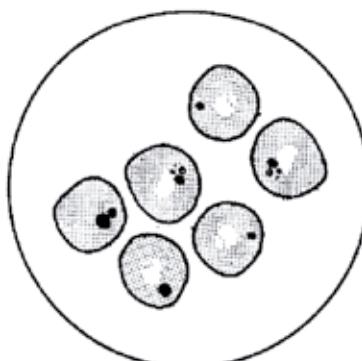
En estos eritrocitos hay un número de gránulos pequeños de color azul violáceo. No confundir con depósitos de los colorantes.



b. *Eritrocitos que contienen cuerpos de Howell y Jolly*

Gránulos:

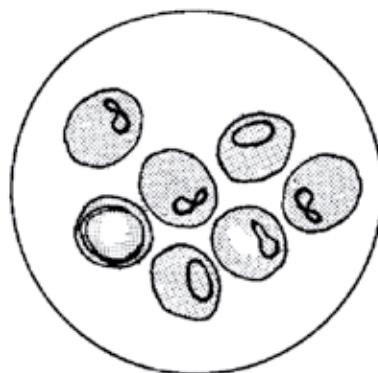
En estos eritrocitos hay cierto número de gránulos voluminosos de color morado (restos de núcleo). No confundir con las plaquetas que se suelen adherir a la superficie de los eritrocitos.



c. *Eritrocitos que contienen cuerpos anulares de Cabot*

En estos eritrocitos se observa líneas delgadas que adoptan la forma de "8".

Siempre que se encuentre con eritrocitos anormales y difíciles de identificar envíe el frotis al laboratorio de referencia.



RECUENTO DEL NÚMERO DE LEUCOCITOS O GLÓBULOS BLANCOS

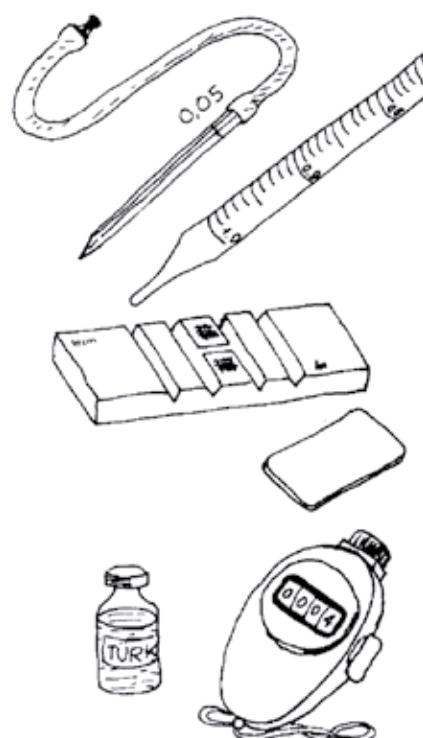
PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ El recuento del número de leucocitos o glóbulos blancos se expresa por mm^3 (milímetro cúbico).
- ◆ La sangre se deposita en un líquido para diluir leucocitos, dejándolos intactos. En cambio los eritrocitos son destruidos por este líquido.
- ◆ Luego, se cuentan los leucocitos en una cámara de recuento, por medio del microscopio, y se calcula el número que existe por milímetro cúbico de sangre.
- ◆ Es importante conocer el número de leucocitos, pues éste se altera en casos de enfermedades infecciosas.



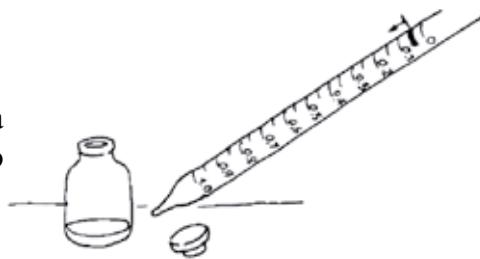
MATERIALES

- Una pipeta para sangre, graduada hasta $50 \mu\text{L}$ ($0,05 \text{ mL}$ o 50 mm^3) con tubo de goma.
- Una pipeta de 1 mL , graduada.
- Una cámara de recuento de Neubauer, de preferencia con "línea brillante". Tapar la cámara con la laminilla de vidrio especial que la acompaña.
- Líquido para dilución: solución de Turk
- Un contador manual, para recuento.

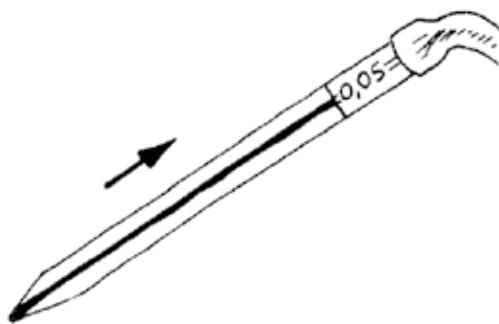


MÉTODO

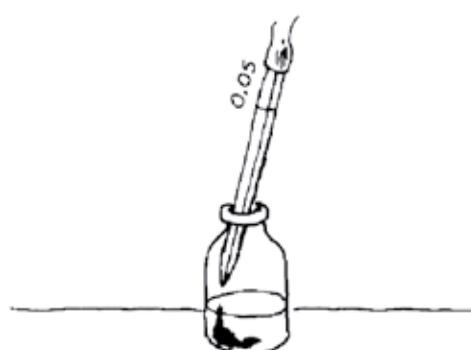
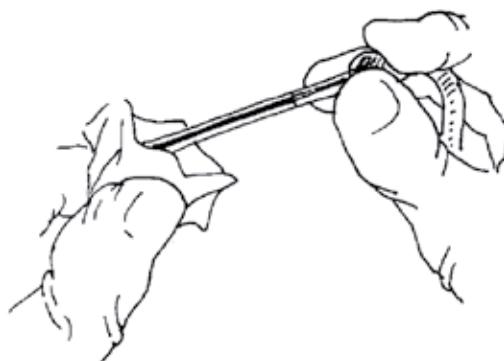
1. Trasladar 0,95 mL del líquido para dilución de leucocitos en un frasco pequeño con la pipeta de 1 mL.



2. Con la pipeta para sangre aspirar sangre venosa o capilar hasta la marca de 0,05 mL. Si la sangre es venosa asegurarse que se mezcle completamente invirtiendo el frasco que contiene la sangre y el anticoagulante varias veces durante un minuto, luego aspirar con la pipeta.



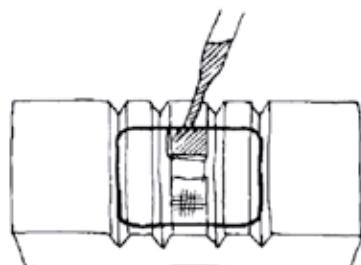
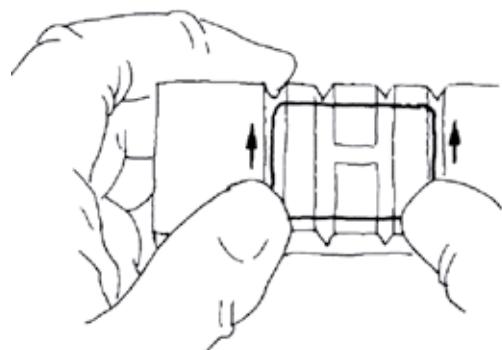
3. Limpiar el exterior de la pipeta que contiene la sangre, con papel absorbente. Asegurarse que la sangre continúe en el mismo nivel.



4. Depositar la sangre en el frasco que contiene el líquido para dilución. La dilución de esta sangre será de 1 x 20.

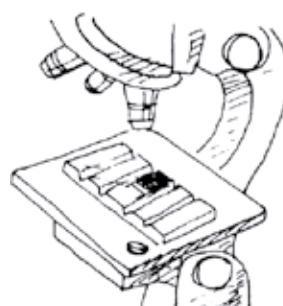
5. Enjuagar la pipeta aspirando y expulsando este líquido 3 veces en el mismo frasco.
6. Rotular el frasco con el nombre o código del paciente.

7. Montar la laminilla de vidrio en la cámara para recuento, presionándola cuidadosamente para colocarla en su sitio. Si se ha montado adecuadamente, entre las dos superficies de vidrio se observan unas bandas de color, llamadas "anillos de Newton".



8. Con una pipeta pasteur llenar la cámara de recuento, sólo el área cuadriculada.
9. Si el líquido se derrama en el canal que se encuentra entre las dos cámaras, la operación se debe repetir: retirar y limpiar la laminilla de vidrio; limpiar también la cámara para recuento y llenarla con otra gota.
10. Dejar reposar la cámara por 3 minutos, para que las células se asienten.

11. Colocar la cámara en la platina del microscopio. Con el objetivo de 10x enfocar el área cuadriculada de la cámara y con el objetivo de 40x contar los leucocitos.



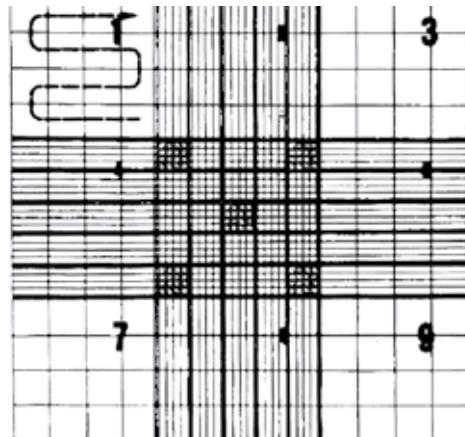
MÉTODO DE RECUENTO

a. Uso de la cámara de Neubauer



- Área de la cámara: 9 mm².
- Profundidad de la cámara: 0,1 mm.

Contar los leucocitos en un área de 4 mm² utilizando los cuadros numerados 1, 3, 7 y 9, se debe incluir en el recuento los leucocitos que se observan sobre las líneas de cada cuadro revisado.



b. Cálculo del número de leucocitos en un mm³ de sangre

1. Usar la siguiente fórmula:

$$\text{Leucocitos / mm}^3 = \frac{\text{leucocitos contados} \times 10 \times 20}{4}$$

$$\text{Leucocitos / mm}^3 = \text{leucocitos contados} \times 50$$

2. Notificar el resultado como el número de leucocitos que hay en 1 mm³ de sangre sin diluir.

Ejemplo:

En los cuatro cuadros se cuentan 188 células.

$$\text{Leucocitos por mm}^3 = 188 \times 50$$

Resultado que se notifica: 9 400 leucocitos/mm³ de sangre.

VALORES NORMALES DE LEUCOCITOS POR GRUPO DE EDAD

Grupos de edad	Leucocitos/mm ³
Hombres y mujeres	4 000 - 10 000
Niños de 10 años	4 000 - 10 000
Niños de 3 años	4 000 - 11 000
Niños 3 - 9 meses	4 000 - 11 000
Recién nacidos	10 000 - 12 000



RECUENTO DEL NÚMERO DE ERITROCITOS O GLÓBULOS ROJOS

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ El recuento del número de eritrocitos o glóbulos rojos se expresa por mm³ (milímetro cúbico).
- ◆ La sangre se deposita en un líquido para diluir eritrocitos.
- ◆ Luego, se cuentan los eritrocitos en una cámara de recuento, por medio del microscopio, y se calcula el número que existe por mm³ de sangre.
- ◆ Es importante conocer el número de eritrocitos o glóbulos rojos. Se halla **concentraciones bajas**: en pacientes con anemia causada por pérdida de eritrocitos o hemólisis. Y **concentraciones elevadas**: en pacientes con deshidratación o con policitemia, etc.

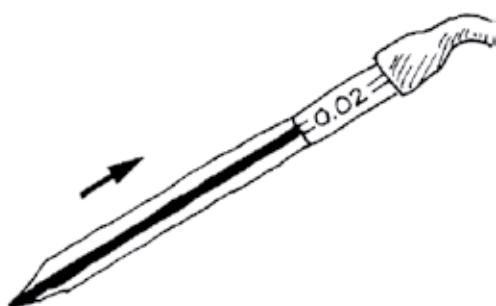
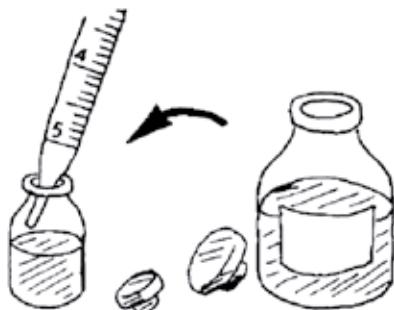
MATERIALES

- Una pipeta para sangre, hasta 0,02 mL (20 mm³ o 20 µm) con tubo de goma y boquilla.
- Una pipeta de 5 mL, graduada.
- Una cámara de recuento de Neubauer.
- Líquido para dilución: solución de citrato y formaldehído (ver Anexos).
- Un contador manual, para recuento.



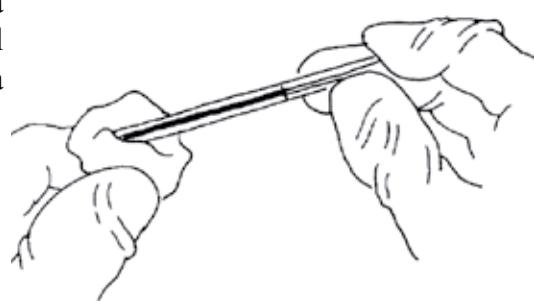
MÉTODO

1. Trasladar 4,0 mL del líquido para dilución de eritrocitos en un frasco pequeño con la pipeta de 5 mL.



2. Con la pipeta para sangre aspirar sangre venosa o capilar hasta la marca de 0,02 mL. Si la sangre es venosa asegurarse que se mezcle completamente invirtiendo el frasco que contiene la sangre y el anticoagulante varias veces durante un minuto, luego aspirar con la pipeta.

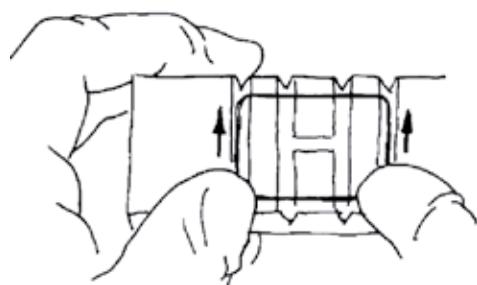
- 3.** Limpiar el exterior de la pipeta que contiene la sangre, con papel absorbente. Asegurarse que la sangre continúe en el mismo nivel.



III



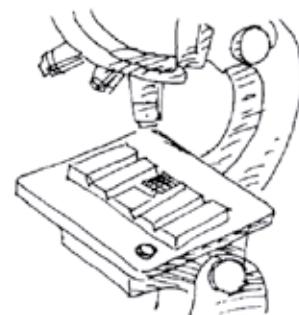
- 4.** Depositar la sangre en el frasco que contiene el líquido para dilución. La dilución de esta sangre será de 1 x 200.
- 5.** Enjuagar la pipeta aspirando y expulsando este líquido tres veces en el mismo frasco.
- 6.** Rotular el frasco con el nombre o código del paciente.
- 7.** Montar la laminilla de vidrio en la cámara para recuento, presionándola cuidadosamente para colocarla en su sitio. Si se ha montado adecuadamente, entre las dos superficies de vidrio se observan unas bandas de color, llamadas anillos de Newton.



8. Con una pipeta Pasteur llenar solo el área cuadriculada de la cámara de recuento.
9. Si el líquido se derrama en el canal que se encuentra entre las dos cámaras, la operación se debe repetir: retirar y limpiar la laminilla de vidrio; limpiar también la cámara para recuento y llenarla con otra gota.
10. Dejar reposar la cámara por 3 minutos, para que las células se asienten.



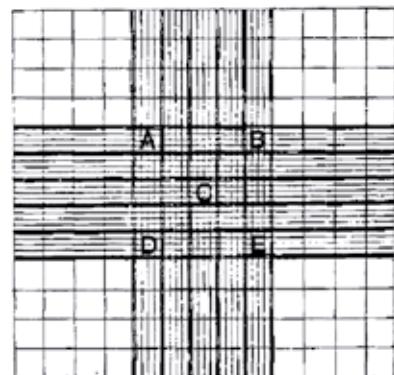
11. Colocar la cámara en la platina del microscopio. Con el objetivo de 10x enfocar el área cuadriculada de la cámara y enseguida cambiar al objetivo 40x para contar los eritrocitos.



PROCEDIMIENTO DE RECUENTO

a. ***Uso de la cámara de Neubauer***

- Área de la cámara: 9mm^2 .
 - Profundidad de la cámara: 0,1 mm.
- I. Contar los eritrocitos en un área de $0,2\text{ mm}^2$ utilizando los cuadros A, B, C, D y E, se debe incluir en el recuento las células que se observan sobre las líneas de cada cuadro revisado.



b. Cálculo del número de eritrocitos

I. Cálculo de eritrocitos por mm³:

$$\text{Eritrocitos / mm}^3 = \text{células contadas} \times 200 \times 50$$

$$\text{Eritrocitos / mm}^3 = \text{células contadas} \times 10\,000$$



- 2.** Notificar el resultado como el número de eritrocitos que hay por milímetro cúbico de sangre sin diluir.

Ejemplo:

En los primeros cinco cuadros se cuentan 390 células.

Células por milímetro cúbico: **390 x 10 000.**

Resultado que se notifica: **3,9 millones de eritrocitos/mm³.**

VALORES NORMALES DE ERITROCITOS POR GRUPO DE EDAD HEMATOCRITO

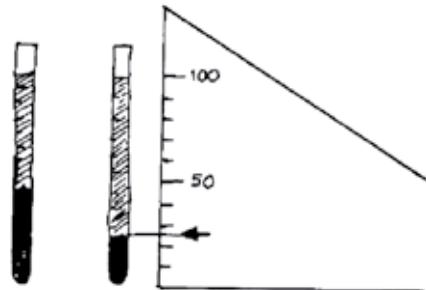
Grupos de edad	Millones de eritrocitos/mm ³
Mujeres	4,0- 5,0
Hombres	4,5 - 5,5
Niños de 4 años	4,2- 5,2
Niños de 1 a 6 meses	3,8 - 5,2
Recién nacidos	5,0 - 6,0

HEMATOCRITO

PRINCIPIOS GENERALES



- ◆ Se llama **hematocrito** (Hcto) al volumen total que ocupan los eritrocitos, dividido entre el volumen de sangre.
- ◆ **Ejemplo:** si el volumen de los eritrocitos en litro (1 000 mL) de sangre es de 450 mL, el hematocrito será: $450 \text{ mL} / 1\,000 \text{ mL}$. Este resultado se notifica como un porcentaje de 45%.
- ◆ Se tiene el método de **microescala**, la sangre se deposita en un tubo capilar largo y se centrifuga empleando un "cabezal para microhematocrito". Luego se mide el nivel de la columna de eritrocitos por medio de una escala especial. Es el **método más rápido y se emplea sangre extraída de un dedo**.



MÉTODO DE MICROESCALA

MATERIALES

- Una centrífuga para "microhematocrito".
- Una escala para medir los resultados.

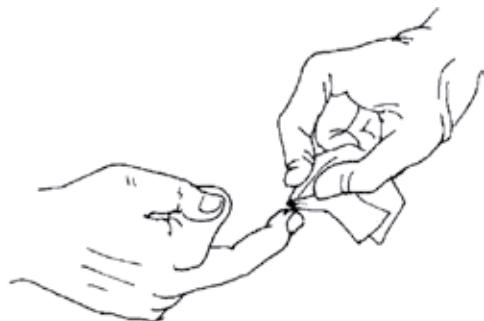


- Tubos capilares con heparina (heparina seca como anticoagulante) de 75 mm de longitud y 1,5 mm de diámetro interior. Si la sangre venosa está mezclada con bipotásica de EDTA no será necesario que los tubos contengan heparina.
- Cera blanda o arcilla.
- Lanceta para extracción de sangre capilar.

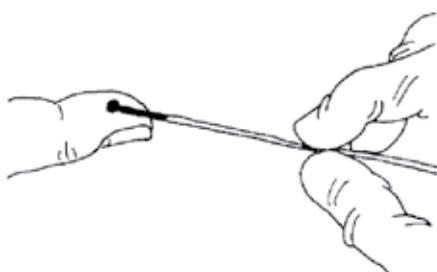


PROCEDIMIENTO

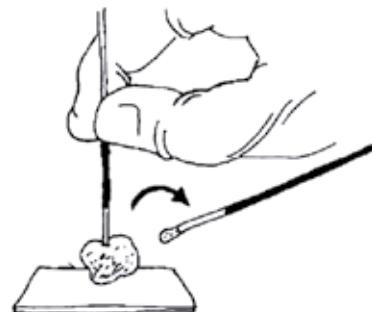
1. Obtener sangre capilar. La sangre deberá salir libremente o después de exprimir muy suavemente el área.



