



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LICENCIATURA: QUÍMICO FARMACOBIOLOGO



ÁREA ESPECÍFICA DE ANÁLISIS CLÍNICOS

MANUAL DE PRÁCTICAS DE PARASITOLOGIA I

ASIGNATURA DE: PARASITOLOGIA CLINICA I
CÓDIGO: LQF 402L
FECHA DE ELABORACIÓ: MARZO 2006
NIVEL EN EL MAPA CURRICULAR: FORMATIVO
TIPO DE ASIGNATURA: PERFIL

PROFESORES QUE PARTICIPARON EN SU ELABORACIÓN:

M.C. ALMA DELIA RAMIREZ GUARNEROS
M.C.MARIA DE LOURDES MARTINEZ MORENO
Q.F.B. SARA SILVIA DOMINGUEZ BAEZ
M.C. HILDA ALICIA CARRASCO PERAL

HORAS PRÁCTICA. 2

TOTAL DE CRÉDITOS: 0

ÍNDICE

PRÁCTICA No.	TÍTULO	PÁGINA
1	Examen Coprológico	2
2	Método Coproparasitoscópico Directo	5
3	Método C.P.S. Faust y uso del conservador P.A.F.	11
4	Método C.P.S. Ferreira	17
5	Método de concentración por sedimentación para muestras preservadas con M.I.F.	24
6	Cápsula de Beal	29
7	Observación de parásitos intestinales.	35
8	Observación de flagelados cavitarios	42
9	Observación del hemoflagelado <u>T. Cruzi</u>	47
10	Observación de flagelados tisulares	54
11	Observación del hemoparásito del paludismo	59

PRÁCTICA No. 1

EXÁMEN COPROLÓGICO. EXÁMEN MICROSCÓPICO O DESCRIPCIÓN FÍSICA DE LA MATERIA FECAL.

1.- OBJETIVOS:

- A) aprender a examinar macroscópicamente la materia fecal, para determinar : la consistencia, color, olor y la búsqueda de parásitos macroscópicos o parte de ellos, así como la presencia de sangre y moco.
- B) Conocer la importancia de dichas determinaciones para el diagnóstico de enfermedades parasitarias.

2.- INTRODUCCIÓN.

Se entiende por coprología, el estudio o análisis de las heces, y comprende la observación macroscópica y el análisis químico, bacteriológico y parasitológico de la deposición.

En el manejo de los productos biológicos va a radicar el éxito o fracaso del diagnóstico de enfermedades parasitarias. Es necesario seguir ciertos lineamientos preestablecidos para cada producto.

Las muestras mal colectadas, conservadas inadecuadamente o muy viejas, no servirán para observaciones ulteriores e incluso puede conducir a resultados erróneos o falsos.

La colecta de este material biológico se puede verificar de diferentes maneras, pero la obtenida por expulsión natural es la indicada para realizar este tipo de examen. Debiendo evitar que se mezcle con orina, agua o tierra..

3.- CARACTERES MACROSCÓPICOS.

- CANTIDAD.- Depende fundamentalmente de los residuos alimenticios procedentes de la dieta, según su contenido en verduras y frutas, es decir, en celulosa. Y de la presencia de estreñimiento o diarrea en el enfermo.
- CONSISTENCIA.- Puede ser acuosa ó líquida, blanda, pastosa o semiformada, formada y dura. Normalmente y con dieta mixta, la deposición debe ser sólida y formada, es decir cilíndrica y consistente para mantener esta forma después de ser excretada.
- COLOR.- Normalmente y con dieta mixta, la deposición es de color pardo o café marrón mas o menos oscuro en el adulto, en niños debido a la dieta Láctea es amarillenta, con dieta carnea se hace marrón oscuro. Una alimentación rica en verduras, tiñe las heces de color verdoso, mientras que si preponderan papas o pan las heces se aclaran a marrón amarillento.
- OLOR.- El olor fecal característico, se hace fétido en todos los procesos que cursan con putrefacción de las proteínas ingeridas o endógenas, dado por productos aromáticos originados por la acción de microorganismos de fermentación o de putrefacción que actúan sobre carbohidratos y proteínas como el indol y el escatol.
- MOCO.- Su aparición en las deposiciones suele ser reconocible macroscópicamente. Si se encuentra finamente dividido y mezclado en las heces, dándole un color brillante , entonces procede del intestino delgado a diferencia del moco en copos visibles tiene un origen mas bajo y sobre todo el que se observa en tira tiene un origen en el colon distal.

- SANGRE.- Su presencia es anormal debida a una acción traumática por algún agente infeccioso. Se puede encontrar fresca dándole una coloración rojo brillante cuando los daños son en el colon o bien encontrarse metabolizada, proporcionándole a las heces un color rojo oscuro o negrusco cuando los daños son a nivel de intestino delgado.
- PRESENCIA DE PARÁSITOS MACROSCÓPICOS.- Algunos parásitos como Áscaris lumbricoides pueden ser observados a simple vista, los oxiuros pueden hallarse en la superficie inicial de las heces, algunos otros parásitos pueden salir como fragmentos como las tenias y es necesario buscarlos en la totalidad de la muestra.

MÉTODO:

Realice la toma de muestra, es importante señalar para este tipo de estudio no se debe agregar ningún conservador a la materia fecal para realizar la recolección y transporte.

Realizar el examen macroscópico tomando en cuenta todas las características mencionadas.

Forma de reportar: la presencia los tres últimos parámetros se reportan como: Contiene o bien, no contiene.

AUTOEVALUACIÓN:

- ¿De cuales formas se puede realizar la toma de muestra fecal?

RESULTADOS:

DISCUSIÓN: De acuerdo a las observaciones realizadas, haga un discusión antes de salir del laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA: anote la bibliografía que consultó, para estudiar sobre la práctica y resolver el cuestionario.

PRACTICA No. 2.

MÉTODO C.P.S. DIRECTO O EN FRESCO.