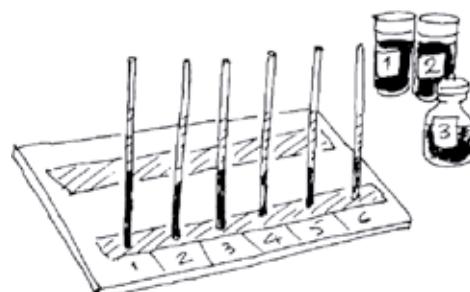
2. Recoger la primera gota de sangre con un filtro de papel.



3. Aplicar el extremo delgado (marcado con un círculo rojo) del tubo capilar con heparina sobre la gota de sangre. La sangre ingresará en el tubo por capilaridad. Llenar los 3/4 del tubo.
4. Taponar el extremo contrario del tubo, que no ha estado en contacto con la sangre, con la cera blanda o arcilla. Asegurarse que el taponamiento sea hermético y que la cera llegue a unos 2 mm de profundidad dentro del tubo.

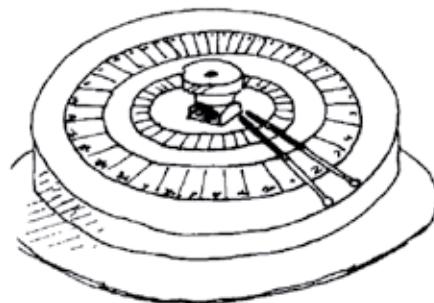


Si no tiene cera o arcilla, cerrar el extremo del tubo calentándolo cuidadosamente sobre la llama de una lámpara de alcohol. Dejar enfriar en posición horizontal.



5. Disponer de una gradilla numerada en que haya colocado arcilla. Así el tubo de cada paciente se puede fijar en posición vertical junto al número que le corresponde.

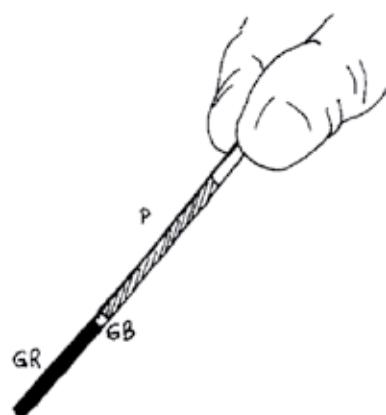
6. Colocar los tubos en las ranuras del cabezal de la centrífuga, el extremo del tubo que se ha taponado con cera deberá apuntar hacia fuera, lejos del centro. Verificar que el número de la ranura corresponda al número de la muestra.



7. Centrifugar a alta velocidad.
8. Al finalizar la centrifugación cada uno de los tubos tendrá en su interior tres capas:

- **En la parte superior**, una columna de plasma (P).
- **A la mitad**, una capa delgada de glóbulos blancos (GB).
- **En la parte inferior y hasta el fondo**, una columna de glóbulos rojos (GR).

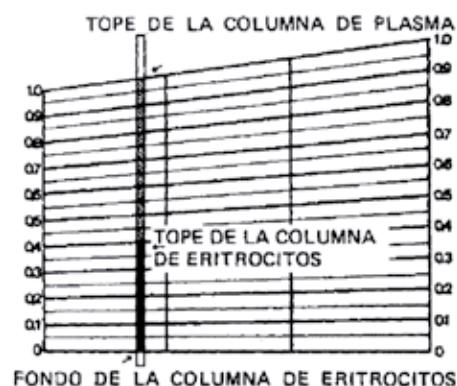
Se deberá trabajar al nivel del tope de la columna de glóbulos rojos.



a. Uso de la escala

- I. Sostener el tubo frente a la escala de manera que el fondo de la columna de los glóbulos rojos quede exactamente al mismo nivel que la línea horizontal correspondiente al 0.
2. Desplazar el tubo a través de la escala hasta que la línea marcada con el número 1,0 quede al nivel del tope de la columna de plasma. Vigilar que el fondo de la columna de los glóbulos rojos continúe sobre la línea 0; también asegurarse que el tubo se encuentre en posición completamente vertical.
3. Leer la línea que pase al nivel del tope de la columna de glóbulos rojos, que indicará el hematocrito de éstos: En la figura es 0,4 que se notifica como porcentaje igual a 40% (ver figura).

Las líneas finas no remarcadas de la escala corresponden a intervalos de 0,05.



b. Cálculo del hematocrito sin usar escala

- I. Medir en mm la longitud de toda la columna, desde el tope del plasma hasta la base de la columna.
2. Medir en mm la longitud de la columna de eritrocitos.
3. Usar la siguiente fórmula:

$$Hcto = \frac{\text{Longitud de la columna de eritrocitos}}{\text{Longitud de toda la columna}}$$



4. Multiplicar el resultado por 100 para expresarlo en porcentaje.

VALORES NORMALES DE HEMATOCRITO POR GRUPOS DE EDAD



Grupos de edad	Hematocrito
Hombres	40 - 50%
Mujeres	37 - 42%
Niños de 5 años	38 - 44%
Lactantes 3 meses	35 - 40%
Recién nacidos	50 - 58%

HEMOGLOBINA: CÁLCULO DE LA CIANOMETAHEMOGLOBINA

MÉTODO FOTOMÉTRICO

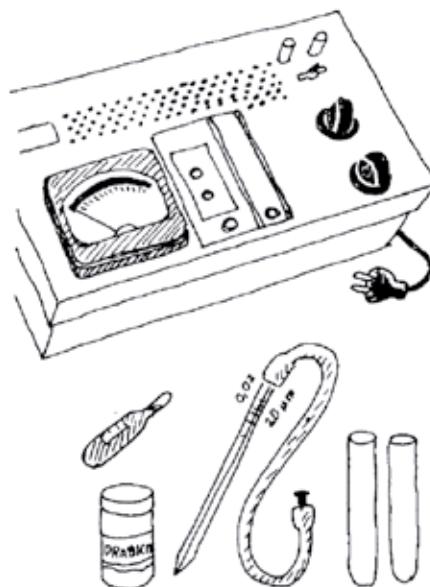
PRINCIPIOS GENERALES

III

- ◆ La **hemoglobina** (Hb) es el pigmento rojo que se encuentra en los eritrocitos. Se compone de hierro. Transporta oxígeno a las células de los tejidos del organismo.
- ◆ Su valor se expresa en **gramos/100 mL**.
- ◆ La sangre se diluye en líquido de Drabkin, que destruye los eritrocitos y convierte la hemoglobina en cianometahemoglobina. Este resultado se examina por medio de un espectrofotómetro o un colorímetro. Su grado de absorbancia es proporcional a la cantidad de hemoglobina que contenga la sangre.
- ◆ El **método fotométrico de la cianometahemoglobina** permite hacer cálculos más precisos de la cantidad de hemoglobina existente.

MATERIALES

- Un espectrofotómetro o colorímetro fotoeléctrico calibrado.
- Una pipeta para sangre (pipeta de Sahli) de 0,02 mL (20 mm 3 o 20 μm) con tubo de goma y boquilla.
- Una pipeta graduada de 5 mL.
- Tubos de ensayo.
- Líquido de Drabkin para dilución (Ver Anexos).
- Solución estandarizada para cianometahemoglobina.



CALIBRACIÓN DEL COLORÍMETRO

1. Elaborar una curva de calibración, antes de usar el colorímetro.
2. Ajustar la concentración de la solución de referencia a la dilución utilizada en este método (250 es el factor de dilución cuando, 0,02 mL de sangre se diluyen con 5 mL del líquido de Drabkin). Por lo que se aplicará la siguiente fórmula:

Concentración de la solución de referencia = *Concentración
ajustada mg/100 mL x 2,5* *g / 1 000 mL*

Ejemplo

Concentración de la solución de referencia = 60 mg / 100 mL
 Entonces el valor de la **concentración ajustada en g / 1 000 mL, será:**
 $60 \times 2,5 = 150 \text{ g / 1000 mL}$
 Convertido en gramos / 100 mL = 15,0g / 100 mL

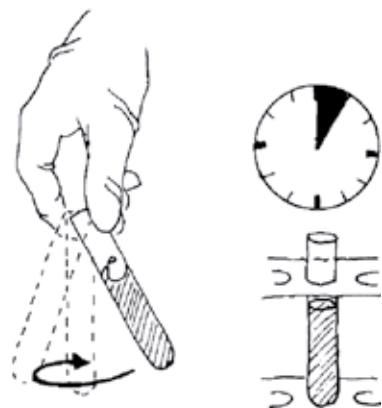
3. Preparar diluciones sucesivas de la solución estandarizada en cuatro tubos, numerarlos del 1 al 4.



En cada tubo depositar lo siguiente:

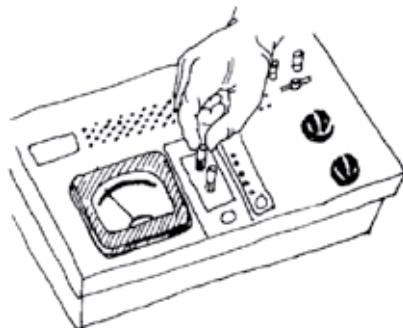
	Tubo			
	1	2	3	4
Solución estandarizada	4,0 mL	2,0mL	1,3mL	1,0 mL
Líquido de Drahkin	-	2,0mL	2,7mL	3,0 mL
Dilución de la solución estandarizada	Sin diluir	1x2	1x3	1x4

- 4.** Mezclar cada tubo y dejar reposar 5 minutos.

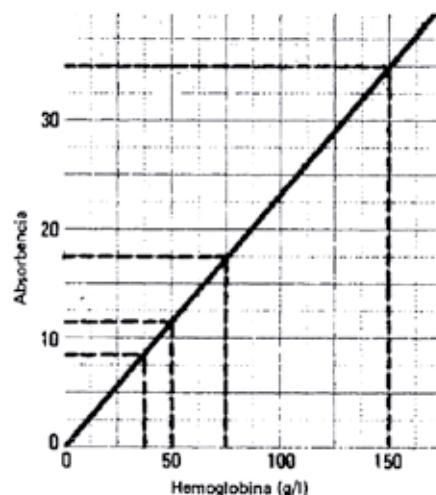


- 5.** Leer las diluciones en el colorímetro:

- Colocar en el colorímetro un filtro verde o poner la longitud de onda en 540 nanómetros (nm).
- Llenar un tubo de ensayo al mismo nivel con líquido de Drabkin y colocarlo en el aparato.
- Poner la aguja del colorímetro en cero.
- Leer en el tablero el contenido de los tubos 1, 2, 3 y 4 usando un tubo de ensayo.



- 6.** Preparar un gráfico trazando las líneas de las soluciones estandarizadas diluidas perpendicularmente a la de sus concentraciones. Se dio como ejemplo la concentración de la solución de referencia calculada en 15 g/100 mL, se tiene entonces:



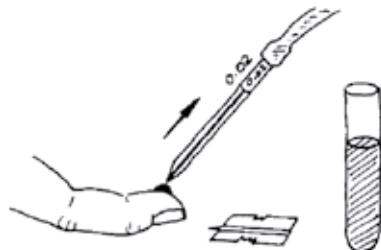
III

Solución estandarizada	Concentración de hemoglobina(g/100 mL)	Absorbancia
Sin diluir	15	35,0
1x2	15/2=7,5	17,5
1x3	15/3=5	11,5
1x4	15/4=3,75	8,5

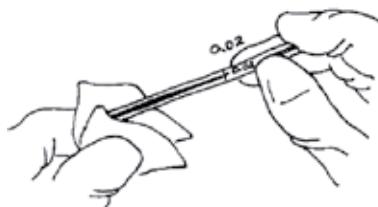


MÉTODO FOTOMÉTRICO DE LA CIANOMETAHEMOGLOBINA

1. Depositar 5 mL de líquido de Drabkin con una pipeta para dilución en un tubo de ensayo.



2. Aspirar sangre venosa o capilar hasta la marca de 0,02 mL de una pipeta de sangre. Si se usa sangre venosa asegurarse que se mezcle adecuadamente con el anticoagulante.

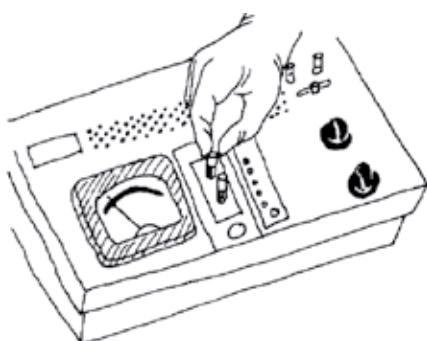
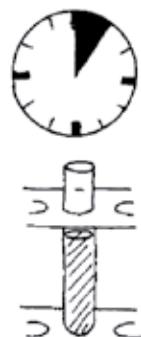


3. Limpiar el exterior de la pipeta y verificar que la sangre continúe en el mismo nivel.



4. Depositar la sangre en el líquido de Drabkin y enjuagar la pipeta varias veces aspirando y expulsando varias veces el líquido en el mismo tubo.

5. Mezclar el contenido del tubo y dejarlo reposar por 5 a 10 minutos para que se produzca la hemólisis.



6. Poner el colorímetro en cero con líquido de Drabkin. Leer en el tablero del colorímetro la absorbancia de la sangre diluida del paciente usando el tubo de ensayo.
7. Anotar la cantidad de gramos/100 mL de hemoglobina en el cuadro preparado con la curva de calibración.
8. Si se forma turbidez en la sangre diluida, centrifugar el líquido antes de hacer la lectura en el tablero del colorímetro.

III

VALORES NORMALES DE HEMOGLOBINA

Grupos de edad	Hemoglobina (gramos/100 mL)
Niños al nacer	13,6 - 19,6
Niños de 1 de nacer	11,3 - 13,0
Niños de 10 - 12 años	11,5 - 14,8
Mujeres no embarazadas	11,5 - 14,5
Hombres adultos	13,0 - 16,0

- ♦ En poblaciones de altura, la hemoglobina se incrementa debido a la hipoxia, por tal razón debe corregirse.
- ♦ De acuerdo con la altitud, sumar el factor de corrección que se muestra en la tabla siguiente.



$$Hb_0 + \text{Factor de corrección}$$

Ejemplo:

Hbo = 11 g/100 mL
 Altitud = 2000 metros sobre el nivel del mar.

De acuerdo con la tabla.

$$11 + 0,8 = 11,8 \text{ g/100 mL}$$

INCREMENTO DE HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO SEGÚN ALTITUD

Altitud	Factor de corrección hemoglobina (g/100 mL)	Factor de corrección hematocrito(%)
Menor a 1 000	0	0
1 000	0,2	0,5
1 500	0,5	1,5
2 000	0,8	2,5
2 500	1,3	4,0
3 000	1,9	6,0
3 500	2,7	8,5
4 000	3,5	11,0
4 500	4,5	14,0

TIEMPO DE SANGRÍA

MÉTODO DE DUKE

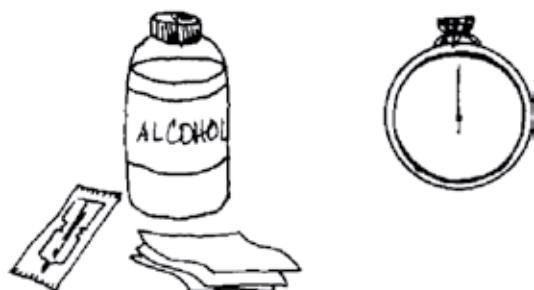
PRINCIPIOS GENERALES

III

- ◆ Con una lanceta hacer un corte pequeño en el lóbulo de la oreja. La sangre sale por este corte y se mide el tiempo que transcurre hasta que se detiene el sangrado. El corte no debe ser hecho sobre venas visibles, ni en lesiones de piel.
- ◆ Este examen se usa para los siguientes casos:
 - Para diagnosticar enfermedades hemorrágicas.
 - Antes de realizar operaciones quirúrgicas.
 - Antes de realizar una punción en el hígado o el bazo.

MATERIALES

- Una lanceta estéril.
- Alcohol al 70%.
- Filtro de papel o papel secante.
- Un reloj con segundero o un cronómetro.

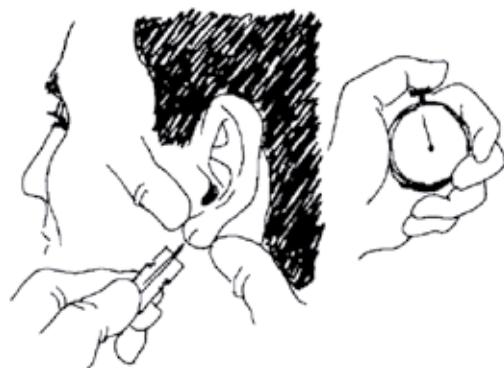


MÉTODO

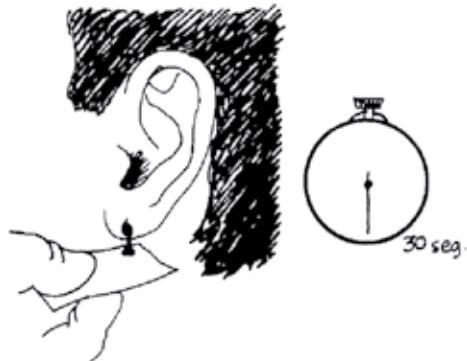
- I. Limpiar con suavidad el lóbulo de la oreja utilizando una pieza de algodón con alcohol al 70%. No frotar. Dejar secar.



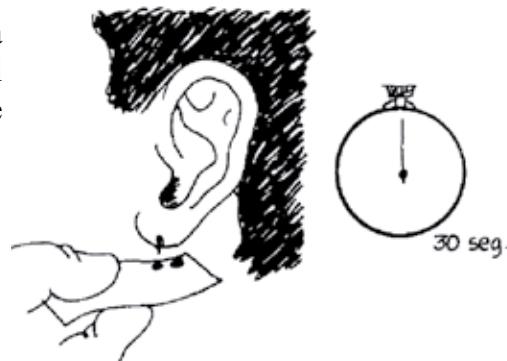
2. Hacer un pequeño corte de 3 mm de profundidad con la lanceta, en el borde inferior del lóbulo de la oreja. **A la vez, poner a funcionar su reloj con segundero o cronómetro.**



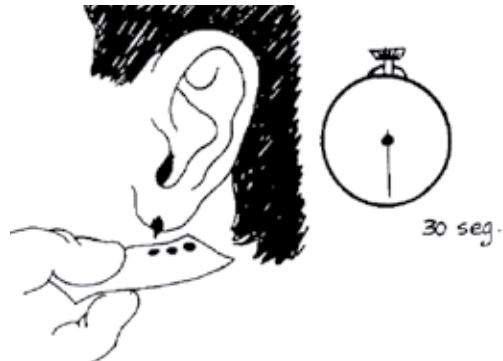
3. Dejar que la sangre salga libremente. No exprimir el lóbulo de la oreja.



4. **Recoger la primera gota** en una esquina del papel del filtro o papel secante. No tocar la piel con el papel.



5. Esperar 30 segundos y recoger la segunda gota de sangre en el papel secante, pero un poco más adelante de la primera gota.

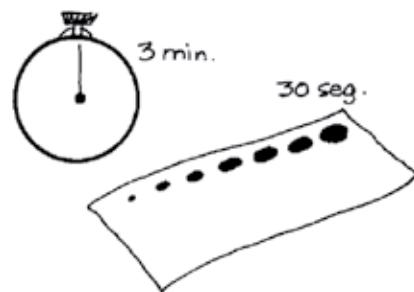


6. Recoger las siguientes gotas de sangre una cada 30 segundos.

Las gotas serán cada vez más pequeñas. **Cuando las gotas dejan de salir y el papel secante ya no absorba sangre, detener el funcionamiento del reloj o del cronómetro.**

7. Anotar el tiempo transcurrido, según el reloj o el cronómetro.

Otro método consiste en contar el número de gotas recogidas en el papel secante y multiplicarla por 30 segundos.



Ejemplo:

III

Si se han recogido siete gotas. El tiempo de sangrado es 7×30 segundos = 210 segundos, convertidos en minutos es $3 \frac{1}{2}$ minutos.

RESULTADOS

- ◆ El tiempo de sangría normal aplicando el método de Duke es de 1 - 5 minutos.
- ◆ Comunicar el resultado indicando el valor normal que corresponde al método usado (método de Duke).
- ◆ Si el tiempo se prolonga el paciente requiere un estudio de plaquetas.