I.- INTRODUCCIÓN:

Como sabemos uno de los primeros microscopistas fue Antón Van Leewenhoek y a mediados del siglo XVII fue el primero en utilizar este método al observar directamente en sus propias heces fecales, trofozoitos de Giardia lamblia.

El método que necesita menos equipo y el más sencillo de realizar, corresponde a las preparaciones húmedas, que se hacen directamente con muestras de heces. Para las preparaciones directas de heces frescas o no preservadas, los exámenes ordinarios se hacen con solución salina isotónica y lugol. Si se emplean heces preservadas, el formol sirve de diluyente.

Las preparaciones no teñidas son de especial valor para el estudio de parásitos vivos, como trofozoitos de protozoarios móviles, huevos de helmintos y larvas de nematodos. El lugol se emplea principalmente para la búsqueda e identificación de quistes y larvas, con base a sus características.

La mezcla normal en el tracto intestinal por lo general no asegura una distribución uniforme de trofozoitos de protozoarios móviles, huevos de helmintos y larvas de nematodos. Sin embargo el examen de materia fecal directo o en fresco puede revelar o no parásitos, dependiendo de la intensidad de la infección.

II.- FUNDAMENTO.

La solución salina isotónica dá las condiciones adecuadas para que la célula se mantenga viva. El medio ideal para todo tipo de parásito que pueda encontrarse en las muestras de heces, en cualquier etapa de su desarrollo, es la solución salina fisiológica, y el lugól en la práctica ha demostrado su eficacia para la tinción e identificación de parásitos intestinales.

III.- MATERIAL.

- Muestra fecal
- Aplicadores de madera
- Portaobjetos de 25 X 76 mm.
- Cubreobjetos
- Solución salina isotónica
- Lugól parasitológico.

IV.- TÉCNICA.

- En un portaobjetos colocar una gota de solución salina isotónica
- Con la punta del aplicador tomar una pequeña muestra de aproximadamente 1 a 4 mg. de heces, en muestras con moco y sangre elegir esta parte para estudiar.
- Mezclar , procurando hacer una suspensión en preparación delgada y no un frotis.
- Quitar de la suspensión fibras y otros fragmentos grandes.
- Colocar el cubreobjetos lentamente procurando no dejar burbujas
- Examinar al microscopio en forma sistemática, a seco débil y a seco fuerte.
- Repetir la operación con una gota de lugól en lugar de la de solución salina.

FORMA DE REPORTAR.

Primero se escribe la fase o estadio y enseguida el nombre del parásito, con el genérico iniciando con mayúscula y el específico con minúscula, subrayándolo o escribiendo con otro tipo de letra. Por ejemplo:

Huevos de Ascaris lumbricoides

V.- VENTAJAS Y DESVENTAJAS.

A) Ventajas.

- La sencillez y rapidéz para llevar a cabo este método, además de la economía en su realización.
- Ambos tipos de montaje se pueden preparar en un mismo portaobjetos
- Esta técnica es la más útil para encontrar trofozoitos de amibas y flagelados.
- Permite observar la movilidad de los organismos, la cual con mucha frecuencia es característica y sirve para hacer identificación exacta.

B) Desventajas.

- Las preparaciones con lugol, pueden destruir las formas sensibles como los trofozoitos.
- La muestra utilizada es tan pequeña que es poco representativa.

VI.- PRECAUCIONES.

- Una preparación satisfactoria debe tener densidad ligeramente opaca, pero ser lo bastante delgada que permita leer las letras a través de esta.
- Se deben ver perfectamente los elementos en la preparación, sin que se dificulte la observación por el exceso de burbujas y detritos microscópicos.
- En heces líquidas y semilíquidas hay que seleccionar el moco sanguinolento o los esfáculos delgados del tejido y en heces formadas, hacer raspados para obtener material de la superficie en varias partes de la masa fecal.
- Utilizar intensidad lumínica baja.
- Examinar por lo menos tres muestras antes de considerar negativos los resultados.
- La materia fecal es potencialmente infectante, por lo que se deberá tener los cuidados necesarios para su manejo.

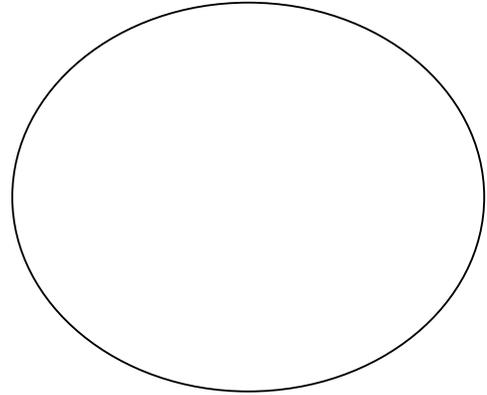
VII.- AUTOEVALUACIÓN.-

- ¿Que es la solución salina isotónica?

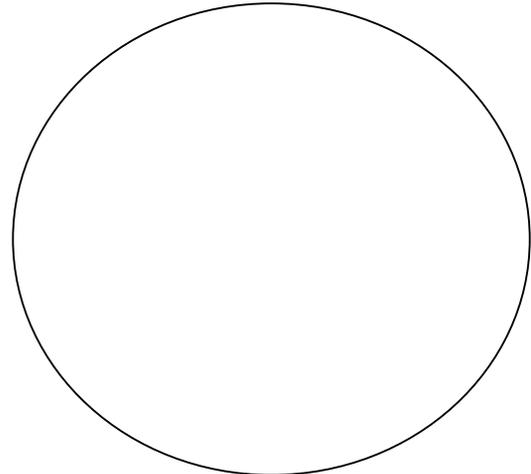
OBSERVACIONES.-

Haga esquemas de sus observaciones, anotando lo siguiente:

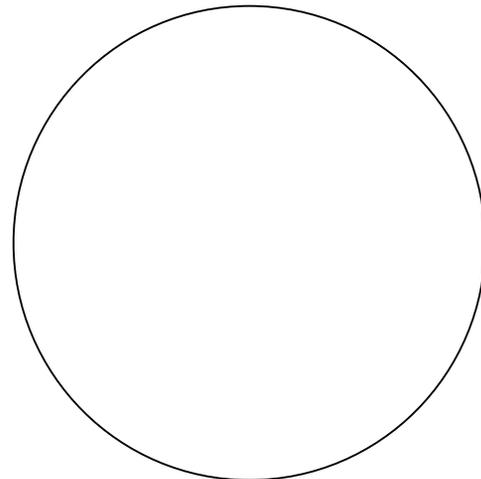
- a) Género y especie del parásito.
- b) Estadio vital
- c) Aumento utilizado.
- d) Estructuras observadas.