TIEMPO DE COAGULACIÓN DE LA SANGRE COMPLETA



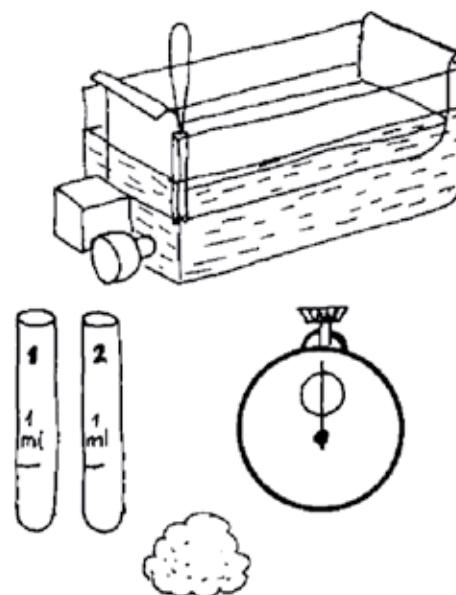
MÉTODO DE LEE Y WHITE

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ Este examen es útil para evaluar la eficacia del mecanismo de coagulación.
- ◆ Su utilidad es limitada, pues **detecta deficiencias** graves de la coagulación y no detecta las deficiencias leves de la coagulación.
- ◆ Se requiere de sangre venosa en un tubo de ensayo. Se toma nota del tiempo que requiere la sangre para coagularse. El coágulo formado es una masa sólida de color sangre.

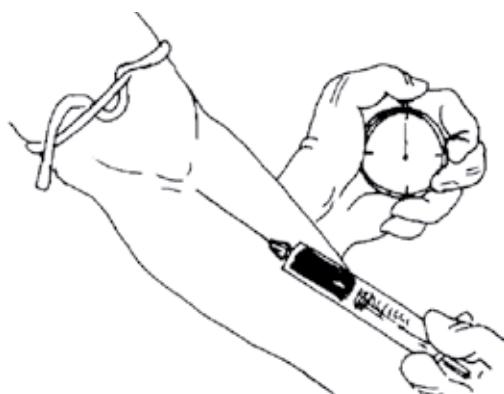
MATERIALES

- Dos tubos de ensayo de 75 x 10 mm marcados para el nivel de 1 ml.
- Un cronómetro.
- Un baño maría a 37 °C.
- Material para la obtención de sangre venosa.
- Algodón no absorbente.



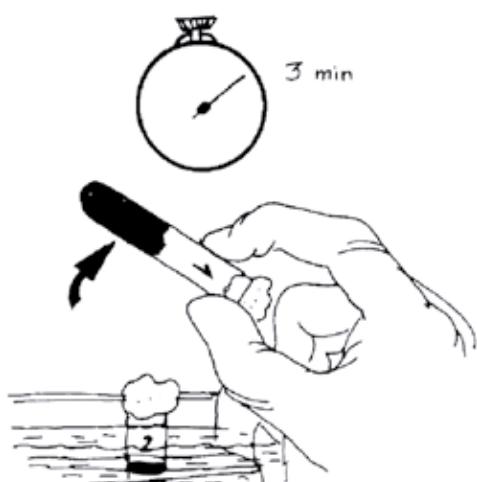
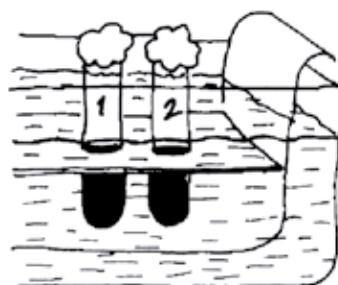
MÉTODO

- I. Obtener sangre venosa por punción.



3. Llenar con esta sangre cada uno de los dos tubos de ensayo hasta la marca de 1 mL. Taponar ambos tubos con algodón no absorbente.
4. Colocar los tubos en baño maría a 37°C.

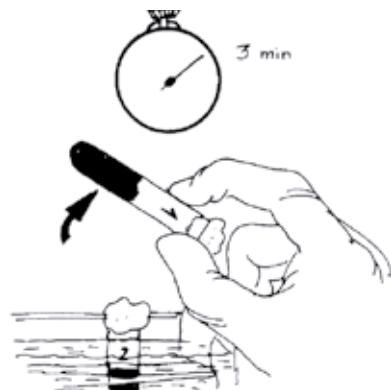
- 2.** Poner a funcionar el cronómetro tan pronto como la sangre empiece a entrar en la jeringa. Extraer 2,5 ml.



- 5.** **Después de 3 minutos sacar el primer tubo del baño maría.** Inclinar el tubo hasta un plano de 45° para observar si la sangre se ha coagulado. **Repetir el paso 5 para el segundo tubo.**

III

6. Si la sangre no ha coagulado, colocar los tubos otra vez en el baño maría y **examinarlos cada 30 segundos** hasta que se observe la formación del coágulo. **La formación del coágulo** corresponde al momento en que resulta posible invertir cada tubo sin que se derrame su contenido.



¡ATENCIÓN!

- ◆ Al observar la formación del coágulo, detener el cronómetro y anotar separadamente el tiempo de coagulación requerido por cada tubo.

RESULTADOS

- ◆ El resultado definitivo del tiempo de coagulación es el promedio de los dos resultados.
- ◆ **Ejemplo**
 - El primer tubo necesitó 5 minutos, el segundo tubo necesitó 7 minutos.
 - El resultado final es el promedio de ambos resultados:
$$(5 + 7) / 2 = 6 \text{ minutos}$$
- ◆ Las cifras normales para el método de Lee y White son de 5 - 12 minutos.

TIPIFICACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS Y RH

PRINCIPIOS GENERALES



- ◆ Los grupos sanguíneos se heredan según las leyes genéticas. Son cuatro tipos y reciben el nombre de sistema de grupos sanguíneos ABO.
- ◆ En toda transfusión sanguínea se deberá determinar con mucho cuidado los grupos sanguíneos de cada donador y cada receptor. El paciente solo recibirá sangre de su propio grupo.
- ◆ La tipificación de los grupos sanguíneos se realiza:
 - **Probando los glóbulos rojos** (para reconocer sus antígenos) con sueros clasificadores conocidos, anti A, anti B, y anti AB.
 - **Probando el suero** (para identificar sus anticuerpos) con glóbulos rojos de ensayo conocido, perteneciente a los grupos A, B y O.
- ◆ En los hospitales pequeños y en caso de urgencia, puede ser que el paciente deba recibir sangre de un grupo distinto al suyo, según las siguientes reglas:

El paciente que tenga:

- **Grupo sanguíneo A:** Deberá recibir sangre del grupo A; si no se dispone de ella, usar sangre del grupo O.
- **Grupo sanguíneo B:** Deberá recibir sangre del grupo B; si no se dispone de ella, usar sangre del grupo O.

- **Grupo sanguíneo AB:** Deberá recibir sangre del grupo AB; si no se dispone de ella, usar sangre del grupo A, del grupo B o del grupo O (**en este orden**).
- **Grupo sanguíneo O:** Sólo podrá recibir del grupo O.



Grupo	Antígeno del glóbulo rojo	Anticuerpo del suero
O	O	Anti A, anti B
A	A	Anti B
B	B	Anti A
AB	AB	Ninguno

CLASIFICACIÓN DE LOS GRUPOS A. B. Y O POR MEDIO DE ANTISUEROS

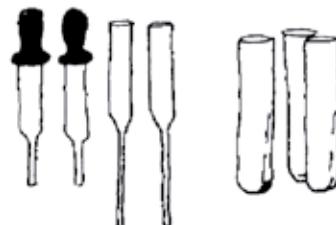
PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ Los eritrocitos del paciente se enfrentan con tres antisueros: anti A, anti B y anti AB.
- ◆ Los antisueros se conservarán según las instrucciones del fabricante.
- ◆ No es conveniente usar un antisuero si se nota turbio, es probable que se encuentre contaminado por bacterias, no se deberá usar.
- ◆ El estudio se puede efectuar en un **portaobjetos**, o bien en un **tubo de ensayo** (especialmente en los casos dudosos).

MÉTODO DEL PORTAOBJETOS

MATERIALES

- Una pipeta gotera, calibrada para suministrar 20 gotas por mL.
- Pipetas Pasteur con perillas de goma (chupón).
- Una centrífuga.
- Solución de cloruro de sodio (ver Anexos).
- Tubos de ensayo de 50 x 11 mm, para el lavado de los eritrocitos.
- Eritrocitos testigos de los grupos A, B, y O.
- Antisueros: anti A, anti B y anti AB.
- Sangre capilar o venosa anticoagulada o coagulada.

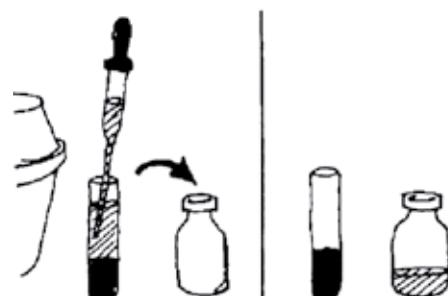


III

PROCESAMIENTO DE LA SANGRE OBTENIDA

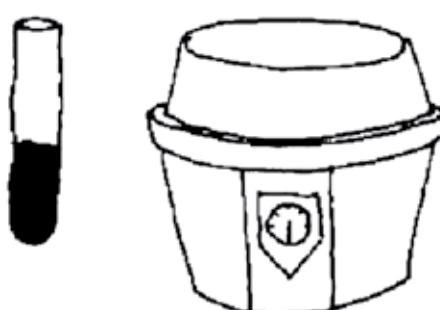
SANGRE VENOSA ANTICOAGULADA CON EDTA (ver Anexos)

1. Centrifugar la sangre por 5 minutos a 2500 RPM.
2. Aspirar el plasma con una pipeta Pasteur. Conservar este plasma para clasificar grupos sanguíneos por medio de eritrocitos estandarizados.

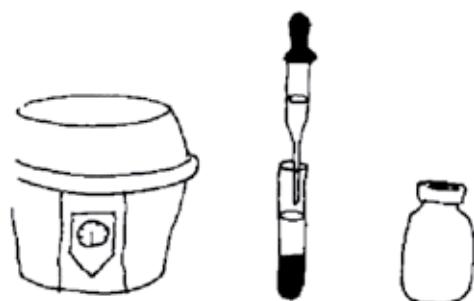


SANGRE VENOSA COAGULADA

1. Obtener 5 - 10 mL de sangre en un tubo de ensayo.
2. Dejar coagular y centrifugarla durante 5 minutos a 2 500 RPM.



- 3.** Aspirar el suero con una pipeta Pasteur. Conservar el suero para hacer clasificaciones de grupos sanguíneos por medio de eritrocitos estandarizados.



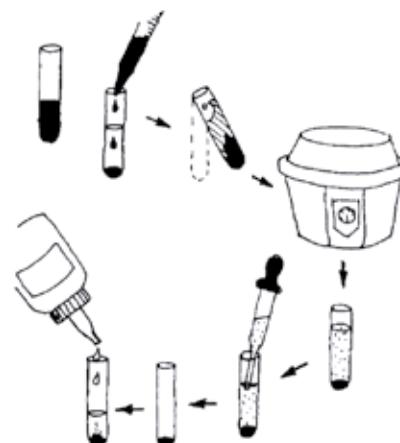
SANGRE CAPILAR

- ♦ Este método es útil en niños.
- 1.** Depositar tres gotas de solución de citrato trisódico en concentración de 38 g/L (ver Anexos).
- 2.** Colocar en el mismo tubo, inmediatamente diez gotas de sangre. Esta sangre no se coagulará.



LAVADO DEL SEDIMENTO DE ERITROCITOS: SUSPENSIÓN DE GLÓBULOS ROJOS AL 10%

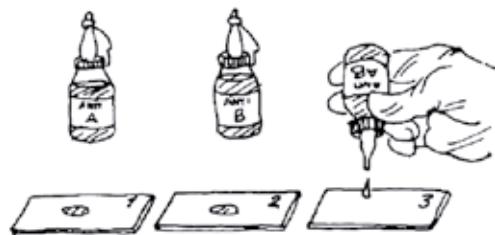
- 1.** Mezclar cinco gotas del sedimento de eritrocitos y 2 mL de solución de cloruro de sodio.
- 2.** Centrifugar. Aspirar y eliminar el líquido sobrenadante.
- 3.** Añadir nuevamente 2 mL de solución de cloruro de sodio.
- 4.** Agitar el tubo suavemente. De este modo se ha obtenido una suspensión de glóbulos rojos al 10%.



PROCEDIMIENTO

1. Preparar y numerar tres portaobjetos:

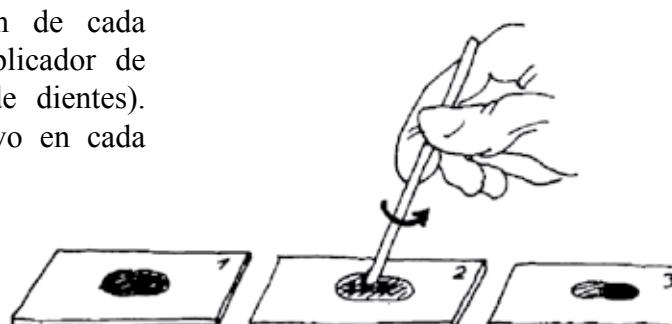
- Portaobjetos 1: Agregar una gota de anti A.
- Portaobjetos 2: Agregar una gota de anti B.
- Portaobjetos 3: Agregar una gota de anti AB.



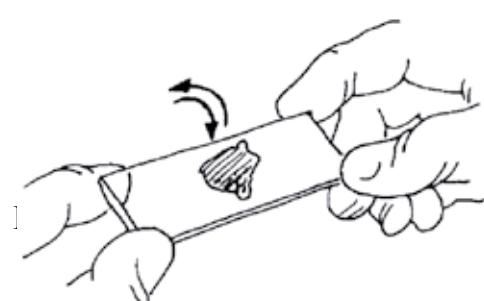
III



- 2.** Agregar a cada portaobjetos una gota de la suspensión preparada de glóbulos rojos al 10%.



- 3.** Mezclar la preparación de cada portaobjetos con un aplicador de madera (o un palito de dientes). Usar un aplicador nuevo en cada portaobjetos.



- 4.** Hacer oscilar el portaobjetos hacia delante y hacia atrás para terminar de hacer la mezcla.

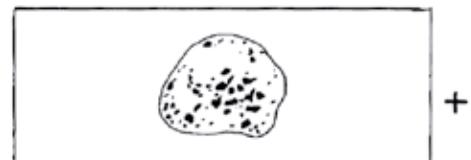
LECTURA

- ◆ La lectura se debe realizar antes de que transcurran 2 minutos, para evitar una falsa aglutinación.



- Aglutinación positiva (+)

Se forman pequeños conglomerados de glóbulos rojos que flotan en un líquido claro. Esta aglutinación deberá ocurrir en menos de 2 minutos.



- Reacción negativa (-)

Los glóbulos rojos no se aglutinan.



RESULTADOS

- ◆ El resultado final se identifica haciendo la lectura de los tres portaobjetos.

Portaojetos Anti A	Portaojetos Anti B	Portaobjetos 3 Anti AB	Grupo sanguíneo del paciente
+	-	+	GrupopA
-	+	+	Grupo B
+	+	+	Grupo AB
-	-	-	Grupo O

MÉTODO DEL TUBO DE ENSAYO

- ◆ Se emplea el método del tubo de ensayo en todos los casos dudosos de identificación del grupo sanguíneo, cuando se ha usado el método del portaobjetos.

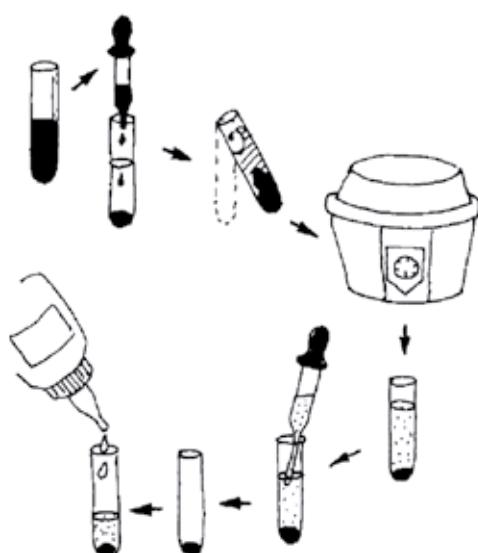
MATERIALES



- Una pipeta gotera, calibrada para suministrar 20 gotas por mL.
- Pipetas Pasteur con perillas de goma (chupón).
- Una centrífuga.
- Solución de cloruro de sodio (ver Anexos).
- Tubos de ensayo de 50 x 11 mm, para el lavado de los eritrocitos.
- Eritrocitos testigos de los grupos A, B, y O.
- Antisueros: anti A, anti B y anti AB.
- Tubos de ensayo pequeños, con una gradilla.

LAVADO DEL SEDIMENTO DE ERITROCITOS: SUSPENSIÓN DE GLÓBULOS ROJOS AL 2%

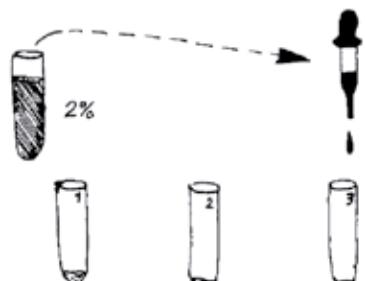
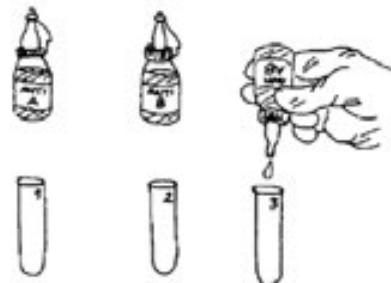
1. Mezclar dos gotas del sedimento de eritrocitos más 4 mL de la solución de cloruro de sodio.
2. Centrifugar. Aspirar y eliminar el líquido sobrenadante.
3. Agregar 4 mL de solución de cloruro de sodio.
4. Agitar el tubo suavemente. El resultado es una suspensión de eritrocitos al 2%.



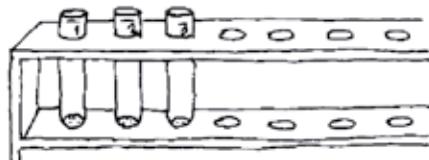
PROCEDIMIENTO

1. Preparar y numerar tres tubos de ensayo:

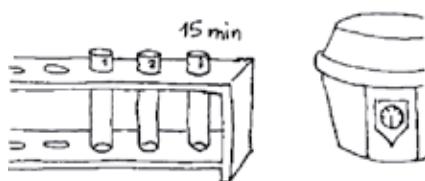
- Tubo 1: Agregar una gota de anti A.
- Tubo 2: Agregar una gota de anti B.
- Tubo 3: Agregar una gota de anti AB.



2. Agregar a cada tubo una gota de la suspensión de eritrocitos al 2% ya preparada.



3. Si no cuenta con una centrífuga, dejar reposar los tubos durante una hora a temperatura ambiente



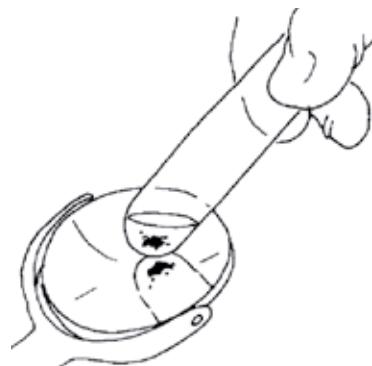
4. Si se cuenta con una centrífuga, dejar reposar los tubos por 15 minutos a temperatura ambiente.

Luego centrifugar, por un minuto a baja velocidad.

LECTURA

1. Sacudir ligeramente el fondo del tubo de ensayo y luego examinar el sedimento de glóbulos rojos.

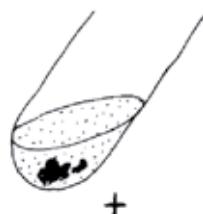
2. Usar para la observación de los resultados el espejo cóncavo del microscopio



III

- **Aglutinación positiva (+)**

Los glóbulos rojos forman uno o más conglomerados y se observa un líquido sobrenadante claro.



- **Reacción negativa (-)**

Los glóbulos rojos vuelven a formar una suspensión fácilmente, sin aglutinación visible.

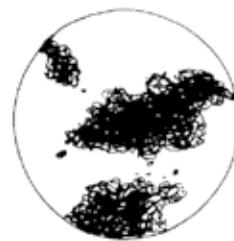


3. Se puede usar también, para la observación de los resultados, el microscopio

Si ocurre una **aglutinación débil** colocar una gota de suero de los eritrocitos y examinar con el microscopio, usando el objetivo 10x.

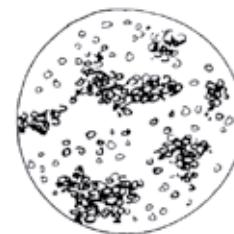
- **Aglutinación evidente**

Se observa grandes conglomerados de glóbulos rojos sobre un fondo claro.