- e) Género y especie del parásito.
- f) Estadio vital
- g) Aumento utilizado.
- h) Estructuras observadas



- i) Género y especie del parásito.
- j) Estadio vital
- K) Aumento utilizado.
- L) Estructuras observadas.



DISCUSIÓN.-

Con los resultados observados durante el desarrollo de la práctica haga una breve discusión.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA POR EL ALUMNO:

PRÁCTICA No. 3

MÉTODO C.P.S. DE FAUST Y USO DEL CONSERVADOR PAF.

I. INTRODUCCIÓN

El método coproparasitoscópico de Faust fue descrito en 1938 basándose en los siguientes antecedentes:

- ☆ La flotación con salmuera originalmente dada por Bass en 1906 usada para la recuperación de huevos de helmintos.
- ☆ En 1910, el mismo Bass introdujo la centrifugación en su técnica de flotación con salmuera.
- ☆ En 1924, Lane ideó un refinamiento para la técnica combinada de centrifugación-flotación con salmuera que consistió en realizar el lavado del sedimento antes de centrifugar con la salmuera.
- ☆ Faust y Cols posteriormente realizaron pruebas con diferentes soluciones encontrándose que la solución de sulfato de zinc con densidad de 1.18° Baumé, era un medio adecuado para la flotación de quistes de protozoarios y nuevos helmintos.

Esta técnica es la preferida por la generalidad de los laboratorios de análisis clínicos.

II. FUNDAMENTO

Este método combina los principios de flotación y gravitación. Se basa en la densidad del sulfato de zinc que es de 1.18° Baumé, que por tener mayor peso que algunas formas parasitarias ocasiona que éstas floten, además no produce deformación de los mismos.

III. MATERIAL

Muestra fecal.
Sulfato de zinc (d= 1.18° Baumé).
Lugol (parasitológico).
Vasos de precipitado de aproximadamente 50 ml.
Tubos de vidrio de 13 x 100 mm.
Gradilla.
Embudo de 7.5 cm de diámetro.
Coladera.
Portaobjetos de 25 x 76 mm.
Cubreobjetos de 22 x 22 mm.
Aplicadores de madera.
Asa de alambre terminada en círculo de 3 a 5 mm de diámetro y formando un ángulo recto con el resto del alambre.
Mechero.

IV. TÉCNICA

- a) Se hace una suspensión homogénea con aproximadamente 1 g de materia fecal y 10 ml de agua. En caso de utilizar conservador: la suspensión puede ser mantenida a temperatura ambiente por tiempo prolongado.
- b) Se filtra la suspensión a través de la coladera colocada en el embudo, colectando el filtrado directamente en el tubo.
- c) Se centrifugan los tubos a 2,000 rpm durante un minuto.
- d) Se decanta el sobrenadante y se resuspende el sedimento con agua. Se centrifuga nuevamente. Se repite la misma operación hasta que el sobrenadante se observe limpio.
- e) Se decanta el sobrenadante, se agrega 2 ó 3 ml de solución de sulfato de zinc 1.18° Baumé, resuspende todo el sedimento, se completa todo el volumen con más solución de sulfato y se centrifuga a 2,000 rpm durante un minuto.
- f) Con el asa recién flameada se recoge la muestra de la película superficial que se encuentra en el menisco y se deposita en el portaobjetos; que previamente tenía una gota de lugol parasitológico, se mezcla con un ángulo de cubreobjetos y se recubra con el mismo.
- g) La preparación se observa con objetivos de 10X y 40X.

FORMA DE REPORTAR

Primero se escribe la fase o estadio y enseguida el nombre del parásito con su nombre genérico con mayúscula, y el específico con minúscula subrayando ambos. Por ejemplo: Quistes de Giardia lamblia.

V. VENTAJAS Y DESVENTAJAS

A) VENTAJAS

Es económico.

Fácil de realizar.

No requiere de mucho tiempo para su realización.

Hace una buena concentración de quistes, huevos y larvas, es la técnica preferida por la generalidad de los laboratorios. (33).

B) DESVENTAJAS

- ✗ En los casos de huevos más pesados como los de Taenia sp., tremátodos y de Ascaris infértiles, frecuentemente falla, por lo que se debe recurrir a métodos de sedimentación.

VI. PRECAUCIONES

- Es necesario verificar la densidad de la solución de sulfato de zinc periódicamente, o de preferencia prepararla cada tercer día, según el volumen de trabajo diario. (29, 33).
- La obtención de la muestra por examinar con el asa de alambre, se debe hacer enseguida de la centrifugación, pues la permanencia de las formas parasitarias por más de una hora en la solución puede provocar su deformación y sedimentación. (28, 33).
- El material biológico con que se trabaja es potencialmente infectante, por lo que se recomienda utilizar abundante detergente y agua para el lavado del material y de la zona de trabajo. (33).