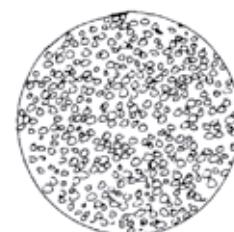
- **Aglutinación débil**

Se observan conglomerados pequeños de glóbulos rojos y algunos glóbulos rojos sueltos en el campo microscópico.

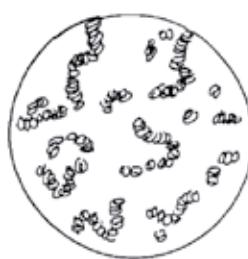


- **No ocurre aglutinación**

Todos los glóbulos rojos se encuentran sueltos.



4. Si los glóbulos rojos no aglutan y forman "**columnas de moneda**", añadir dos gotas de solución de cloruro de sodio a la gota de la mezcla de glóbulos rojos que se encuentra en el portaobjetos. Examinar con el microscopio si existe **aglutinación positiva** los conglomerados de glóbulos blancos conservará su forma y si es negativa, la "columna de monedas" se dispersará.



CLASIFICACIÓN DEL GRUPO RHESUS (Rh)

PRINCIPIOS GENERALES

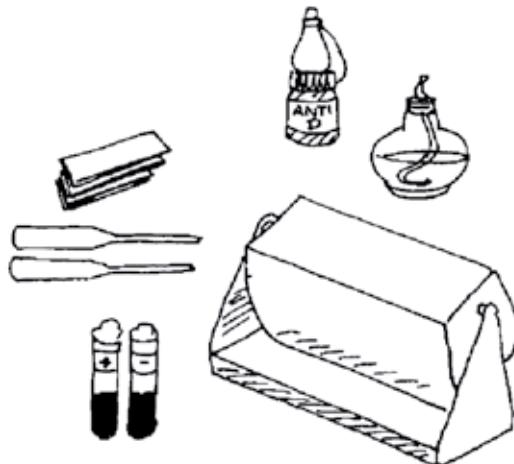
- ◆ Para la determinación del grupo Rhesus (Rh), se hace una prueba que permite detectar el antígeno D, empleando el suero anti D.
- ◆ Se dice que los individuos son **Rh positivos**, cuando son portadores del antígeno D.
- ◆ Son **Rh negativos**, los individuos que carecen del antígeno D.



MÉTODO DEL PORTAOBJETOS

MATERIALES

- Un portaobjetos.
- Una pipeta Pasteur.
- Un calentador eléctrico o mechero de alcohol.
- Suero anti D (si es comercial, seguir las instrucciones que indique el fabricante).
- Muestra de sangre a examinar.
- Muestra testigo de sangre Rh positivo.
- Muestra testigo de sangre Rh negativo.

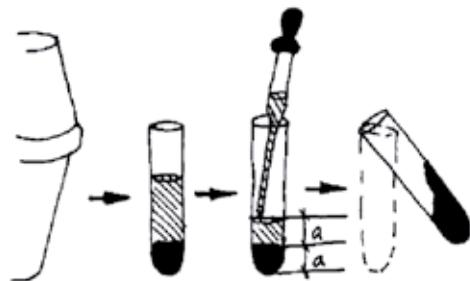


PROCESAMIENTO DE LA SANGRE OBTENIDA

- ◆ Preparar una suspensión de eritrocitos al 50% en su propio suero o plasma, de la siguiente manera:

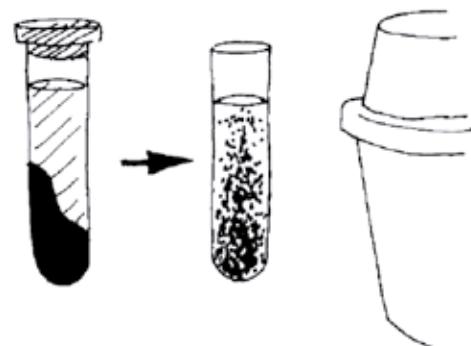
SANGRE CON ANTICOAGULANTE (EDTA)

1. Centrifugar 2,5 mL de sangre durante 5 minutos a alta velocidad.
2. Verificar que el volumen del sedimento de eritrocitos sea igual al volumen del plasma sobrenadante. Si el plasma es mayor aspirar el excedente con la pipeta hasta que ambos volúmenes sean iguales.
3. Mezclar el plasma y los eritrocitos con suavidad.



SANGRE COAGULADA

1. Romper el coágulo con una pipeta para dispersar los eritrocitos.
2. Trasladar una porción de eritrocitos sueltos, acompañados de suero, a un tubo de centrifugación.
3. Centrifugar por 5 minutos a alta velocidad.
4. Aspirar con una pipeta el exceso de suero hasta que el volumen de este y el de los eritrocitos sean iguales.
5. Mezclar el suero y los eritrocitos con suavidad.



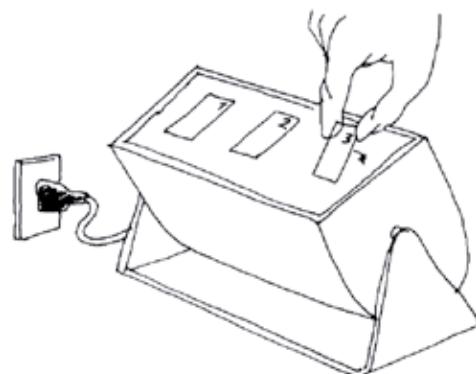
- 6.** Verificar la presencia de eritrocitos sueltos, para lo cual se extiende una gota de la suspensión mezclada en un portaobjetos limpio y se examina con el microscopio a 10x.

Si contiene conglomerados de eritrocitos desechar esta suspensión y preparar otra, fresca.

MÉTODO

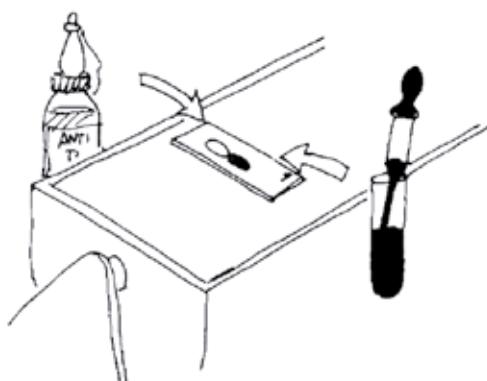


- 1.** Encender el calentador eléctrico, cuya temperatura deberá ser de 40 °C en la superficie. Colocar los portaobjetos numerados sobre el calentador y dejarlos por 5 minutos.

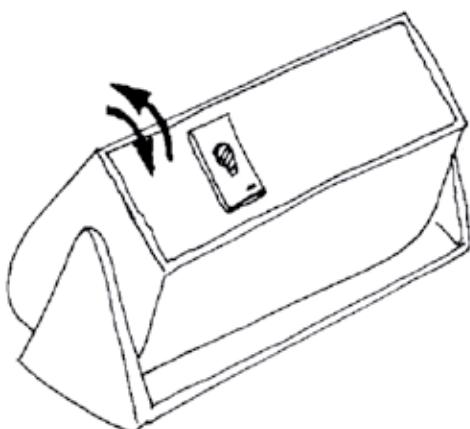


- 2.** Si no se dispone de un calentador eléctrico calentar los portaobjetos sobre la llama de un mechero de alcohol antes de iniciar la prueba. Probar la temperatura sobre el dorso de la mano; el calor deberá ser soportable.

- 3.** Depositar en el portaobjetos una gota de la mezcla de eritrocitos y del suero que se va a examinar más gota de suero anti D.



4. Mezclar empleando un aplicador, un palito de dientes o el extremo redondo de un tubo de ensayo pequeño.

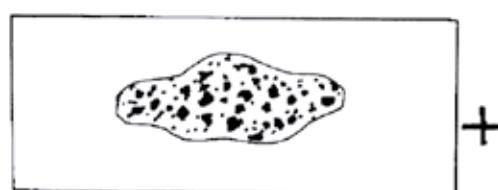


5. Continuar la mezcla haciendo oscilar el calentador hacia delante y hacia atrás.

RESULTADOS

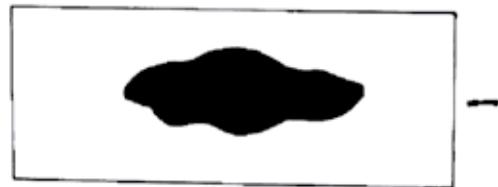
♦ Rh positivo

En el centro y la periferia de la mezcla se observa claramente un gran número de pequeñas **aglutinaciones** de eritrocitos. Estas aglutinaciones **se deberán formar en menos de 3 minutos**.



♦ Rh negativo

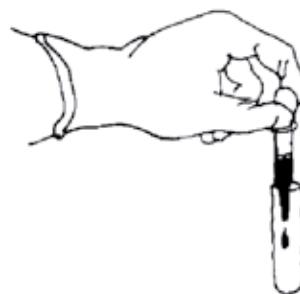
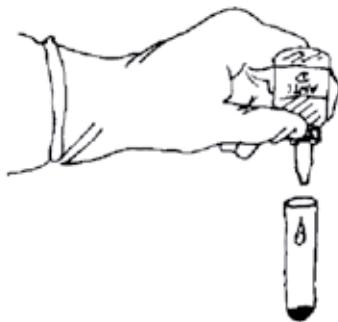
No se observa aglutinaciones



MÉTODO DEL TUBO DE ENSAYO

MÉTODO

1. Preparar una suspensión de eritrocitos al 2% en su propio suero o plasma. Ajustarlo para 2%.



III

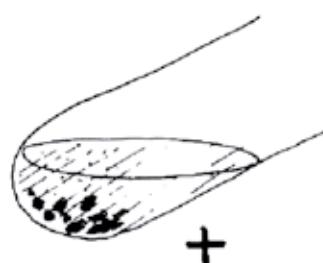
2. Colocar en un tubo de ensayo 1 gota de la suspensión de eritrocitos al 2 % más una gota de suero anti D.
3. Colocar el tubo a 37 °C en un baño maría o una incubadora durante 60 minutos.

RESULTADOS

- ♦ Examinar el líquido que se encuentra en el fondo del tubo de ensayo, colocando el tubo en posición casi horizontal, sobre una superficie iluminada.

- Rh positivo

Se observa pequeñas aglutinaciones de eritrocitos en un líquido claro.



- **Rh negativo**

Los eritrocitos permanecen suspendidos y no se observan aglutinaciones.



 **iATENCIÓN!**

- ◆ En caso de duda, calentar un portaobjetos, aspirar una gota de sedimento de eritrocitos con una pipeta Pasteur y preparar un frotis. Examinarlo con el microscopio a 10x.
- ◆ Desechar el suero anti D contaminado, si está turbio y blanquecino.
- ◆ Frecuentemente se producen resultados falsos negativos porque los tubos se han tratado con movimientos bruscos
- ◆ Se debe leer las instrucciones que figuran en las etiquetas de los frascos para usar estos antisueros. Algunos sueros anti D se elaboran para usarlos únicamente con el método del tubo de ensayo o el método del portaobjetos.
- ◆ Es difícil identificar el grupo al que pertenece si la sangre ha permanecido más de 2 días en la refrigeradora.
- ◆ La sangre recogida en un recipiente con citrato de sodio solo se podrá determinar por el método del tubo de ensayo.

COMPATIBILIDAD SANGUÍNEA

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ Esta prueba llamada también "**Prueba cruzada**". Consiste, en determinar si el suero del paciente contiene anticuerpos que aglutinen los eritrocitos del donador.

III

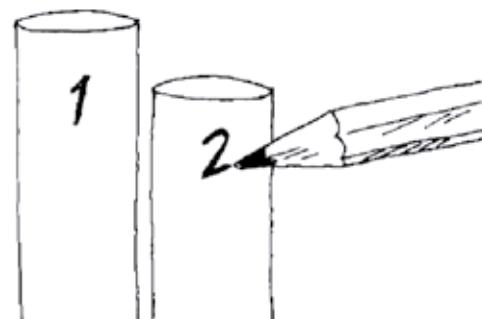
MATERIALES

- Suero del paciente.
- Suspensión al 5% de eritrocitos.
- Lavados del donador.
- Albúmina bovina al 20%.
- Baño María o incubadora a 37 °C.
- Una centrífuga.
- Pipetas Pasteur.



MÉTODO

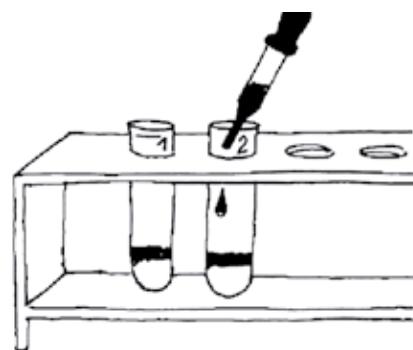
1. Preparar una suspensión al 5% de eritrocitos lavados del donador.



2. Numerar dos tubos de ensayo: tubo 1 y tubo 2.



3. Colocar en cada tubo numerado dos gotas de suero fresco del receptor y 2 gotas de la suspensión al 5% de eritrocitos lavados del donador.

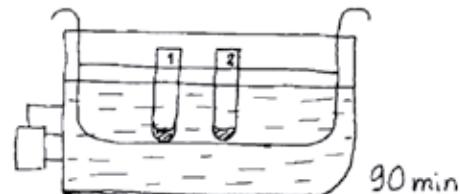


4. Mezclar los eritrocitos y el suero con suavidad, golpeando el fondo de cada tubo.



5. Colocar los tubos en un baño María o una incubadora a 37 °C durante 90 minutos.

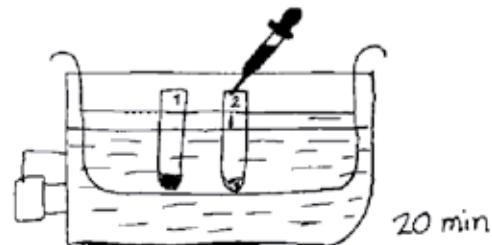
En caso de urgencia es probable que no se pueda incubar los tubos durante el tiempo necesario. **Si se cuenta con menos de 45 minutos, examinar el tubo 1:**



- Centrifugar el tubo 1 a baja velocidad.
- Examinar con el microscopio empleando el objetivo de 10x el sedimento de los eritrocitos.

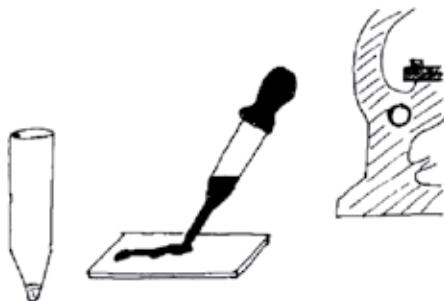
Si no existe aglutinación se puede aceptar la sangre para el paciente, pero se debe escribir la siguiente nota en la etiqueta de la bolsa de sangre "**Sangre compatible según estudio urgente**".

6. Añadir dos gotas de albúmina bovina al 2% al tubo 2. No mezclar, incubar durante otros 20 - 30 minutos.



RESULTADOS

- ♦ Observar con el microscopio el sedimento de eritrocitos de cada tubo; para lo cual:
 - Aspirar con una pipeta Pasteur el sedimento de eritrocitos. Evitar agitarlo demasiado.
 - Extender el sedimento en portaobjetos limpios.
 - Examinar con el microscopio empleando el objetivo 10x, para determinar si existe aglutinación.
- ♦ **Si no hay aglutinación:** La sangre es compatible y se puede administrar sin riesgos al paciente.
- ♦ **Si hay aglutinación:** La sangre es incompatible y no se debe administrar.



III

VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN DE LOS ERITROCITOS

PRINCIPIOS GENERALES



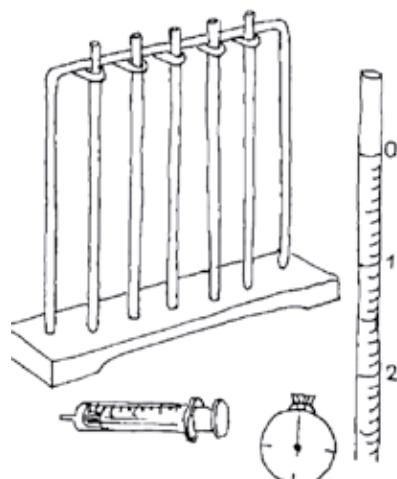
- ◆ La prueba de velocidad de sedimentación de los eritrocitos (VSE) se basa en el principio que en la sangre, a la que se ha añadido un anticoagulante, los eritrocitos (glóbulos rojos) sedimentan hasta formar una columna compacta en la parte inferior del tubo o recipiente que se mantiene en posición vertical.
- ◆ La velocidad de este proceso depende de varios factores, siendo los principales:
 - La concentración del fibrinógeno en el plasma.
 - La concentración de globulina alfa y beta en el plasma.
 - La diferencia entre la densidad del plasma y la masa de glóbulos.
- ◆ Se han descrito un gran número de métodos para su determinación. Estos métodos se diferencian por el anticoagulante empleado, las dimensiones del tubo, el volumen de sangre y el tiempo utilizado.
- ◆ Esta prueba es ampliamente utilizada en el diagnóstico y pronóstico de diversos estados patológicos como:
 - Lupus eritematoso.
 - Artritis reumatoide.
 - Espondilitis anquilosante, etc.
- ◆ La medición de VSE se deberá efectuar en menos de dos horas después de que se haya obtenido la sangre.
- ◆ La VSE aumenta con la temperatura, a partir de los 23 °C. En climas cálidos se debe vigilar que los tubos empleados para VSE no se coloquen en un lugar caluroso del laboratorio.

MÉTODOS

MÉTODO DE WESTERGREN

MATERIALES

- ◆ Un tubo de Westergren de 300 mm de longitud y 2,5 mm de diámetro interior. Graduado de 0 a 200 mm.
- ◆ Anticoagulante: citrato trisódico en proporción de 38g/L (3,8%).
- ◆ Una jeringa de 5 mL.
- ◆ Un cronómetro o reloj.

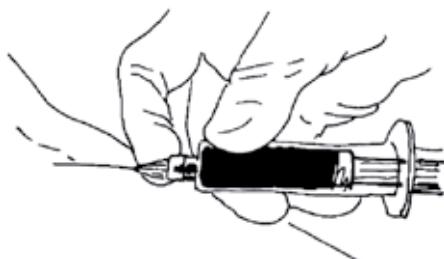


MÉTODO

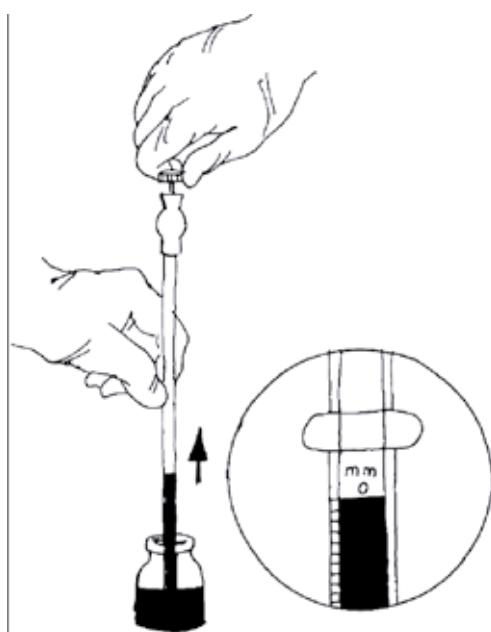
1. Depositar en un tubo o frasco 0,4 mL de solución de citrato trisódico.



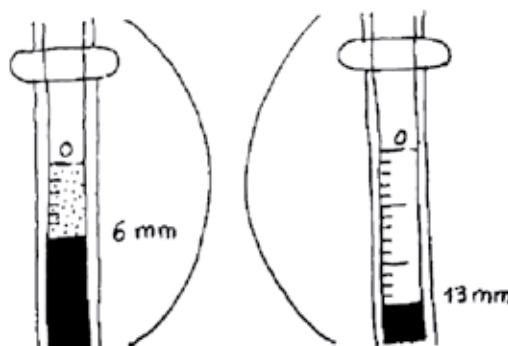
2. Extraer 2 mL de sangre venosa.



- 3.** Depositar 1,6 mL de la sangre venosa en el frasco que contiene la solución de citrato trisódico.



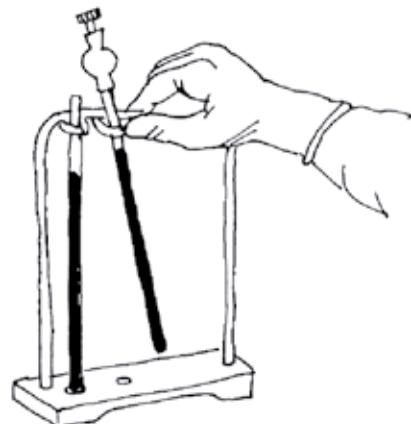
- 6.** Colocar el tubo en la gradilla de Westergren, en posición completamente vertical.



- 4.** Agitar con suavidad.

- 5.** Aspirar la sangre del frasco, y depositarla en el tubo de Westergren hasta la línea 0.

Evitar la formación de burbujas en el interior del tubo.



- 7.** Esperar durante 1 hora exacta (usar su cronómetro o reloj) y a continuación, medir la altura de la columna del plasma según la graduación en mm (milímetros) del tubo a partir de la línea 0, del extremo superior.

RESULTADOS

- ◆ Se expresa en VSE...mm de altura.
- ◆ Los valores normales de Westergren son:

Sexo	Una hora	Dos horas
Hombre	3 - 5 mm	7 - 15 mm
Mujer	4 - 7 mm	12 - 17 mm

III

- ◆ **Ventajas del método**

Este método es el más sensible de la VSE para el estudio de enfermedades crónicas.

- ◆ **Desventajas del método**

Requiere mayor cantidad de sangre que otros métodos.

MÉTODO DE WINTROBE

MATERIALES

- Un tubo de hematocrito Wintrobe.
- Anticoagulante para 5 mL de sangre venosa.
- Una jeringa.
- Un cronómetro o reloj.

MÉTODO

1. **Preparar el anticoagulante;** mezclando 6 mg de oxalato de amonio más 4 mg de oxalato de potasio.
2. Colocar 1 mL de sangre venosa en un tubo o frasco conteniendo solo 2 mg del anticoagulante.



- 3.** Mezclar bien por inversión suave.
- 4.** Aspirar la sangre del tubo o frasco y depositarla en el tubo de Wintrobe. Evitar la formación de burbujas en el interior del tubo.
- 5.** Colocar el tubo en la gradilla de Wintrobe, en posición completamente vertical.
- 6.** Esperar durante una hora exacta (usar su cronómetro o reloj). A continuación, medir la altura de la columna del plasma según la graduación en milímetros (rnm) del tubo a partir del extremo superior.

RESULTADOS

- ♦ Se expresan en VSE...mm de altura.
- ♦ Los valores normales de Wintrobe son:

Sexo	Límite	Promedio
Hombre	0-7 mm	4 mm
Mujer	0-15 mm	10 mm
Niños	1-15 mm	5 mm

- ♦ Ventajas del método

Es sencillo, requiere pequeña cantidad de sangre.

Con la misma preparación, una vez que se ha determinado la VSE, puede calcularse el valor del hematocrito y pueden hacerse frotis de la capa de células blancas.

- ♦ Desventajas del método

El exceso de mezcla de oxalato en el método de Wintrobe puede hacer que la lectura de VSE aparezca baja, debido a que el oxalato retarda la sedimentación.

CAPÍTULO

IV

ESPUTO

OBTENCIÓN DE ESPUTO	177	CULTIVO DE BK.....	191
Principios generales	177	Principios generales	191
RECIPIENTES PARA RECOLECTAR		Materiales	192
MUESTRAS DE ESPUTO	177	Métodos.....	193
PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN.....	178	Método para muestras obtenidas asépticamente..	193
Expectoración espontánea	178	Método para muestras contaminadas	194
Expectoración inducida	179	Lectura.....	198
EXAMEN DIRECTO DEL BACILO DE LA		Informe de resultados del cultivo.....	199
TUBERCULOSIS	180	Preparación de medios de cultivo	199
BACILOSCOPIA.....	180	PRUEBA DE SENSIBILIDAD DE <i>M.tuberculosis</i>	
Principios generales	180	A LOS MEDICAMENTOS ANTITUBERCULOSOS...204	
Preparación del extendido.....	180	Principios generales	204
Coloración del extendido:			
Técnica de Ziehl Neelsen	184		
Observación microscópica de la muestra			
Coloreada	187		
Método de lectura.....	188		
Informe de resultados de baciloscopía.....	189		
Registro diario de baciloscopía.....	190		

OBTENCIÓN DE ESPUTO

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ **Una buena muestra**

Es aquella que proviene del árbol bronquial, y se obtiene después de un esfuerzo de tos. Sin embargo, una muestra con apariencia de saliva puede ser positiva.

- ◆ **Muestra suficiente**

Es aquella con un volumen aproximado a 5 a 10 mL.

- ◆ **La hora de obtención puede ser a cualquier hora del día**, de preferencia será el primer esputo de la mañana y siempre antes del desayuno.

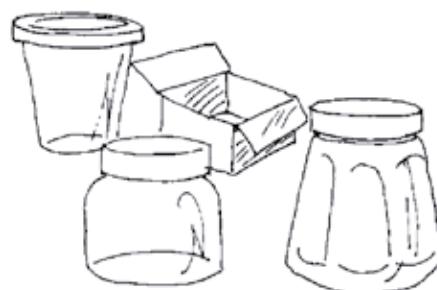
- ◆ El ambiente donde se obtiene la muestra debe tener **buena ventilación y debe prohibirse la presencia de otras personas**, al momento de la obtención de la muestra.

IV

RECIPIENTES PARA RECOLECTAR MUESTRAS DE ESPUTO

- ◆ Se puede utilizar:

- Frascos de vidrio con tapa rosca.
- Envases desechables de material plástico con tapa.
- Pequeñas cajas de cartón con tapa.



- ◆ En general, deberán ser de boca ancha (aproximadamente 5 cm de diámetro) y 5 cm de altura. Así, el paciente puede expectorar con facilidad dentro del recipiente y el laboratorista al momento de efectuar el examen directo puede elegir la mejor parte.

PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN

EXPECTORACIÓN ESPONTÁNEA

1. Indicar al paciente que se ponga de pie.



2. Solicitar que haga un movimiento inspiratorio profundo, llenando de aire los pulmones.



3. Indicar al paciente que vacíe los pulmones con una sola espiración, tosiendo al mismo tiempo tan fuerte y profundamente como pueda.



4. Solicitar que escupe en el interior del recipiente rotulado.

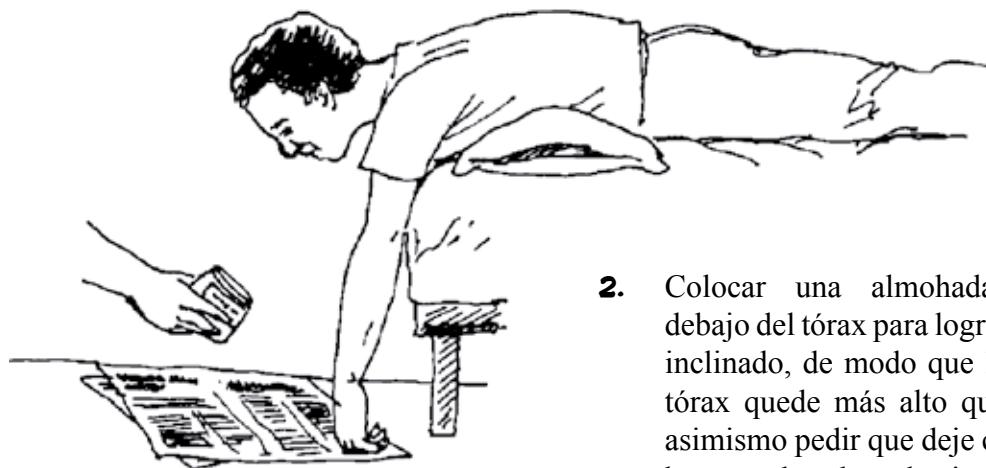


5. Tapar el recipiente y en una bolsa plástica llevarla al laboratorio inmediatamente.

EXPECTORACIÓN INDUCIDA

- ◆ Cuando el paciente no logra expectorar y es necesario el examen de esputo, se puede inducir la obtención de la muestra de la siguiente manera:

1. Acostar al paciente boca abajo sobre una camilla o cama, haciendo que su cabeza rebase el borde.



3. Indicar al paciente que inspire, retenga el aire y luego lo expulse con fuerza hasta obtener la expectoración.



2. Colocar una almohada dobrada debajo del tórax para lograr un plano inclinado, de modo que la base del tórax quede más alto que la boca, asimismo pedir que deje caer ambos brazos y la cabeza hacia el piso.



4. Escupirá en el recipiente rotulado que deberá estar sobre un papel periódico en el piso.

EXAMEN DIRECTO DEL BACILO DE LA TUBERCULOSIS

BACILOSCOPÍA

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ La baciloscopía es la técnica fundamental para el diagnóstico de la tuberculosis.
- ◆ Debe emplearse en toda muestra tanto pulmonar como extrapulmonar y para el control mensual del tratamiento y retratamiento por TBC.
- ◆ Siempre deben aplicarse las normas de bioseguridad para el manejo de muestras infectantes.
- ◆ También es muy recomendable realizar los extendidos y coloraciones en un horario especial, en el momento de menor trabajo en el laboratorio.

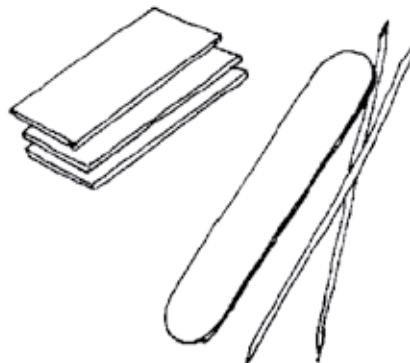
PREPARACIÓN DEL EXTENDIDO

¡ATENCIÓN!

- ◆ Procesar las muestras por series, cada serie no debe ser mayor a doce muestras.
- ◆ Preferentemente los portaobjetos deben ser nuevos, desgrasados con alcohol, en lo posible no reutilizar las láminas positivas.

MATERIALES

- Materiales para la obtención de muestra.
- Láminas portaobjetos, que no estén rayadas.
- Aplicadores o palitos de madera (bajalenguas).
- Mechero de alcohol.
- Lápiz graso o para marcar vidrio.
- Papel periódico.
- Bandeja de acero inoxidable o fierro enlozado para recepción de muestras (dimensiones recomendadas: 60 x 40 x 10 cm).
- Fenol al 5% (ver Anexos).
- Soporte de madera para láminas portaobjetos.

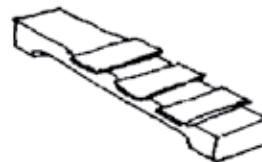


PROCEDIMIENTO

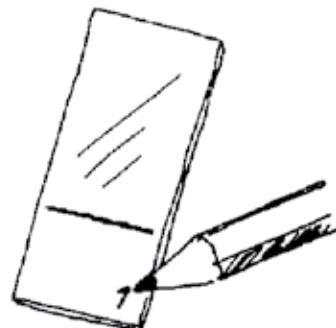
1. Colocar sobre la mesa de trabajo una hoja doble de papel periódico o la bandeja de fierro con papel periódico, humedecido con fenol al 5%.
2. Colocar los envases conteniendo las muestras de esputo previamente rotuladas sobre la mesa de trabajo.



- 3.** Colocar las láminas portaobjetos sobre el soporte de madera.



- 4.** Numerar los envases y las láminas portaobjetos con el lápiz graso en forma correlativa. Trazar una línea en el tercio inferior de cada lámina portaobjetos en la cara opuesta del extendido empleando el lápiz graso, la que dividirá la superficie de la lámina en una tercera parte destinada a la numeración y dos terceras partes para hacer el extendido.

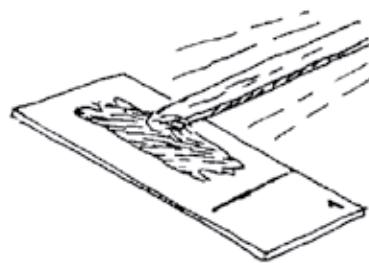


- 5.** Destapar cuidadosamente el envase de la muestra, manteniendo la boca del envase cerca del mechero encendido.



- 6.** Dividir el aplicador de madera (bajalengua) en dos o tres partes y agarrarlo entre el pulgar y el índice de la mano, para luego seleccionar y extraer la porción muco-purulenta de color amarillo verdoso del esputo, enrollándola en el aplicador.

7. Colocar la porción elegida sobre el portaobjetos y extenderla, haciendo movimientos en vaivén, hasta lograr que el extendido sea uniforme (ni muy fino ni muy grueso), tratando de dispersarla en el centro de la lámina, dibujando un círculo u óvalo de 2 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho, sin llegar a los bordes de la lámina, para evitar que el laboratorista se contamine al manipularla.
8. **Verificar que el extendido tenga grosor homogéneo y adecuado.** Si es demasiado fino, es posible producir un resultado falso negativo. Si es muy grueso, el material puede desprenderse durante la coloración o puede resultar difícil la visualización de bacilos debajo de una capa gruesa de mucus.
9. Colocar el extendido, sobre el soporte de madera para láminas portaobjetos y dejar secar a temperatura ambiente.
10. **El extendido no debe ser calentado a la llama mientras esté húmedo** pues el calor fuerte altera la estructura de los bacilos y su posterior tinción; además **puede generar aerosoles.**



11. Tomar el extendido seco con una pinza manteniendo la cara que contiene la muestra hacia arriba y pasarlo rápidamente sobre la llama del mechero tres o cuatro veces cuidando que no se caliente demasiado.

¡ATENCIÓN!

- ♦ Nunca debe calentarse la lámina mientras se haga el extendido, debido a que por el calor se forma precipitado granulos.

- 12.** Los extendidos deben ser coloreados de inmediato, ya que algunos bacilos pueden permanecer vivos después de fijados con calor hasta que incorporan la fucsina.
- 13.** Terminado el extendido, descartar los aplicadores en un recipiente que contenga una solución de hipoclorito de sodio al 1%; este recipiente irá al autoclave o directamente a incineración.



COLORACIÓN DEL EXTENDIDO: TÉCNICA DE ZIEHL NEELSEN

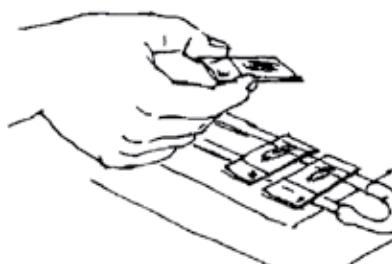
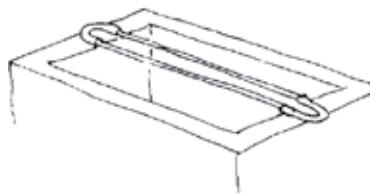
- ◆ El bacilo de la tuberculosis *Mycobacterium tuberculosis*, es resistente a los ácidos, es decir, una vez teñidos de rojo con fucsina básica fenicada, no se pueden decolorar por medio de ácidos o etanol.
- ◆ Antes de su uso, todos los colorantes y soluciones a emplearse deben ser previamente filtrados.

MATERIALES

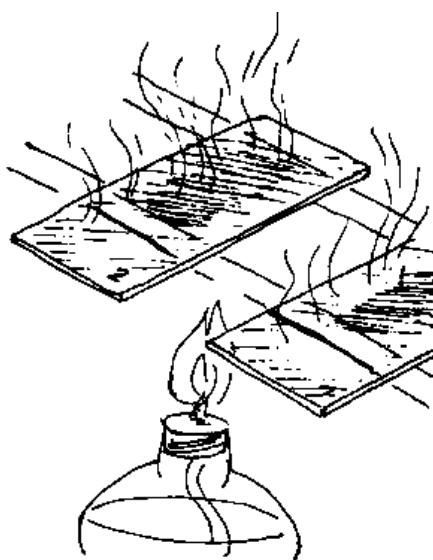
- Una serie de láminas portaobjetos con extendidos fijados.
- Dos varillas de vidrio unidas por sus extremos, por un tubo de goma.
- Reactivos para coloración: fucsina básica fenicada, azul de metileno, fenol de cristales, ácido clorhídrico, alcohol de 95° y agua destilada (ver Anexos).
- Un microscopio binocular, con objetivo de 100x. Aceite de inmersión.
- Un mechero de alcohol.
- Un soporte de madera para láminas portaobjetos.

MÉTODO

1. Colocar sobre los bordes del lavadero las dos varillas de vidrio unidas por sus extremos, por un tubo de goma.



3. Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con el colorante fucsina básica fenicada. No olvidar filtrar el colorante antes de efectuar la tinción.



2. Colocar sobre este soporte de varilla, la serie de láminas fijadas con el extendido hacia arriba, el número hacia el lado del laboratorista.

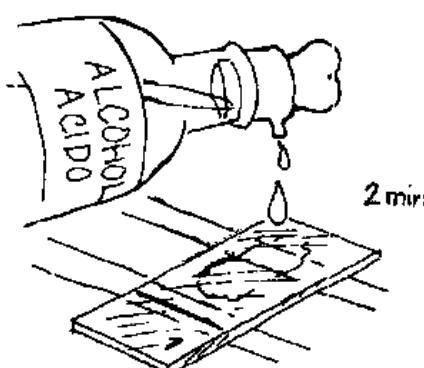
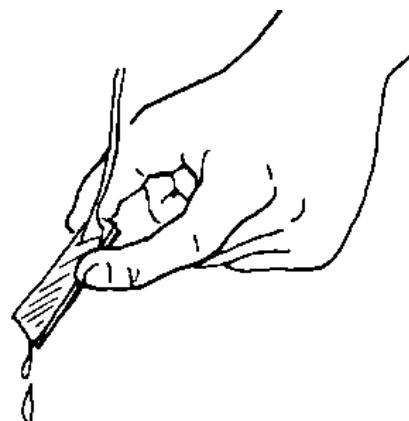
IV

4. Calentar suavemente con la llama del mechero de alcohol o con la llama de un hisopo embebido en alcohol, por debajo de cada lámina portaobjetos, hasta la emisión de vapores, repetir el proceso tres veces.

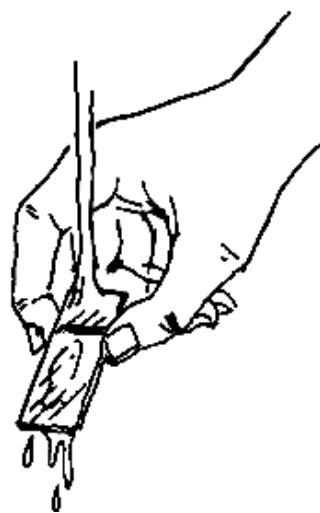
No debe hervir la preparación. Si el volumen del colorante disminuye por evaporación, agregar más colorante hasta cubrir el extendido y dejar enfriar.

El tiempo mínimo de coloración con fucsina es de 5 minutos.

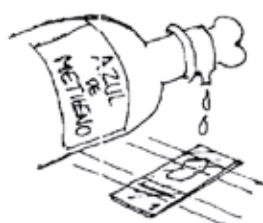
5. Eliminar la fucsina tomando la lámina por el extremo numerado, entre el dedo pulgar y el índice o con una pinza, inclinándola hacia delante y dejando caer agua corriente a baja presión. Girar el extendido y lavar también la parte posterior.



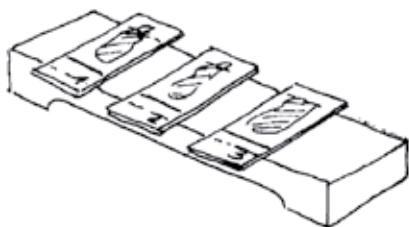
6. Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con la solución de alcohol ácido, durante 2 minutos, hasta obtener una coloración rosa pálido. De ser necesario, decolorar nuevamente y dejar reposar 1 minuto.



7. Eliminar el alcohol ácido, lavar nuevamente las láminas con agua corriente a baja presión, cuidando de no desprender la película que formó el extendido.



8. Cubrir la superficie del extendido con el colorante azul de metileno, durante 30 segundos a 1 minuto. Eliminar el azul de metileno y lavar cada lámina con agua a baja presión, por ambas caras de la lámina portaobjetos.



9. Colocar las láminas coloreadas en orden numérico sobre el soporte de madera y dejar secar al medio ambiente.

¡ATENCIÓN!

- ◆ Las muestras después de su obtención deben procesarse de inmediato. En caso de muestras de esputo, si el laboratorio no puede procesarlas el mismo día de su obtención, pueden conservarse en refrigeración a 4 °C por no más de una semana.

IV

OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE LA MUESTRA COLOREADA

- ◆ La observación microscópica tiene por objetivo:
 - Determinar si en el extendido hay **bacilos alcohol ácido resistentes (BAAR)**.
 - Establecer el número de estos BAAR.
- ◆ Se usa un microscopio con objetivo de 100x de aumento. Antes de usarlo, se debe colocar una gota de aceite de inmersión sobre el extendido.
- ◆ En la observación microscópica los BAAR presentan las siguientes características:
 - Son de color **rojo fuerte**: destacan sobre un fondo azul.