VII. AUTOEVALUACIÓN

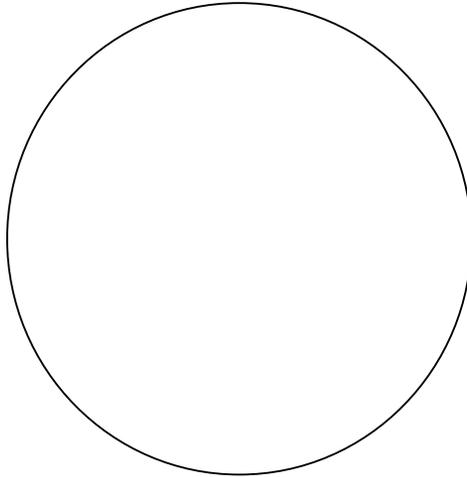
- 1) ¿Si en la técnica de Faust tomamos una gota de sedimento, se encontrarían estructuras parasitarias?
- 2) ¿Por qué se tiene que checar la densidad del sulfato de zinc antes de empezar a trabajar?

MÉTODO C.P.S. DE FAUST



OBSERVACIONES

Haga esquemas de lo observado el microscopio, considerando el círculo marcado como el campo del microscopio. anotando lo siguiente:

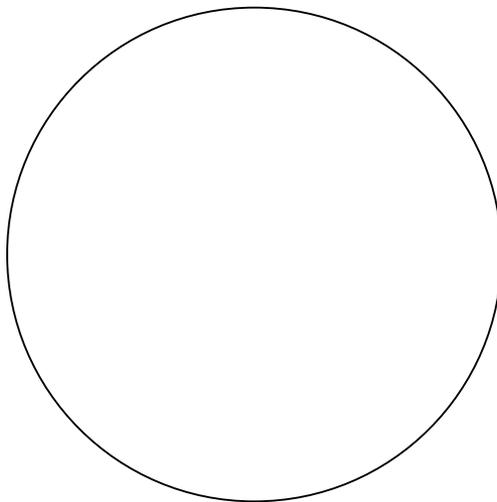


a) Género y especie del parásito:

b) Estadio vital:

c) Aumento utilizado:

d) Estructuras observadas:



a) Género y especie del parásito:

b) Estadio vital:

c) Aumento utilizado:

d) Estructuras observadas:

DISCUSIÓN:

Haga una breve discusión con los resultados obtenidos en la práctica.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA POR EL ALUMNO.

PRÁCTICA No. 4

MÉTODO C.P.S. DE FERREIRA

I. INTRODUCCIÓN

Fue traído por primera vez a México por el Dr. Maximiliano Ruiz Castañeda del Brasil en el año de 1942, y montado en el departamento de Parasitología del Hospital Infantil de México y posteriormente descrito por Biagi y Portilla en 1957.

En la actualidad a pesar de los buenos resultados se utiliza poco, por los problemas de material y equipo que no se puede conseguir fácilmente en el comercio. Tomando en consideración estos inconvenientes, en 1988 surge la idea de realizar una modificación cuantitativa de la técnica de Ferreira que permitiera tener la misma calidad y eficiencia del método original, y que además se pudiera adaptar a cualquier laboratorio.

II. FUNDAMENTO

Este método se basa en una combinación de los principios de flotación y de gravitación, debido a que el sulfato de zinc en solución 1.192° Baumé, por tener mayor densidad que los huevos y larvas de helmintos y quistes de protozoarios, permite que estos floten, sin producir retracción de los mismos, fenómeno que se acelera por la centrifugación, además, mediante un dispositivo especial, la campana de Ferreira, obtenemos una buena concentración de formas parasitarias.

III. MATERIAL

PARA LA TÉCNICA ORIGINAL

Muestra fecal.
Vasos de precipitado de 100 ml.
Tubos de ensaye de 50 ml.
Coladera (embudo con gasa doblada en cuatro).
Campana de Ferreira.
Portaobjetos.
Cubreobjetos de 22 x 40 mm.
Probeta de 50 ml.
Vortex.

PARA LA TÉCNICA MODIFICADA DE FERREIRA

Muestra fecal.
Gradilla.
Vasos de precipitado de 100 ml.
Tubos de ensaye de 15 x 100.

Abatelenguas.
Embudo.
Coladera
Campanas de Ferreira.
Pizetas.
Portaobjetos.
Cubreobjetos de 22 x 40 mm.
Probeta de 10 ml. (pipeta de 10 ml).
Sulfato de zinc (d= 1.192° Baumé).
Agua formalada al 10%.
Lugol parasitológico.
Aplicadores de madera.

IV.- TÉCNICA

A) TÉCNICA ORIGINAL (No se realiza)

- Se pesa un frasco de boca ancha junto con un abatelenguas.
- Se pone el material fecal, ayudándose con el abatelenguas, hasta que sean 4 g de heces.
- Se miden 36 ml de solución de formaldehído y se vacían en el frasco.
- Se homogeniza la materia fecal con la solución de formol hasta que quede una suspensión.
- Se pesa la mezcla por malla o grasa previamente colocada en un embudo y se recibe la suspensión en un tubo colocado en una gradilla.
- Se centrifuga durante un minuto a 2,000 rpm.
- Se decanta el sobrenadante, se resuspende el sedimento con agua y se vuelve a centrifugar bajo las mismas condiciones anteriores.
- Se decanta nuevamente el sobrenadante y se agregan 2 a 3 ml de solución de sulfato de zinc, se mezcla hasta hacer una nueva suspensión.
- Se introduce la campana de Ferreira, dándole un pequeño giro.
- Se llena el tubo con más solución, procurando que tanto el menisco interno (de la campana) como el externo vayan subiendo paralelamente.
- Se centrifuga a 2, 000 rpm durante un minuto.
- Se saca el tubo de la centrifuga y con el pulgar y el índice, se comprime fuertemente el trocito de manguera de caucho del extremo anterior de la campana y de un golpe se saca ésta del tubo.
- Se invierte la campana sobre el portaobjetos, y se ponen de 2 a 3 gotas de lugol, de tal manera que arrastren el contenido de la parte estrecha de la campana, que es donde se encuentran las formas parasitarias.
- Se homogeniza la suspensión con el ángulo del cubreobjetos y se coloca éste sobre el portaobjetos.
- Se examina la preparación con el microscopio a seco débil y seco fuerte, cuando sea necesario.
- Se cuentan todos los huevos de la totalidad de la preparación.