- Tienen forma recta o como bastoncitos delgados, ligeramente curvos.
- Son muy pequeños ($1 - 4 \mu\text{m}$).
- Son frecuentemente granulosos.
- Se disponen en grupos de 3 - 10 bacilos que asemejan trozos de hilo o parecen formas de letras torcidas (con frecuencia se encuentran cerca de los hilos de fibrina).



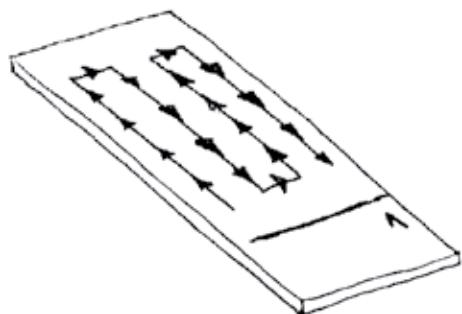
♦ En la observación microscópica los **BAAR** se pueden confundir con:

- **Levaduras**, que se tiñen más o menos de rojo. Al calentarlas se rompen y forman grupos de gránulos voluminosos de color rojo.
- **Manchas de colorante**, cuando el portaobjetos no se ha decolorado adecuadamente.
- No olvidar que otro bacilo patógeno resistente a los ácidos es el **bacilo de la lepra**.

MÉTODO DE LECTURA

- ♦ Es importante tener en cuenta que se considera como campo **microscópico útil**, aquel en el cual se observa elementos celulares de origen bronquial, es decir, leucocitos, fibras mucosas y células ciliadas. Los campos en que no aparezcan dichos elementos no deben considerarse en la lectura. Una vez identificados los campos proceder de la siguiente manera:

1. Observar un mínimo de 100 campos útiles. Hacer un examen completo del primer portaobjetos empleando el objetivo de 100x, avanzando de izquierda a derecha, con iluminación máxima y sin filtro de color.
2. Apuntar el número de bacilos observados y el número de campos microscópicos útiles a observarse, que variará según la cantidad de bacilos que contenga la muestra.



IV

INFORME DE RESULTADOS DE BACILOSCOPIA

- ◆ Se informa con la siguiente escala semicuantitativa:



-	Negativo: No se encuentran BAAR EB 100 campos microscópio observados
+	Menos de 1 BAAR por campo, en 1000 campos microscopios observados.
++	1 a 10 BAAR por campo, en 50 campos microscópio observados.
++++	Más de 10 BAAAR por campo, en 20 campos microscópios observados.

- ♦ En caso de encontrar de 1 a 9 BAAR en 100 campos microscópicos observados, se procederá a:
 1. Leer 100 campos más, contabilizando solo campos microscópicos útiles, en busca de positividad.
 2. Si persiste el resultado (1 a 9 BAAR) realizar otro extendido de una porción más representativa de la misma muestra, en búsqueda de positividad y reportar el número de BAAR observado.
 3. Derivar la muestra problema a **cultivo** para su confirmación bacteriológica.
 4. Indicar en el formato de resultados, en "observaciones", que se está derivando la muestra a cultivo y sugerir el envío de nuevas muestras del paciente.

REGISTRO DIARIO DE BACILOSCOPIA

- ♦ Los registros son medios prácticos para obtener información que ayudan en las actividades de vigilancia, supervisión y evaluación del Programa Nacional de Control de Tuberculosis.
- ♦ Ofrece información necesaria para preparar los informes mensuales y trimestrales sobre detección y control de casos de tuberculosis.
- ♦ El personal que realiza las baciloscopías estará obligado, bajo responsabilidad, a llevar el registro diario de las baciloscopías efectuadas y velar por la integridad y puesta al día de la información.
- ♦ Para ello se requiere un libro donde se consigna una numeración correlativa anual. Se empezará anualmente el 2 de enero y terminará el 31 de diciembre del mismo año, desde el número 1 hasta el último correspondiente.

CULTIVO DE BK

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ **El cultivo es el método bacteriológico más sensible y específico para detectar la presencia de *Mycobacterium tuberculosis* y otras micobacterias.** Aporta de 20 a 25% casos más a lo diagnosticado por baciloscopía.
- ◆ **Se indica cultivo para *Mycobacterium tuberculosis*, en los siguientes casos:**

IV

Para diagnóstico

- Paciente sintomático respiratorio con BK (-) y radiografía de pulmones con sospecha de TB (Rx anormal).
- Paciente paucibacilar, es decir, cuando se encuentra de 1 a 9 BAAR en 100 campos microscópicos observados.
- Muestras extrapulmonares: todas las muestras de biopsias, piezas anatómicas, tejidos y fluidos (exudados, orina, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, etc) de casos con sospecha de tuberculosis extrapulmonar, deberán ser sometidas a cultivo.
- Toda muestra de paciente inmunosuprimido, especialmente personas viviendo con VIH (virus de la inmunodeficiencia).
- Toda muestra de personas privadas de su libertad.
- Persona con tuberculosis pulmonar con algún factor de riesgo de TB MDR
- Muestras de pacientes menores de 15 años. De no tener riesgo de TB MDR, se conservará la cepa, para el caso que el niño presente mala evolución durante su tratamiento.

Para control

- Persona con tuberculosis con sospecha de fracaso al esquema I o II de tratamiento, por persistencia de baciloscopía positiva al segundo mes de tratamiento o cuando presenta baciloscopía positiva después de un periodo de negativización.
- Persona con tuberculosis con esquema estandarizado o individualizados para el control del tratamiento.

Otras indicaciones

- Persona con tuberculosis crónica multitratadas (más de dos tratamientos previos).
- En forma excepcional, el laboratorista derivará a cultivo muestras a pedido y bajo responsabilidad del médico, quienes deberán indicar en observaciones de la “Solicitud de Investigación Bacteriológica en Tuberculosis” las condiciones de la persona con tuberculosis que ameriten la prueba, que sean diferentes a las antes mencionadas.

MATERIALES

- Materiales para la obtención de muestras.
- Una centrífuga.
- Estufa o baño María.
- Mortero de porcelana estéril.
- Mascarilla protectora.
- Agua destilada estéril.
- Hidróxido de sodio (NaOH) al 4%.
- Rojo de fenol.
- Ácido sulfúrico.
- Tubos estériles con tapa rosca.
- Mechero de Bunsen o de alcohol.



- Pipeta Pasteur con chupón.
- Bandeja de madera de fondo inclinado.
- Gradilla.
- Tubos con medio de Ogawa acidificada.
- Tubos con medio de Lowenstein Jensen.

MÉTODOS

IV

MÉTODO PARA MUESTRAS OBTENIDAS ASÉPTICAMENTE

- ♦ Las muestras obtenidas asépticamente son recolectadas en un recipiente estéril, y se cultivan sin realizar un proceso de descontaminación previo.
- ♦ Las muestras recolectadas asépticamente son:
 - **Muestras obtenidas por punción:**
Líquido cefalorraquídeo, pleural, peritoneal y articular.
 - **Muestras obtenidas por biopsia (tejido):**
Pulmonar, hígado, ganglio.

MUESTRAS OBTENIDAS POR PUNCIÓN

- Si se obtiene volúmenes suficientes deben ser centrifugados y el sedimento se sembrará en varios tubos de cultivo. Si la cantidad de la muestra es pequeña, se sembrará toda la muestra.

MUESTRAS OBTENIDAS POR BIOPSIA (TEJIDO)

- Primero debe proceder a triturar la muestra obtenida en un mortero de porcelana previamente esterilizado. De ser necesario, agregar agua

destilada estéril, hasta obtener una suspensión que puede ser inoculada directamente en el medio de cultivo.

MÉTODO PARA MUESTRAS CONTAMINADAS

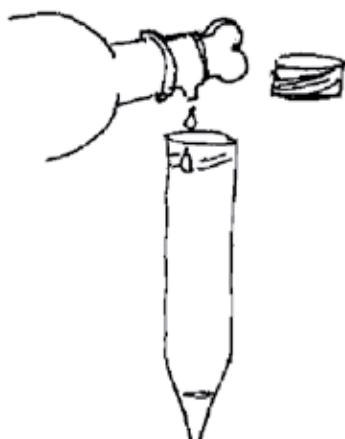
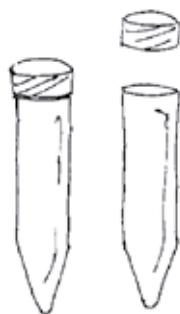
- ♦ Las muestras contaminadas tales como: **esputo, orina, contenido gástrico, etc. deben ser descontaminadas antes del cultivo.**

- ♦ **La descontaminación tiene por objeto:**
 - Eliminar la flora asociada a *M.tuberculosis*, cuyos gérmenes se multiplican más rápido que el bacilo.
 - Homogeneizar (uniformizar) la muestra, especialmente el esputo, a fin de liberar al bacilo *M.tuberculosis* del mucus, material celular y tejidos.

- ♦ Se procede de la siguiente manera:
 1. **Centrifugar las muestras de orina y contenido gástrico a 3 000 o 3 500 RPM (revoluciones por minuto)** durante 20 a 30 minutos.
 2. Eliminar el sobrenadante.
 3. Descontaminar y sembrar el sedimento.

a. Descontaminación con centrifugación (Método de Petroff) y uso del medio de Lowenstein – Jensen

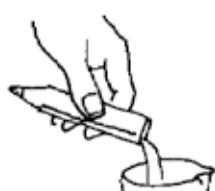
1. Trabajar frente a la llama del mechero. Cada operador debe procesar en series de doce muestras por vez. Es conveniente trabajar utilizando tubos con tapa rosca; si no se cuenta con ellos, usar tubos con tapón de algodón bien ajustado.



2. En un tubo, mezclar 2 mL de la muestra con 4 mL de solución estéril de hidróxido de sodio al 4%. Ajustar firmemente la tapa del tubo, para impedir que al agitarlo se diseminen aerosoles que son peligrosos para el operador.

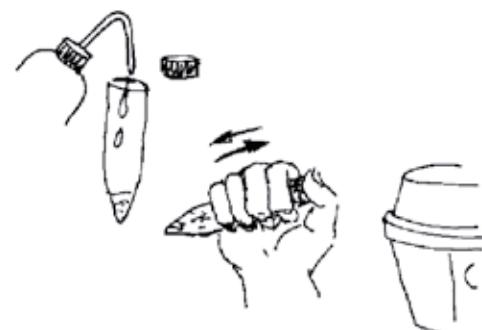


3. Agitar vigorosamente. Incubar a 37 °C durante 20 minutos, agitando cada 5 minutos.



4. Centrifugar durante 20 minutos a 2000 - 3 000 RPM y desechar el sobrenadante.

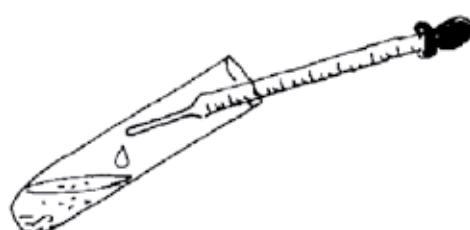
5. Agregar al sedimento 1 - 2 gotas de solución de rojo fenol (indicador de pH) y 1 - 2 gotas de solución de ácido sulfúrico al 10 o 15% para producir el viraje del indicador, desde rojo violáceo al amarillo - anaranjado.



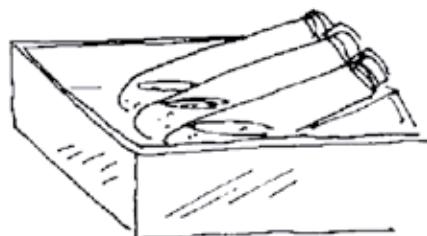
6. Efectuar un lavado para eliminar los restos de ácido sulfúrico: Agregar aproximadamente 3 mL de agua destilada estéril, agitar, centrifugar durante 10 minutos y se desecha el sobrenadante.



7. Inocular el sedimento al medio de cultivo Lowenstein- Jensen. La cantidad inoculada a cada tubo de medio de cultivo es de 4 - 5 gotas. Durante el sembrado de la muestra descontaminada, los tubos con el medio de cultivo deben mantenerse en posición inclinada cerca de la llama.



8. Tomar con una pipeta Pasteur 1 mL de muestra descontaminada y sembrar 4 - 5 gotas en cada tubo de medio de cultivo, dejando escurrir la muestra sobre la superficie del medio, sin tocarla con la pipeta.



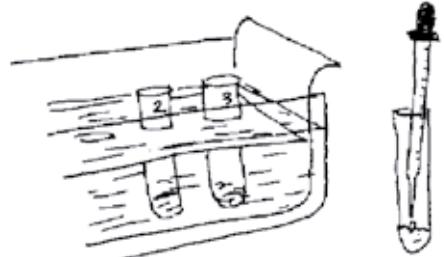
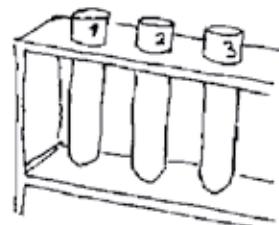
- 9.** Una vez sembrados los tubos con medio de cultivo, colocarlos sobre una bandeja de fondo inclinado, para que el líquido sembrado cubra toda la superficie del medio. Llevarlos a la estufa a una temperatura entre 35 y 37 °C, dejando floja la tapa de cada tubo para que pueda evaporarse la parte líquida de la siembra.

- 10.** Despues de 48 horas, revisar los tubos y, si se ha evaporado el líquido, ajustar la tapa rosca. Si se usan tapón de algodón, flamearlo e introducido con una pinza y cerrar con un tapón de jebe estéril.

IV

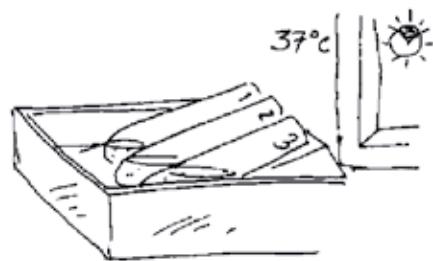
b. Descontaminación sin centrifugación y uso del medio Ogawa acidificado

1. Sobre la mesa de trabajo colocar las muestras numeradas y en una gradilla colocar tubos estériles numerados con la misma secuencia de las muestras.
2. Colocar 1 mL de muestra (esputo, sedimento de muestra centrifugada, etc.) en cada tubo estéril de acuerdo con la numeración correspondiente. Agregar 4 mL de solución estéril de hidróxido de sodio (NaOH) al 4%.
3. Dejar a 37 °C por 20 minutos en estufa o en baño maría.



4. Retirar los tubos de la estufa o baño maría, homogenizar (mezclar) el contenido de cada tubo con una pipeta e inocular 0,1 mL (por tubo) en dos tubos de medio Ogawa, y bañar toda la superficie del medio.

5. Colocar los tubos en una bandeja de madera de fondo inclinado, e incubar en estufa a 37 °C.



LECTURA

- ◆ El desarrollo de *M.tuberculosis* generalmente aparece luego de 2 a 3 semanas.
- ◆ Las observaciones de los cultivos se hacen después de 48 horas de incubación de la muestra, para descartar contaminación:
 - **Alcalinizado:** color blanco amarillo.
 - **Acidificado:** color azul oscuro, por mala descontaminación (neutralización) de la muestra.
 - **El desarrollo de colonias antes de las 48 horas es indicativo de contaminación,** algunas veces el medio se licúa por acción de gérmenes proteolíticos.
- ◆ Las revisiones posteriores se realizarán durante la incubación a los 7, 30 y 60 días.
- ◆ Si no se observan colonias en el tiempo mencionado, se deja los cultivos hasta las 8 semanas antes de proceder a informar el resultado como negativo.
- ◆ Las colonias típicas son de color crema, rugosas, con aspecto de coliflor y de borde irregular. Se desarrollan en la superficie del medio y el sitio en que se implantan no cambia de color.
- ◆ De las colonias que no tienen una morfología típica, se debe hacer un extendido y colorearlo por Ziehl Neelsen para examinarlo. Si son bacilos ácido - alcohol resistente (BAAR), se debe enviar el cultivo al laboratorio de referencia para su identificación.

INFORME DE RESULTADOS DEL CULTIVO

- ◆ Se recomienda usar la escala semicuantitativa.

-	No se observa colonias. Número total de colonias, si hay menos de 20.
+	De 20 a 100 colonias.
++	Colonias separadas de 100 a 200.
+++	Colonias confluentes (agrupadas), se observan en toda la superficie del medio.
C	Cultivo contaminado.

IV

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

MATERIALES

- ◆ Todo el material de vidrio debe esterilizarse en baño maría o en autoclave.
 - Un frasco fraccionador de 2 000 mL, provisto de caño de goma o látex.
 - Pinza de Mohr.
 - Accesorio en forma de campana para verter.
 - Un embudo grande cubierto con dos capas de gasa, sujetadas al pico del embudo y protegidas por envoltura de papel grueso.
 - Probeta de 1 L.
 - Batidora o licuadora de tipo casero con vaso de vidrio y tapa, que puede ser esterilizada, de más de 1 L de capacidad.

- Tubos de ensayo con tapa rosca o algodón 16 x 160 mm.
- Un coagulador a gas o eléctrico, regulable a 80 - 85 °C, con bandeja de fondo inclinado.

a. *Preparación del medio de Lowenstein-Jensen*

CONSTITUYENTES

- ◆ Solución de sales:
 - Fosfato monopotásico (P04H2K) 2,4 g
 - Sulfato de magnesio (S04Mg7H20) ,24 g
 - Citrato de magnesio 0,6 g
 - L-asparagina 3,6 g
 - Glicerina bidestilada 12 mL
 - Agua destilada 600 mL
- ◆ Suspensión de huevos enteros 1 000 mL
- ◆ Solución acuosa de verde de malaquita al 2%, recién preparada: 20 ml.

MÉTODO

1. Disolver las tres primeras sales y la asparagina en 200 - 300 mL de agua destilada. Calentar en baño maría hasta disolución de la asparagina.
2. Pasar la solución del paso 1 a un frasco de 2 000 mL de capacidad, agregar agua destilada hasta completar 600 mL y 12 mL de glicerina.
3. Esterilizar en el autoclave durante 15 minutos a 121 °C. Dejar enfriar a temperatura ambiente.
4. Los huevos deben ser frescos. Limpiarlos con agua y detergente, enjuagar con agua corriente y dejar secar. Luego, lavarlos con alcohol de 70°.

5. Con las manos cuidadosamente lavadas, quebrar los huevos uno por uno en el borde de una probeta de 1 L y observar la yema de cada uno, que debe ser firme y conservar la forma redonda, sin aplastarse ni romperse.
6. Vaciar los huevos de la probeta en el vaso de la licuadora y mezclarlos a baja velocidad durante algunos segundos cuidando de no causar exceso de burbujas.
7. Vaciar los huevos homogenizados (mezclados) en el frasco que contiene la solución de sales, asparagina y glicerina.
8. Agregar la solución de verde de malaquita.
9. Agitar el frasco en forma circular.

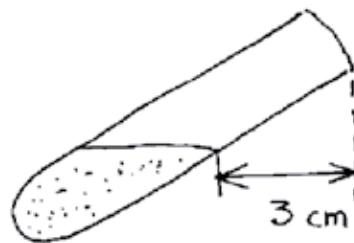
IV

10. Filtrar el contenido por el embudo cubierto de gasa, recibir el filtrado en el frasco fraccionador cuidando de cerrar con pinza de Mohr el caño de salida.
11. **Distribuir el medio** haciéndolo escurrir por la pared del tubo, flameando la boca del tubo al sacarle y ponerle la tapa.



12. **El coagulador**, debe haberse encendido previamente hasta lograr una temperatura de 85 °C.

13. Asegurarse que cada tubo y el ángulo de la bandeja del coagulador, donde se colocan los tubos, sean adecuados como **para que el medio forme en el tubo un plano inclinado**, quedando por lo menos 3 cm entre la boca del tubo y el extremo del plano inclinado.



14. No deben transcurrir más de 15 a 20 minutos desde el momento del llenado del tubo hasta la colocación en el coagulador.
15. Colocar los tubos en el coagulador durante 30 minutos a la temperatura descrita.
16. Terminada la coagulación, llevar los tubos a una estufa a 37 °C, dejándolos con las tapas ligeramente flojas durante 48 horas para controlar su esterilidad y permitir que se elimine el agua de condensación.
17. Transcurridas las 48 horas, ajustar bien las tapas para evitar la desecación y guardar los tubos en refrigeración. Si se usan tubos con tapón de algodón, se guardarán en bolsas de plástico cerradas herméticamente, a fin de mantener la humedad.

¡ATENCIÓN!

- ♦ Se recomienda no usar el medio después de transcurridos 2 meses desde su preparación.

b. Preparación del medio de Ogawa

CONSTITUYENTES

- Fosfato monopotásico (KH ₂ P04)	3	g
- Glutamato de sodio	1	g
- Agua destilada	1	g
- Glicerol	6	mL
- Verde de malaquita al 2%.	6	mL
- Huevo homogenizado.	200	mL

MÉTODO

I. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE SALES

- Disolver en 100 mL de agua destilada, el fosfato monopotásico y el glutamato de sodio y colocar en baño maría a 100 °C o en autoclave a

121 °C por 15 minutos. Luego, enfriarla a temperatura ambiente.

2. PREPARACIÓN DE HUEVO HOMOGENIZADO

- Lavar los huevos con detergente y enjuagar con agua de caño, dejar secar en una canastilla de alambre.
 - Limpiar los huevos con algodón embebido en alcohol al 70% y dejar secar. Romper los huevos uno por uno y verter en un vaso pequeño, para comprobar si están en buenas condiciones, de lo contrario descartar y cambiar de vaso.
 - Vaciar los huevos en un beaker y mezclar con una bagueta o palillos estériles. Filtrar utilizando cuatro capas de gasa estéril.
- 3.** Agregar 6 mL de glicerol y 6 mL de verde de malaquita al 2% a la solución de sales y mezclar bien.
- 4.** Agregar el huevo homogeneizado lentamente a la solución del paso 3, evitando la formación de burbujas.
- 5.** Mezclar suavemente y dejar reposar por 30 minutos.
- 6.** Distribuir el medio en tubos de 20 x 125 mm, en una proporción de 6 mL por tubo, evitando la formación de burbujas.
- 7.** Colocar los tubos inclinados en el coagulador y dejar a 90 °C por una hora.
- 8.** Despues de la coagulación, sacar los tubos y dejarlos enfriar. Luego, guardarlos en bolsas de plástico y cerrarlas herméticamente, anotando la fecha de preparación. Pueden guardarse en el refrigerador hasta por un mes.

PRUEBA DE SENSIBILIDAD DE *M. tuberculosis* A LOS MEDICAMENTOS ANTITUBERCULOSOS

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ Es un examen para determinar la sensibilidad o resistencia de una cepa de *M.tuberculosis* a los fármacos antituberculosis.
- ◆ **El laboratorio de referencia nacional para la realización de pruebas de sensibilidad es el Instituto Nacional de Salud (INS) y/o laboratorios acreditados por ellos y por un laboratorio supranacional a solicitud del INS.**
- ◆ **El método de las proporciones** es utilizado como el estándar internacional para la realización de las pruebas de sensibilidad a fármacos de **primera línea**. Consiste en determinar la proporción de mutantes resistentes de una población a una o más drogas.
- ◆ Para las pruebas de sensibilidad a drogas de **segunda línea** se utilizará el **método del agar en placa**.
- ◆ **Se debe solicitar la prueba de sensibilidad a drogas de primera línea en el momento del diagnóstico**, a toda persona con tuberculosis que tenga alto riesgo de desarrollar TB MDR:
 - Antecedente de ser contacto de paciente con TB MDR confirmada con prueba de sensibilidad (PS) o en tratamiento con drogas de segunda línea.
 - Infección VIH.
 - Diabetes mellitus.
 - Tratamiento prolongado con corticoides.
 - Recaída en menos de seis meses de egresar como “curado” de esquema uno o dos de tratamiento.
 - Persona con tuberculosis multitratada.
 - Personal de salud activo o cesante con menos de dos años de cesantía.
 - Estudiantes de ciencias de la salud que realizan actividades en áreas clínicas y/o de laboratorio y/o salas de necropsia.
 - Internos de penales o exinternos de penales.
 - Trabajador de establecimientos penitenciarios.
 - Contacto de paciente fallecido por tuberculosis, durante el tratamiento.
 - Personas con antecedente de tratamiento previo particular y/o autoadministrado.

- Personas con antecedente de abandono de tratamiento antituberculoso.
 - Antecedente de hospitalización previa por cualquier motivo en los últimos dos años, por más de 15 días.
 - Tratamiento previo con presencia de reacción adversa a fármacos antituberculosos (RAFA) que obligó a modificar dosis y/o cambiar y/o suprimir algún medicamento.
 - Contacto de persona con tuberculosis que fracasó a tratamiento antituberculosis.
 - Cepas de cultivo positivo, de personas con infección VIH o SIDA/TB.
- ♦ **Se debe solicitar la prueba de sensibilidad a drogas de primera y segunda línea a:**
- Toda persona con tuberculosis que ingresa a un esquema de tratamiento que incluya medicamentos de segunda línea.
 - Toda persona con tuberculosis con prueba de sensibilidad que indique presencia de bacilos MDR.
 - Antecedente de contacto con persona con TB MDR confirmada o en tratamiento para TB MDR.
 - Antecedente de contacto de persona con tuberculosis tratado con medicamentos de segunda línea.
 - Antecedente de haber recibido drogas de segunda línea por un período mayor de 30 días.
 - Abandono a esquemas de tratamiento con medicamentos de segunda línea.
 - Fracaso a esquemas de tratamiento con medicamentos de segunda línea.
 - Recaída a esquema de tratamiento con medicamentos de segunda línea.
- ♦ **Pruebas rápidas de sensibilidad**
- BACTEC 460 TB es responsabilidad del INS.
 - GRIESS, es una prueba directa a partir de muestras de esputo. Detecta resistencia a isoniacida y rifampicina y será de responsabilidad de los laboratorios de referencia regional y de laboratorios intermedios validados.
 - MODS, es otra alternativa de prueba directa a partir de muestras de esputo, detecta resistencia a isoniacida y rifampicina y será de responsabilidad de los laboratorios de referencia regional y de laboratorios intermedios validados.

CAPÍTULO

V

ORINA

OBTENCIÓN DE ORINA	209	Principios generales	230
Principios generales	209	Materiales	230
RECIPIENTES PARA ORINA.....	211	Método.....	231
Materiales	211	Lectura y resultados	231
Métodos de obtención	211	MEDICIÓN DEL pH.....	233
EXAMEN DIRECTO DE FROTIS DE ORINA	213	Principios generales	233
Principios generales	213	Materiales	233
Materiales	213	Método.....	233
Método.....	214	Resultados.....	234
Lectura e informe.....	215	USO DE TABLETAS Y TIRAS REACTIVAS EN LOS EXÁMENES DE ORINA.....	235
SEDIMENTOS URINARIOS.....	216	Principios generales	235
Principios generales	216	Tabletas y tiras reactivas	236
Elementos microscópicos de los sedimentos urinarios.....	217	PRUEBA DEL EMBARAZO.....	238
Preparación del sedimento urinario.....	228	Principios generales	238
GRAVEDAD ESPECÍFICA Y pH DE LA ORINA.....	230	Materiales	238
MEDICIÓN DE LA GRAVEDAD ESPECÍFICA	230	Métodos	239
		Método del tubo de ensayo	239
		Método del portaobjetos	239

OBTENCIÓN DE ORINA

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ La cantidad apropiada de orina que se debe recoger es de aproximadamente 50 mL.
- ◆ Es importante la higiene personal previa a la obtención de la orina. La contaminación de la orina es frecuente por bacterias localizadas debajo del prepucio, en secreciones vaginales, en uretra distal, bacterias de la mano, de la piel y de ropas.
- ◆ La higiene personal previa a la obtención de la orina es necesaria hacerla **en el momento de tomar las muestras y no antes**.



MUJERES

- ◆ Deberán lavar el área genital en todos los casos. Evitar recolectar muestras durante los períodos menstruales.
- ◆ Utilizar compresas de gasa estéril, en una solución de jabón antiséptico, y limpiar alrededor del meato urinario, separando los labios vaginales.
- ◆ Enjuagar bien con agua estéril mientras se mantienen separados los labios vaginales. Secar con gasa estéril.



HOMBRES

- ◆ Deberán lavar el área genital en todos los casos.
- ◆ Utilizar varias compresas de gasa estéril, en una solución de jabón antiséptico para limpiar el glande. Si no está circuncidado, retraer el prepucio o piel que cubre el glande y mantenerlo retraído hasta que termine la limpieza.
- ◆ Enjuagar con agua estéril. Secar con gasa estéril.



HORAS MÁS APROPIADAS PARA OBTENER LAS MUESTRAS

- ◆ **En pacientes hospitalizados**
Lo más conveniente es obtenerla a primera hora de la mañana, la orina se encuentra concentrada.
- ◆ **En el laboratorio**
Si es posible, que el paciente produzca la muestra en el propio laboratorio.



RECIPIENTES PARA ORINA

- ◆ **Para exámenes bacteriológicos**
Usar frasco de vidrio de boca ancha, con tapa, **estéril**.
- ◆ **Para otros exámenes**
Cualquier recipiente o frasco de vidrio, **limpios**.
- ◆ **En caso de niños**
Usar una bolsa de material plástico con boca adhesiva, que se fija alrededor de los genitales.

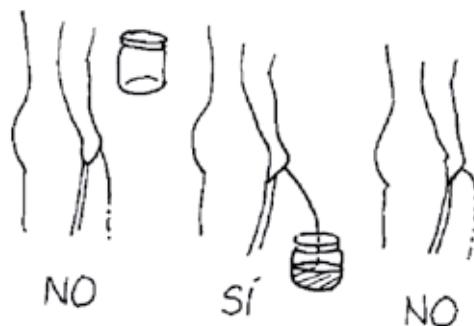
V

MATERIALES

- Recipientes indicados: estéril o limpio según sea el examen solicitado.
- Jabón antiséptico.
- Gasa estéril.

MÉTODOS DE OBTENCIÓN

- ◆ Recoger la muestra **a la mitad de la micción**. Eliminar la primera parte de la micción y desecharla. La orina que emite a continuación se recoge directamente en el recipiente. Tapar el recipiente y terminar de orinar libremente.



- ♦ **Las muestras obtenidas con sonda**, deben ser efectuadas por un médico o un personal de salud capacitado. Se indica en situaciones especiales que determina el médico.

- ♦ **En niños** la orina se puede recoger en una bolsa de material plástico con boca adhesiva, que se fija alrededor de los órganos genitales del niño durante 1 - 3 horas, dependiendo del examen solicitado.

- ♦ **Muestras de 24 horas**



- El paciente deberá orinar en la mañana, al levantarse; esta orina no se recoge.

- Posteriormente, toda la orina que se produzca durante el resto del día se reunirá en el frasco, así como toda la orina que se produzca en el curso de la noche.

- Al día siguiente, cuando el paciente se levante deberá depositar en el frasco la primera orina de la mañana. El frasco se llevará inmediatamente al laboratorio.



EXAMEN DIRECTO DE FROTIS DE ORINA

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ El sedimento urinario se usa para preparar frotis.
- ◆ El examen microscópico directo de **frotis teñidos** constituye una manera eficiente para estudiar la presencia de bacterias y otras veces, para establecer el diagnóstico de una enfermedad (por ejemplo: tuberculosis, etc.).
- ◆ Es importante que se anote una descripción detallada de los microorganismos que se observan y de los demás elementos encontrados (leucocitos, eritrocitos, células epiteliales, etc.).

V

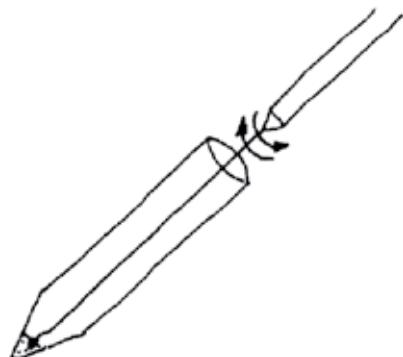
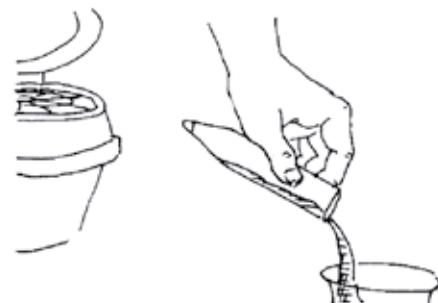
MATERIALES

- Un recipiente estéril, para la obtención de la muestra.
- Una centrífuga.
- Tubos cónicos para centrifugación, estériles, con tapa rosca o tapón.
- Un portaobjetos.
- Un asa de siembra.
- Un mechero Bunsen.
- Reactivos para las tinciones de Gram y Ziehl Neelsen (Ver Anexos).
- Aceite de inmersión.
- Un microscopio.

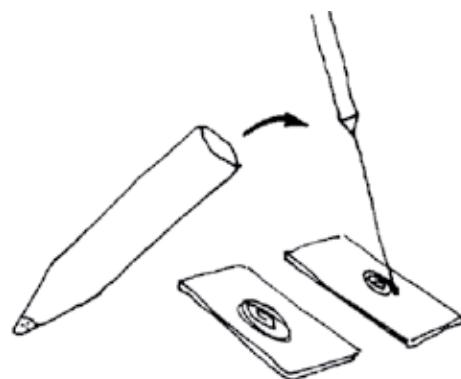


MÉTODO

1. Verter 10 mL de la orina obtenida en el tubo cónico para centrifugación, estéril, de preferencia con tapa rosca o taponado con un taco de algodón estéril que se fijará en la boca del tubo con gasa y un hilo.
2. Centrifugar a 2 500 RPM (revoluciones por minuto) durante 10 minutos.
3. Eliminar el sobrenadante de la orina centrifugada.



4. Mezclar el sedimento, que queda en el fondo del tubo, usando un asa de siembra estéril (flameado) hasta que se forme una suspensión homogénea (uniforme).



5. Hacer 2 frotis de esta suspensión.

6. Teñir el frotis del portaobjetos 1 con tinción Gram y el portaobjetos 2 con tinción Ziehl Neelsen (ver Anexos)

LECTURA E INFORME

a. *Frotis con tinción Gram*

1. Examinar el frotis en el microscopio usando el objetivo 100x (antes, aplicar una gota de aceite de inmersión sobre el portaobjetos).
2. Buscar pus, es decir, numerosos leucocitos teñidos de rojo.
3. Buscar microorganismos como:
 - Bacilos gramnegativos.
 - Cocos grampositivos.
 - Levaduras gramnegativos.



V

4. Para informar sobre los resultados, indicar si se ha observado leucocitos o pus, microorganismos, etc., haciendo una descripción precisa.

Ejemplo:

- Abundantes leucocitos.
- Escasos eritrocitos.
- Escasas células epiteliales.
- Abundantes cocos grampositivos en racimos.

b. *Frotis con tinción Ziehl Neelsen*

- Los bacilos se tiñen de rojo oscuro.
- Se agrupan formando hileras.

SEDIMENTOS URINARIOS

PRINCIPIOS GENERALES

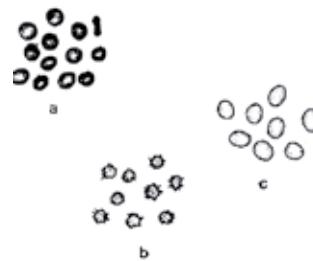
- ◆ En las personas sanas la orina casi no contiene microorganismos.
- ◆ La orina contiene elementos microscópicos en suspensión: células, cristales, etc.
- ◆ Como todos estos elementos en suspensión se sedimentan en la orina, si esta se deja en reposo durante algunas horas, se les llama **sedimentos urinarios**.
- ◆ En ciertas enfermedades del aparato urinario se pueden encontrar bacterias:
 - Cuando existe una infección en el conducto inferior, uretritis; en la vejiga, cistitis; en los riñones, nefritis.
 - Cuando se excretan en la orina bacterias de una infección que afecta otra parte del organismo.
- ◆ Cuando existen las condiciones mencionadas en el ítem anterior, los sedimentos se alteran y se pueden encontrar los siguientes elementos:
 - Pus.
 - Número anormal de glóbulos rojos o eritrocitos.
 - Cristales anormales.



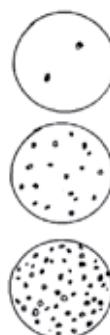
ELEMENTOS MICROSCÓPICOS DE LOS SEDIMENTOS URINARIOS

a. Glóbulos rojos o eritrocitos

- ◆ Normalmente no hay eritrocitos en la orina. Sin embargo, se pueden encontrar eritrocitos en la orina de mujeres si las muestras se obtienen durante el periodo menstrual.
- ◆ Los eritrocitos pueden estar:
 - **Intactos (a)**
Pequeños discos amarillentos, de 8 μm .
 - **Festoneados (b)**
Con bordes espinosos y diámetro reducido, de 5 - 6 μm .
 - **Hinchados (c)**
Círculos de poco grosor y diámetro aumentado, de 9 - 10 μm .
- ◆ Para expresar la cantidad de eritrocitos es importante usar un solo método, para lo cual se recomienda usar:
 - Una gota de sedimento urinario con pipeta Pasteur calibrada (50 gotas por cada mL).
 - Un cubreobjetos de 20 x 20 mm.
 - Examinar con el microscopio usando el objetivo de 40x.
- ◆ La lectura e informe teniendo en consideración lo anterior será el siguiente:
 - **De 0 - 10 eritrocitos por campo = Escasos eritrocitos.**
 - **De 10 - 30 eritrocitos por campo = Cantidad moderada de eritrocitos.**
 - **Más de 30 eritrocitos por campo = Abundantes eritrocitos.**



V

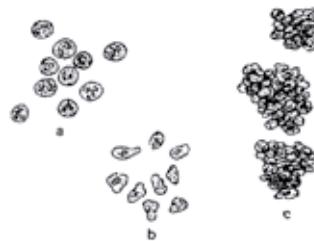


b. Glóbulos blancos o leucocitos

La presencia de abundantes leucocitos, especialmente en racimos, significa infección de los conductos urinarios.

Se pueden hallar leucocitos de las siguientes formas:

- ◆ **Intactos:** discos claros y granulosos de 10 - 15 11 μm . Los núcleos se pueden ver (a).
- ◆ **Degenerados:** deformes, encogidos, menos granulosos (b).
- ◆ **Pus:** leucocitos degenerados numerosos, en racimos (c).



Para expresar la cantidad de leucocitos se emplea el mismo método usado para los eritrocitos.

La lectura e informe respecto a la cantidad de leucocitos es el siguiente:

- ◆ **De 0 - 10 leucocitos por campo = escasos leucocitos.**
- ◆ **De 10 - 20 leucocitos por campo = cantidad moderada de leucocitos.**
- ◆ **De 20 - 30 leucocitos por campo = abundantes leucocitos.**
- ◆ **Racimos de más de 20 leucocitos degenerados = se observan numerosos leucocitos en racimos.**
- ◆ **Racimos de leucocitos y numerosos leucocitos degenerados = campo lleno de leucocitos.**



c. Levaduras

No se deben confundir con eritrocitos.

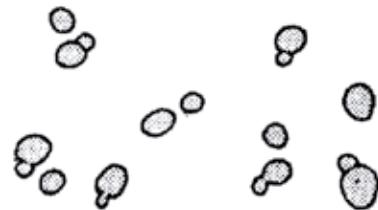
Se observan ocasionalmente en muestras de orina que contienen glucosa.

Se debe verificar que la orina sea fresca (antes de que transcurran 2 horas desde la micción).

Se observan con las siguientes características:

Tamaño: 5 - 12 μm .

Forma: cuerpos redondeados de varios tamaños, a veces se les observa en gemación (brote).



V

d. Trichomonas

De gran movilidad en la orina fresca.

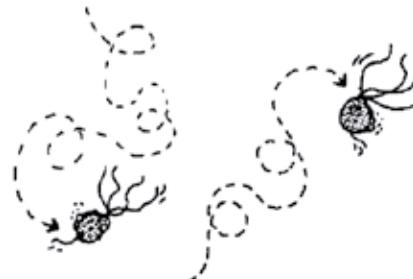
Se observa:

Tamaño: 15 μm .

Forma: redonda, globular.

Membrana ondulante: lateral.

Flagelos: cuatro flagelos.



e. Espermatozoides

Se encuentran ocasionalmente en la orina de los hombres.

Se observa:

Cabeza: muy pequeña, 5 μm

Flagelo: largo y flexible, 50 μm .

Movilidad: móviles en la orina muy fresca.

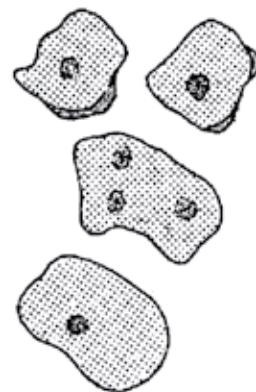


f. Células epiteliales

CÉLULAS EPITELIALES ESCAMOSAS

Provienen de la descamación, es decir, del desprendimiento de células del epitelio de los conductos y órganos urinarios.

Se originan en el uréter o en la vejiga.
Son grandes y de formas rectangulares.