B) TÉCNICA MODIFICADA

- * Se hace una suspensión de materia fecal: Se tara un frasco de boca ancha con abatelenguas, se pesa un gramo de materia fecal y se le agregan 9 ml de agua formolada al 10% y se homogeniza.
- * Filtración de la suspensión: Previamente colocado el tubo de ensaye en la gradilla y sobre éste el embudo con la coladera, se vierte toda la suspensión.
- * Centrifugación de la suspensión: El tubo de ensaye se introduce en la centrífuga y se lleva a 2,000 rpm durante un minuto, se saca, se decanta el sobrenadante, se añade agua para resuspender el sedimento y se vuelve a centrifugar. Se repite esta operación hasta obtener un sobrenadante limpio.
- * Centrifugación de la suspensión con sulfato de zinc: Se decanta el sobrenadante del paso anterior y se agrega de 2 a 3 ml de sulfato de zinc con densidad de 1.192° Baumé, se agita con el vortex hasta resuspender el sedimento, se introduce en el tubo de la campana de Ferreira, se completa con la solución de sulfato de zinc hasta cubrir el tallo de la campana.
- * Obtención de la muestra para examinar: Terminada la centrifugación se saca el tubo de ensaye, se toma la campana presionando el tubo de caucho con los dedos índice y pulgar, se invierte la campana sobre un portaobjetos, se agregan de 2 a 3 gotas de lugol por la parte ancha de la campana, se mezcla con la orilla de un cubreobjetos y se deja caer sobre el producto.
- * Preparación lista para observarse en el microscopio. Se examina la preparación con el microscopio a seco débil y seco fuerte cuando sea necesario. Se cuentan todos los huevos y larvas de la totalidad de la preparación.

FORMA DE REPORTAR

El total de huevos o larvas hallados se multiplica por 21 en la técnica original ó por 5 en la técnica modificada; se obtiene de esta manera el número de huevos o larvas por gramo de heces.

Ejemplo: 5 huevos x 21= 105, o sea, 105 h.g.h. de Ascaris lumbricoides.

V. VENTAJAS Y DESVENTAJAS

A) VENTAJAS

Reúne las características de C.P.S. de concentración y de un cuantitativo.

Sirve para el recuento de larvas, huevos y hace una muy buena concentración de quistes.

B) DESVENTAJAS

- ✗ El equipo y material que se usa no se puede conseguir fácilmente en el comercio.
- ✗ Es más laborioso y requiere de más tiempo para su realización que el de Faust.
- ✗ El factor por el que se multiplica para obtener la cuenta final de huevos o larvas por gramo de heces, no ha sido aclarado en la descripción de esta técnica.

VI. PRECAUCIONES

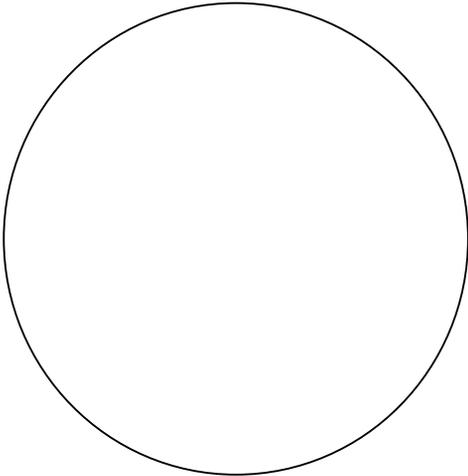
- Se debe verificar la densidad del sulfato de zinc periódicamente, para evitar errores de concentración.
- Se lavarán perfectamente bien las campanas, poniéndolas por lo menos una vez al mes en mezcla crómica.
- Verificar que la manguerita de caucho no esté rota.
- Debido a que se trabaja perfectamente con la materia fecal que es potencialmente infectante, se debe lavar muy bien el área de trabajo.

VII. AUTOEVALUACIÓN

- 1) ¿En la técnica de Ferreira original, por qué se multiplica el número de huevos y larvas encontrados por un factor 21?
- 2) ¿Por qué se hace el filtrado de las suspensiones de las heces?
- 3) ¿Para qué se utiliza la campana?
- 4) ¿Por qué se vierte la campana en el momento de agregar el lugol?
- 5) Describa la técnica paso a paso.

OBSERVACIONES:

Haga esquemas de lo observado al microscopio anotando lo siguiente:

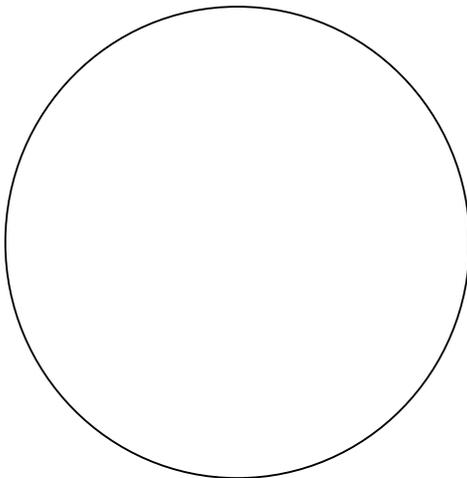


a) Género y especie del parásito:

b) Estadio vital:

c) Aumento utilizado:

d) Estructuras observadas:



a) Género y especie del parásito:

b) Estadio vital:

c) Aumento utilizado:

d) Estructuras observadas:

DISCUSIÓN:

Haga una breve discusión con los resultados obtenidos en la práctica.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA POR EL ALUMNO

CUESTIONARIO DE LA PRÁCTICA No. 3

**MÉTODO COPROPARASITOSCÓPICO DE FAUST Y EL USO DEL
CONSERVADOR PAF**

- 1.-¿Cuál es el fundamento de este método?
- 2.-¿Cuál es la utilidad del método de Faust?
- 3.- Diga las limitaciones del método.
- 4.-¿Qué densidad debe tener el sulfato de zinc?
- 5.- Se utiliza este método para encontrar formas sensibles. ¿Por qué?
- 6.-¿Qué finalidad tiene el hacer lavados con agua?
- 7.- Mencione qué aumento se utiliza para la búsqueda de a) protozoarios, b) helmintos. ¿Por qué?
- 8.-¿Qué precauciones deben tomarse en cuenta al practicar este método?
- 9.-¿Cuáles son las desventajas de este método?
- 10.- ¿Cuáles son los componentes del conservador PAF?