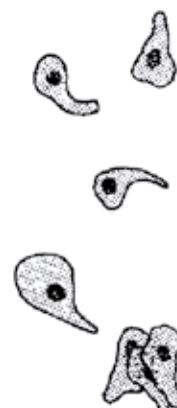
CÉLULAS DE LA VEJIGA URINARIA

Voluminosas, de forma de rombo y su núcleo se observa nítido.



CÉLULAS DE LA PELVIS RENAL

De tamaño mediano, granulosas, terminan en una prolongación que asemeja una cola corta.

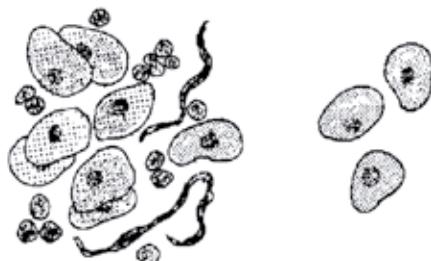


CÉLULAS DEL URÉTER Y PELVIS RENAL

Son ovales, de tamaño mediano, con núcleos visibles.

Si son abundantes y se encuentran junto con leucocitos y filamentos, es probable que provengan del uréter.

Si son escasas y no se acompañan de leucocitos pueden ser células de la pelvis renal.



CÉLULAS RENALES

Son pequeñas, granulosas y de núcleo visible.

Casi siempre se encuentran junto con las proteínas urinarias.



V

g. Cilindros

Tienen aspecto de cilindro y son alargados.

Cruzan casi todo el campo microscópico cuando se examinan con el objetivo de 40x. Se forman durante las enfermedades de los túbulos renales, que se pueden llenar de sangre, de otras células y de depósitos de sustancias químicas.

Existen diferentes tipos de cilindros:

CILINDROS HIALINOS

Se encuentran en individuos sanos después de esfuerzos musculares intensos.

Son transparentes y refractan la luz.

Sus extremos son redondeados o delgados.



CILINDROS GRANULOSOS

Provienen de células epiteliales degeneradas de los túbulos renales.

Estos cilindros son cortos, llenos de gránulos voluminosos, de color amarillo y extremos redondeados.



CILINDROS DE GRÁNULOS FINOS

Sus gránulos son más pequeños y no llenan completamente el cilindro.

No se debe confundir con los hialinos (H) que se hallan parcialmente cubiertos por cristales amorfos de fosfatos.



CILINDROS SANGUÍNEOS

Los cilindros se encuentran llenos de eritrocitos más o menos degenerados, de color castaño.



CILINDROS DE PUS (LEUCOCITARIO)

Los verdaderos cilindros de pus se llenan completamente de leucocitos (a).

Los cilindros hialinos pueden contener algunos leucocitos (b).



CILINDROS DE CÉLULAS EPITELIALES

Los cilindros se encuentran llenos de células epiteliales de color amarillo pálido.



CILINDROS GRASOSOS (GRASOS)

Son raros de encontrar, se observan en caso de enfermedades renales graves. De color amarillento, bordes festoneados, extremos redondeados.



¡ATENCIÓN!

- ◆ No se debe confundir con cilindros :
- Las acumulaciones de cristales de fosfatos, que son pequeñas y delimitadas.
- Las acumulaciones de moco translúcido, cuyos extremos se adelgazan hasta tomar forma de hilos.

V

h. Cristales

Los cristales pueden tener las siguientes formas:

- ◆ Formas geométricas uniformes (A).
- ◆ Formas amorfas, que consisten en acumulaciones de gránulos pequeños sin forma definida (B).



SEDIMENTOS NORMALES DE CRISTALES

OXALATO CÁLCICO (EN ORINA ÁCIDA)

Asemejan sobres de correo o de maní.
Tamaño: 10 - 20 μm o 50 μm .



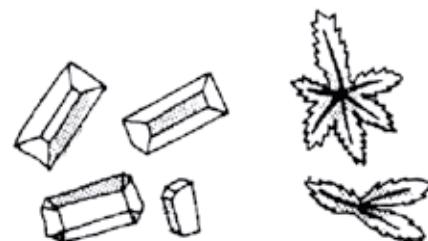
ÁCIDO ÚRICO (EN ORINA ÁCIDA)

Asemejan formas de cuadros, rombos, cubos o "rosas".
Tamaño: 30 - 150 μm .
Color: amarillo o rojo pardo.



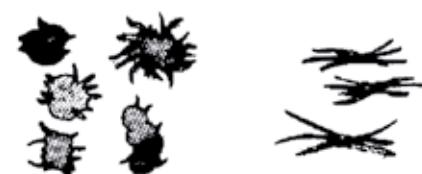
FOSFATOS TRIPLES (EN ORINA NEUTRA O ALCALINA)

De forma rectangular o semejante a hojas de helecho o estrella.
Tamaño: 30 - 150 μm .
Color: incoloro, refractan la luz.



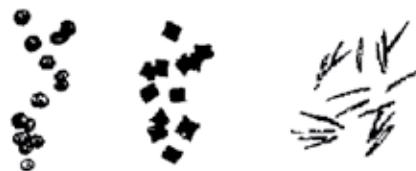
URATOS (EN ORINA ALCALINA)

Asemejan cactus o grupos de agujas, frecuentemente se encuentran junto con los fosfatos.
Tamaño: 20 μm .
Color: amarillo, refractan la luz.



BILIRRUBINA

- ◆ Es muy raro de hallarla
- ◆ **Forma:** muy pequeños, de forma cuadrada, esféricos o en agujas.
- ◆ **Tamaño:** 5 µm.
- ◆ **Color:** castaño.



SULFONAMIDAS (EN ORINA NEUTRA O ÁCIDA)

- ◆ Se observa en pacientes que están siendo tratados con sulfonamidas. Se debe notificar la existencia de estos cristales, ya que pueden causar lesiones renales.
- ◆ **Forma:** de formas variadas (ruedas o agujas).

V

CRISTALES MENOS FRECUENTES

Fosfato cálcico (en orina neutra o alcalina)

De forma estrellada.

Tamaño: 30 - 40 µm.

Color: incoloro.

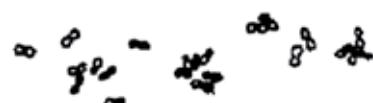


Carbonato cálcico (en orina neutra o alcalina)

Agrupados en pares, asemejan granos de maíz

Tamaño: pequeños.

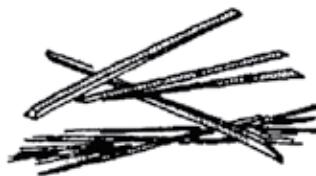
Color: incoloro.



Sulfato cálcico (en orina ácida)

Forma de prismas alargados separados o formando haces.

Tamaño: 50 - 100 µm.



CRISTALES AMORFOS

FOSFATOS AMORFOS (EN ORINA ALCALINA)

Gránulos pequeños, dispersos. Blanquecinos.



i. **Sustancias extrañas**

- ◆ Sustancias extrañas que se encuentran en el sedimento cuando:
 - Se usan recipientes o portaobjetos sucios.
 - Las muestras de orina se dejan expuestas al aire.
- ◆ Entre dichas sustancias tenemos:
 - Gotas pequeñas de aceite (refractan la luz) (a).
 - Gránulos de almidón (se tiñen de negro azulado) (b).
 - Granos de polen (c).
 - Pelos (d).
 - Fibras de algodón (e).
 - Burbujas (f).



MATERIALES

- Una centrífuga eléctrica o manual.
- Un tubo cónico de 15 mL para centrifugación.
- Una pipeta Pasteur, calibrada para que suministre 50 gotas por cada mL.
- Un portaobjetos y cubreobjetos 20 x 20 mm.

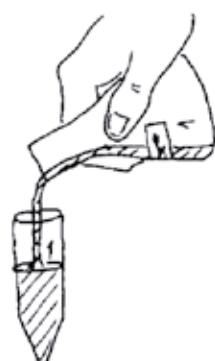


PROCEDIMIENTO

1. Mezclar la orina.



2. Verter la orina en un tubo para centrifugar hasta llenar 3/4 partes de su capacidad.
3. Centrifugar a 2 500 RPM (revoluciones por minuto) durante 5 minutos.



URATOS AMORFOS (EN ORINA ÁCIDA)

Gránulos muy pequeños, de color amarillento, agrupados en racimos compactos.

En la orina que se ha conservado en el frigorífico se suelen encontrar gruesos precipitados de uratos.



OTROS SEDIMENTOS DE CRISTALES

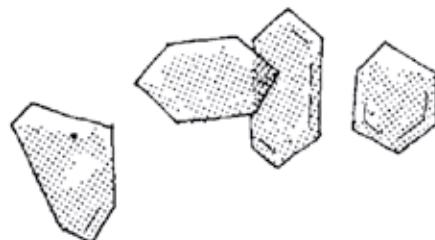
CISTINA (EN ORINA ÁCIDA)

Se encuentran en la cistinuria (enfermedad hereditaria).

Forma: laminillas hexagonales.

Tamaño: 30 - 60 μm .

Color: incoloras.

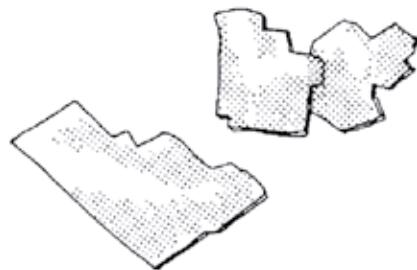


COLESTEROL (EN ORINA ÁCIDA)

Forma: laminillas cuadradas con escotaduras en un lado.

Tamaño: 50 - 100 μm .

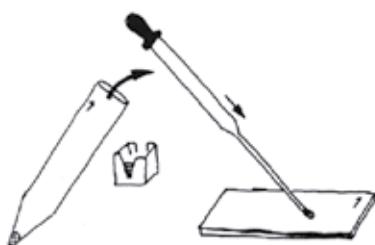
Color: incoloras.



4. Verter el sobrenadante de la orina centrifugada, invirtiendo el tubo en un vaso para análisis (no sacudir el tubo).



5. Agitar el tubo para que el sedimento forme nuevamente suspensión. Extraer algunas gotas de esta suspensión con una pipeta.



6. Colocar una gota de la suspensión en un portaobjetos y cubrirlo con el cubreobjetos. No olvidar numerar el portaobjetos con el número que contiene la muestra.

7. Examinar inmediatamente con el microscopio:

- Primero, examinar con el objetivo 10x.
- Luego, examinar con el objetivo 40x.
- No usar filtro de color.

V

GRAVEDAD ESPECÍFICA Y PH DE LA ORINA

MEDICIÓN DE LA GRAVEDAD ESPECÍFICA

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ La gravedad específica de la orina varía de acuerdo con el funcionamiento de los riñones, correspondiendo:
 - Gravedad específica elevada = Orina concentrada.
 - Gravedad específica baja = Orina diluida.
- ◆ La gravedad específica se mide por medio de un **urinómetro** calibrado de 1 000 a 1 060.
- ◆ La temperatura de la orina también se debe medir para calcular correctamente la gravedad específica.



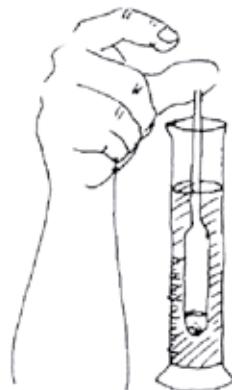
MATERIALES

- Un urinómetro.
- Un termómetro de 0 - 50 °C.
- Una probeta de 50 mL
- Muestra de orina. Se necesita por lo menos 40 mL



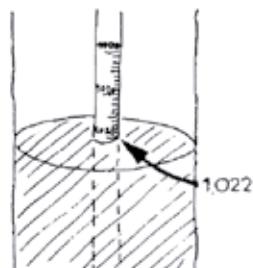
MÉTODO

1. Verter 40 mL de orina en la probeta.



2. Descender suavemente el urinómetro en la orina, y soltarlo.

3. Esperar a que el urinómetro se detenga. El urinómetro no debe tocar paredes ni el fondo de la probeta.



4. Leer la gravedad específica, que indica la escala del urinómetro en la superficie de la orina, es decir, el punto inferior del menisco.

5. Retirar el urinómetro. Medir la temperatura de la orina inmediatamente con el termómetro.

V

LECTURA Y RESULTADOS

- ♦ Tomar nota de:
 - La temperatura medida en la orina.
 - La temperatura a que se encuentra calibrado el urinómetro. Esta es habitualmente 20 °C.

- ◆ A la gravedad específica medida:

- Agregar 0,001 por cada 3 °C que mida la temperatura de la orina por arriba de la temperatura de calibración del urinómetro.
- Restar 0,001 por cada 3 °C que tenga la orina por **debajo** de la temperatura de calibración del urinómetro.

Ejemplo

- La temperatura de la orina es de 26 °C.
- La temperatura del urinómetro calibrado es de 20 °C.
- La gravedad específica medida es de 1,021.

Entonces:

La temperatura de la orina es 6 °C mayor que la temperatura de calibración del urinómetro.



Agregar a la gravedad específica:

$$6/3 \times 0,001 = 2 \times 0,001 = 0,002$$

La gravedad específica real es:

$$1,021 + 0,002 = 1,023$$

- ◆ Los resultados son:

- **Gravedad específica normal**
1,020 (variación normal: 1,010 - 1,025).
- **Gravedad específica baja**
Menos de 1,010 (en casos de trastornos renales, endocrinos. Carece de importancia si el paciente ha ingerido una gran cantidad de líquidos antes de la prueba).
- **Gravedad específica elevada**
Superior a 1,025 (en casos de pérdidas de glucosa y proteínas por la orina).

MEDICIÓN DEL pH

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ La orina normal tiene una reacción ligeramente ácida, con un pH de 6,0 aproximadamente.
- ◆ En ciertas enfermedades el pH de la orina puede aumentar o disminuir.
- ◆ Una manera práctica y rápida de determinar el pH es sumergir en la orina piezas de papel indicador de colores. El color cambia según el pH. Este papel indicador se compara con un cuadro estandarizado testigo en el que figuran las cifras correspondientes.

V

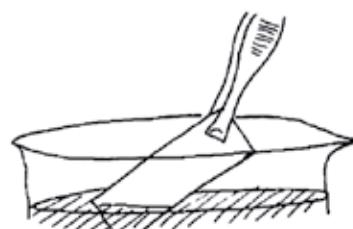
MATERIALES

- Muestra de orina fresca (recién eliminada).
- Una pinza.
- Papeles indicadores de tipo universal, para medir pH en intervalos de 1 a 10.
- Papeles indicadores de graduación limitada para intervalos de 5,0 - 7,0 y 6,0 - 8,0.

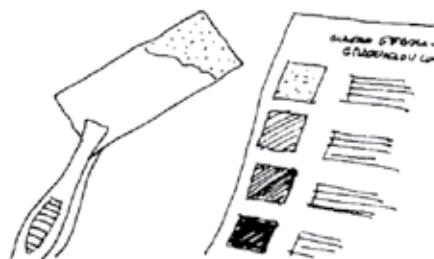


MÉTODO

- I. Tomar con la pinza la tira de papel indicador de tipo universal, el cual se sumerge 0,5 cm en la orina y se observa su color.



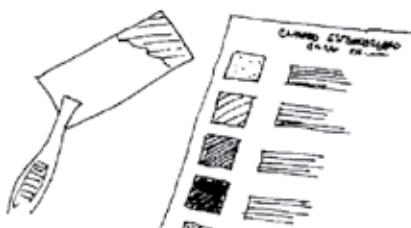
2. Comparar el color que se ha producido con los que figuran en el cuadro estandarizado. Vea la cifra del pH en la unidad cuyo color corresponda más estrechamente al de la tira de papel.



3. Según el resultado obtenido repetir el paso 1 con una tira de papel indicador de graduación limitada.

Ejemplo:

- Para pH 6: usar el papel indicador con intervalo de 5,0 - 7,0
- Para pH 8: usar el papel indicador con intervalo de 6,0 - 8,0.



4. Comparar el color producido con los que figuren en el cuadro estandarizado del papel indicador de graduación limitada.

RESULTADOS

♦ **pH normal**

Aproximadamente 6,0 (límite del intervalo normal, de 5,0 a 7,0 durante el día).

♦ **pH ácido**

4,5 - 5,5 (casos de diabetes, fatiga muscular, acidosis, etc.).

♦ **pH alcalino**

7,8 - 8,0 (en casos de infección urinaria, alimentación vegetariana, etc.).

USO DE TABLETAS Y TIRAS REACTIVAS EN LOS EXÁMENES DE ORINA

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ Son productos comerciales, y su presentación puede ser:
 - Tiras de papel reactivas que se sumergen en la orina.
 - Tabletas sobre las cuales se depositan gotas de orina.
 - Tabletas que se ponen en contacto con la orina.
- ◆ Si el resultado es positivo, hay un cambio de color en las tiras y las tabletas.
- ◆ Las ventajas de este método son:
 - Fáciles y rápidos de usar.
 - No requiere de utensilios de vidrio, balanzas o sustancias químicas.
- ◆ Las desventajas de este método son:
 - El costo de estos reactivos es alto.
 - En ciertos casos son poco estables y no reaccionan.

V

¡ATENCIÓN!

- ◆ Es necesario :
 - Seguir las instrucciones del fabricante.
 - Conservar estos productos en los lugares secos.
 - Conservar tapado el frasco que contiene estos productos inmediatamente después de usarlos.

- ◆ Cuando el resultado es positivo hay un cambio de color, dependiendo del reactivo impregnado en la tira o tableta.
- ◆ En todos los casos, sea con tiras o tabletas, se deben poner en contacto con la orina, sumergiendo las tiras o colocando gotas en las tabletas.

TABLETAS Y TIRAS REACTIVAS

a. *Detección de glucosa*

- 
- ◆ Las tiras están impregnadas con glucosa oxidasa y reactivos de color.
 - ◆ Si el resultado es positivo se forma en el papel un color violeta azulado.
 - ◆ Se puede usar para confirmar un resultado débilmente positivo que se haya obtenido por medio de métodos que no sean específicos.

b. *Detección de proteínas*

- ◆ Las tiras están impregnadas con azul de tetrabromofenol.
- ◆ Si el resultado es positivo se forma en el papel un color verde amarillento (huellas de proteínas) o verde azulado (fuertemente positivo).
- ◆ Algunos son demasiado sensibles y pueden dar resultados débilmente positivos que son falsos.

c. *Detección de sustancias cetónicas*

- ◆ Las tiras están impregnadas de pentacianonitrosilferrato (2-) sódico o nitroprusiato sódico.
- ◆ En caso de usar tabletas, esta se coloca en un recipiente y se agrega una gota de orina en la tableta. Si el resultado es positivo, se forma un color violeta en menos de 30 segundos.

d. Detección de pigmentos biliares

- ◆ Las tiras están impregnadas a base de 2-4 dicloroanilina diazotada.
- ◆ Si el resultado es positivo a la presencia de bilirrubina, adquiere un color café.

e. Detección de urobilinógeno

- ◆ Las tiras están impregnadas del p-dimetilaminobenzaldehído.
- ◆ El resultado positivo produce un color rojo.

V

PRUEBA DEL EMBARAZO

PRINCIPIOS GENERALES

- ◆ La prueba del embarazo se basa en la presencia de **gonadotrofina coriónica humana** (HCG) en la orina de la mujer embarazada.
- ◆ Actualmente se **dispone de preparados comerciales** para detectar la **HCG urinaria**, que resultan más rápidos y económicos.
- ◆ **Con este tipo de prueba** en general, **los resultados positivos** se observan a partir de 15 días después de que ha existido retraso en el período menstrual.



- ◆ Las muestras de orina se deben obtener en un frasco limpio, bien enjuagado. Si quedan huellas de un detergente, puede causar un resultado falso.



¡ATENCIÓN!

- ◆ La prueba debe realizarse sin demora, si esto no es posible, conservar la orina en la refrigeradora

MATERIALES

- Reactivo comercial para llevar a cabo la prueba.
- Un tubo de ensayo o un portaobjetos.

MÉTODOS

MÉTODO DEL TUBO DE ENSAYO

1. Seguir las instrucciones del fabricante.

2. Resultados

- **Resultado positivo**

Se observa un anillo uniforme de color rojo pardo, en el fondo del tubo.



- **Resultado negativo**

No se forma anillo. El líquido continúa siendo homogéneo



V

MÉTODO DEL PORTAOBJETOS

1. Uno de los reactivos usados se compone principalmente de una suspensión de partículas de látex.

2. Seguir las instrucciones del fabricante.

3. Resultados

- a. **Resultado negativo**

Las partículas de látex se aglutanan sobre el portaobjetos.



- b. **Resultado positivo**

No se produce aglutinación (lo impide la HCG que se encuentra en la orina de la mujer embarazada).