CUESTIONARIO DE LA PRÁCTICA No. 4

MÉTODO COPROPARASITOSCÓPICO DE FERREIRA

- 1.-¿Cuál es el fundamento de este método?
- 2.-¿Cuál es la utilidad del método?
- 3.- Mencione algunas limitaciones
- 4.-¿Qué precauciones se deben tomar para trabajar esta técnica?
- 5.-¿Cuál es el factor de corrección de Ferreira y de donde se obtiene?
- 6.- Describa brevemente la técnica.(atrás)
- 7.-¿En qué forma se reporta?
- 8.- Cite algunas ventajas del C.P.S. de Ferreira.
- 9.-¿Qué densidad debe tener el sulfato de zinc?
- 10.-Haga un esquema de la campana de Ferreira.

PRACTICA 5.

“METODO C.P.S. DE CONCENTRACION DE MUESTRAS PRESERVADAS CON M.I.F (MIFC).

I.- INTRODUCCION:

Esta técnica fue propuesta por Blagg y colaboradores en 1955 en su mayor parte semejante a la técnica de formol – éter, pero se utiliza una solución MIF en lugar de formol. Sin embargo el alcohol y la acetona de la tintura del mertiolate reducen la densidad del líquido, lo que puede aumentar la concentración de los huevecillos.

II.- FUNDAMENTO

Se basa en el empleo de sustancias de menor peso específico que de las formas parasitarias, permitiendo que estas sedimenten con la previa utilización del preservador MIF el cual sirve además para la tinción de las formas parasitarias. (6, 9,33).

III.- MATERIAL

- Muestra fecal
- Tubos cónicos de centrifuga de 15 ml
- Pipeta Pasteur
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tapón de caucho
- Aplicadores de madera
- Algodón y gasas cortadas en cuadros de 15 cm. de lado, embudo, coladera.
- Gradilla
- Eter etílico anhidro
- Solución MIF

IV.- TÉCNICA

1. Mezclar una cantidad de muestra fecal aproximadamente del tamaño de una nuez con 4.7 ml de solución MF (solución “A”) , homogeneizar y agregar 0.3 ml de lugol (solución “B”) al menos 24 horas antes de realizar la técnica.

- 2.- Mezclar la suspensión fecal MIF y pasarla a través de la coladera húmeda en MIF a tubo cónico de centrifuga .Si no es suficiente la muestra, se añade mas preservador hasta la marca de 10 ml y se agita para homogeneizar.
- 3.- Se le agrega 3 ml de éter, se tapa el tubo con el tapón de caucho y se agita con cuidado, pero vigorosamente, durante un minuto.
- 4.- Después de agitar se deja reposar 5 segundos, se quita el tapón con cuidado y se centrifuga a 1,500 RPM durante un minuto.
5. Después de centrifugar se forman cuatro capas: a) éter, b) restos fecales c) solución MIF d) sedimento, con las formas parasitarias si las hay.
6. Se desprende con mucho cuidado el tapón de restos fecales con el aplicador y se decanta dejando el sedimento, antes de enderezar el tubo, con un hisopo en un aplicador de madera, se limpian las paredes del tubo.
7. Con una pipeta Pasteur se toma la muestra de la parte superior del sedimento se coloca en un portaobjetos que tenga previamente una gota de MIF, se homogeniza con la punta del cubreobjetos y se cubre.
8. Se examinan al microscopio con objetivos de seco débil y seco fuerte.

FORMA DE REPORTAR

Para reportar los hallazgos en las preparaciones, primero se escribe la fase o estadio y enseguida el nombre del parásito con su nombre genérico en mayúscula y el específico con minúscula, subrayando ambos. Por ejemplo:

Huevos de Ascaris lumbricoides.

V.- VENTAJAS Y DESVENTAJAS

A) VENTAJAS

Esta técnica permite hacer una buena concentración de huevos, quistes y larvas; personas muy experimentadas en el manejo de esta técnica han descrito concentración también de trofozoitos, aunque algunos otros investigadores señalan que estos pueden destruir con el éter y a pesar de que halla sido previamente fijados y conservados con el MIF.

B) DESVENTAJAS

- Hasta el momento solo el costo de los reactivos
- Los tubos cónicos son caros y difíciles de encontrar en el mercado.

VI.- PRECAUCIONES

- La materia fecal es potencialmente infectante por lo que se tendrán los cuidados necesarios para su manejo.
- Asegurarse de que el preservador MIF haya estado en el tiempo necesario con la muestra fecal para que nuestro objetivo de teñir las estructuras parasitarias se cumpla.

VII.- AUTOEVALUACION

1. Para que el preservador MIF haga una buena tinción de parásitos, ¿Que tiempo debe estar el conservador MIF mezclado?
2. ¿Para que relimpian las paredes de tubo antes de enderezarlo después de decantar?
3. ¿Para que se coloca una gota de solución MIF en el portaobjetos antes de poner la gota del sedimento con la pipeta Pasteur?
4. ¿Que papel desempeña el éter en esta técnica?
5. Con base al esquema siguiente describa la técnica paso a paso.

OBSERVACIONES:

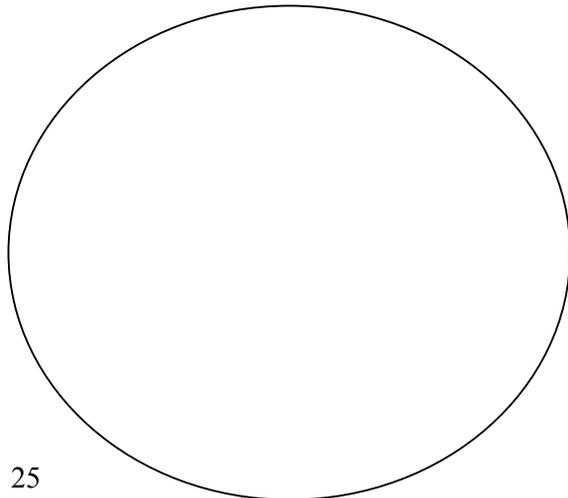
Haga esquemas de lo observado al microscopio anotando lo siguiente:

a) Género y especie del parásito:

b) Estadio vital:

c) Aumento utilizado:

d) Estructuras observadas:

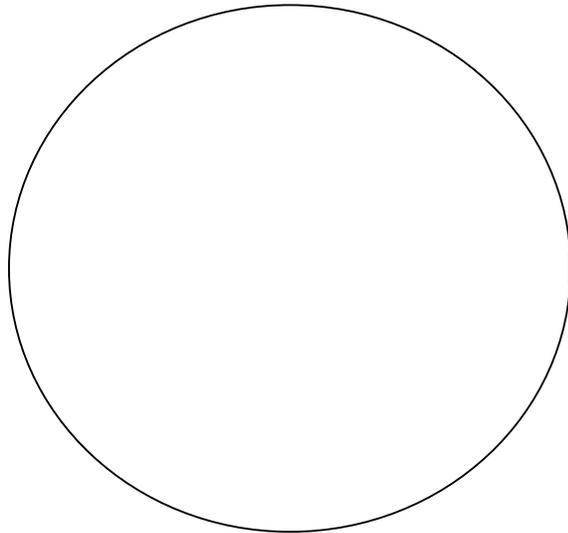


a) Género y especie del parásito:

b) Estadio vital:

c) Aumento utilizado:

d) Estructuras observadas:



DISCUSIÓN:

Haga una breve discusión con los resultados obtenidos en la práctica:

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA POR EL ALUMNO:

CUESTIONARIO DE LA PRACTICA 5

METODO DE CONCETRACION POR SEDIMENTACION PARA MUESTRAS PRESERVADAS CON MIF (MSMIF) O (MIFC)

1. ¿Cuál es el fundamento de este método?
2. ¿Cuál es su utilidad?
3. Mencione sus limitaciones
4. ¿Cuáles son las 4 capas que se forman?
5. ¿Qué sustancias tiene el conservador MIF?
6. ¿Cómo se realiza la recolección de la muestra en el conservador?
7. ¿De cual método es este una modificación?
8. ¿Por qué se utiliza pipeta Pasteur?
9. ¿Se pueden encontrar trofozoitos?
- 10.-¿ Como debe hacerse la agitación?

PRACTICA 6

CAPSULA DE BEAL

I.- OBJETIVO:

- Conocer el método de laboratorio para la obtención de contenido duodenal.
- Realizar la búsqueda de parásitos de la primera porción del intestino delgado.

II.- INTRODUCCION

La cápsula de Beal también conocida como enterotest o cápsula duodenal. El 1º de septiembre de 1969 Charles Beal diseñó una nueva técnica para la detección de parásitos duodenales con una muestra pequeña de contenido duodenal. Consiste de una cápsula farmacéutica de gelatina rígida en la cual van contenidos 2 tipos de hilos.

Los hilos miden aproximadamente 90 cm. de largo del cual 20 cm. es de nylon, sirve como estructura fija para que el hilo absorbente llegue con mayor facilidad a su destino, ambos se encuentran enrollados en forma de espiral continua dentro de la cápsula de gelatina. Las cápsulas están formadas en su interior de silicón, que es un material flexible, no soluble en la parte posterior de la cápsula, lleva un GRS de lastre que se encuentra fijado de tal manera que se desprende en cuanto se jale el hilo. En la tapa que de la cápsula se encuentra un pequeño orificio en la cual se asoma el hilo de nylon terminando en una gasa esta será atado al costado de la cara del paciente para hacer un estudio. El paciente se toma la cápsula como cualquier otra cápsula.

Con la cápsula de Beal, obtenemos muestras de contenido duodenal, en la cual puede realizarse el hallazgo de parásitos cuyo hábitat sea el duodeno o bien parásitos cuyos huevecillos caen en duodeno tales como:

GIARDIA LAMBLIA (trofozoito)

FASCIOLA HEPATICA (huevecillo)

UNCINARIAS (huevecillos o adultos)

STRONGYLOIDES STERCOLARIS (huevos, larvas o adultos)

III.- TÉCNICA.

El procedimiento para la obtención del espécimen es el siguiente:

1.- Con el paciente sospechoso en ayunas y sentado, se le ofrece un poco de agua para humedecer la boca y garganta, en seguida se le ofrece la cápsula para ser administrada con agua o té caliente por vía oral.

2.- Se fija el asa del hilo a la cara del paciente con cinta adhesiva durante 2.5 horas pudiendo el paciente deambular o recostarse sobre su lado derecho.

3.- Cuando la cápsula es deglutida ,desciende al estomago disolviéndose la gelatina y liberando el hilo junto con el lastre ,el cual tiene como función dirigir el hilo con la ayuda de los movimientos peristálticos hasta el duodeno.

4.- Para sacar el hilo el paciente debe levantar el mentón y abrir la boca, el hilo se jala rápida y firmemente. Durante la remoción del hilo , el lastre se separa y es eliminado por las heces sin ninguna molestia.

5.- Al recuperar el hilo absorbente se observa impregnada de un material verde amarillento, característico del contenido duodenal, este material se exprime con la ayuda de guantes, obteniendo así de 4 a 5 gotas, que se depositan en un portaobjetos, se cubre y se observa al microscopio.

MATERIAL

Un paciente sospechoso

1 cápsula duodenal

1 par de guantes

1 portaobjetos y un cubreobjetos

1 microscopio

DISCUSIÓN:

Haga una breve discusión:

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA POR EL ALUMNO:

CUESTIONARIO DE LA PRACTICA 6

CAPSULA DE BEAL

1. ¿A que tipo de métodos pertenece la cápsula de Beal?
2. ¿Cuál es su utilidad?
3. ¿Cuál es el fundamento de la cápsula de Beal?
4. Cuales son las condiciones que debe tener el paciente para hacer la toma de muestra?
5. De acuerdo a este tipo de diagnostico ¿Qué tipo de parásitos se pueden identificar?
6. Mencione los componentes de cápsula y haga un dibujo
7. ¿Cuántos tipos de cápsula existen y cuales son?
8. ¿Cuáles son los factores que influyen en el viaje de la cápsula duodenal hasta su destino?
9. ¿Cómo debe extraerse el hilo?
10. ¿Cómo se debe extraer el líquido que contiene el hilo?

PRACTICA No. 7 OBSERVACION DE PARASITOS INTESTINALES.

OBJETIVO GENERAL. El alumno aprenderá a identificar en base a las características morfológicas algunas especies de parásitos intestinales.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- A) Conocerá las ventajas que presenta el uso de técnicas de tinción, para el diagnóstico de protozoosis.
- B) Observará la morfología del trofozoito de Balantidium coli en un corte histológico de intestino grueso, tenido con hematoxilina-eosina.
- C) Observará la morfología de Entamoeba histolytica y de Entamoeba coli en estadio vital de quiste y trofozoito, en un frotis de heces tenido con hematoxilina férrica.
- D) Observará la morfología de huevecillos y parásitos adultos de helmintos intestinales; Ascaris lumbricoides y Taenia sp.

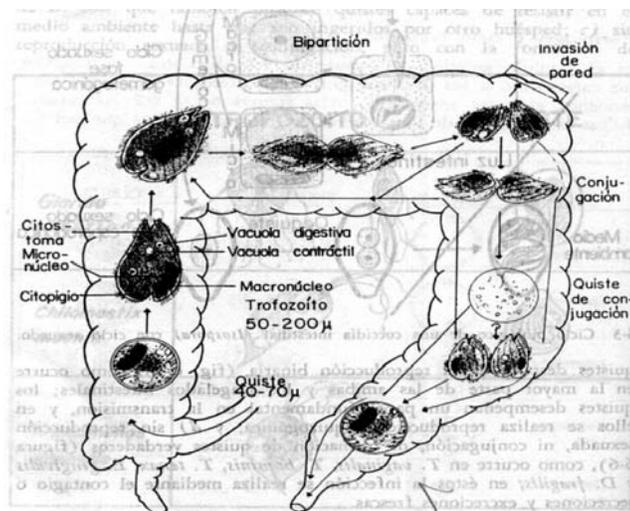
INTRODUCCION.

BALANTIDIUM COLI.

Morfología.- El trofozoito tiene forma oval, mas ancho en el polo posterior que en el anterior, su talla varía entre 30 y 200 micras, su membrana está surcada con estrías ligeramente oblicuas, paralelas entre sí y al eje mayor del cuerpo, en las que están implantadas gran número de pestañas cortas y finas, cerca del extremo anterior está el peristoma cuya abertura se prolonga hacia el interior y forma un conducto corto: la citofaringe tapizada con pestañas más largas que las de la superficie del cuerpo. El citoplasma comprende una estrecha capa clara de ectoplasma y el endoplasma granuloso, con varias vacuolas contráctiles y alimenticias. En el extremo posterior está una pequeña abertura que es el citopigio. El macronúcleo es muy voluminoso y tiene forma de rinón, el micronúcleo es pequeño y está situado en la concavidad del macronúcleo siendo difícil su observación.

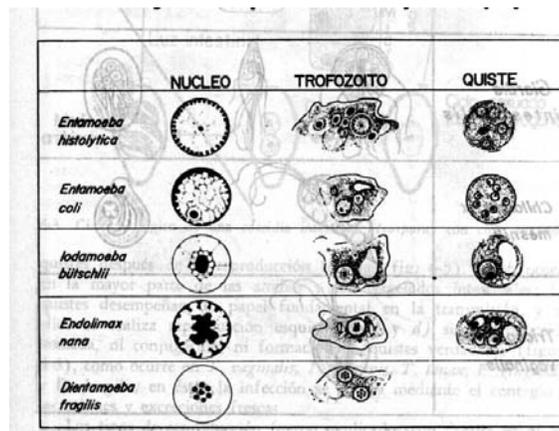
En ciertas condiciones Balantidium coli asume la forma de quiste, que tiene forma esférica, con diámetro de 50 micras, posee una membrana gruesa de doble contorno, por dentro de la cual se ven estrías y los cilios que sobre ellas se implantan además de los otros organelos.

B) CICLO VITAL.



ENTAMOEBA COLI:

A) MORFOLOGIA: En su forma vegetativa esta amiba se parece mucho a Entamoeba histolytica, su forma es cambiante, su contorno suele ser irregular redondeado, su talla varía entre límites semejantes a los de aquella, la diferencia entre ectoplasma y endoplasma es menos ostensible, el citoplasma tiene vacuolas en las que están incluidas bacterias, levaduras o protozoarios, pero nunca eritrocitos. el núcleo es claramente perceptible en fresco, su forma es esférica, su membrana es delgada y los granos de cromatina son de volumen irregular y más grandes que los de Entamoeba histolytica ; el endosoma es casi siempre excéntrico. Los movimientos de los trofozoítos son lentos y los pseudópodos, anchos y de extremo libre redondo, se forman progresivamente y aparecen en varios puntos del contorno del cuerpo, lo que hace que el parásito no se traslade en un sentido por lo general.



B) CICLO VITAL:

La membrana de los quistes que llegan al tubo digestivo del hombre se rompe cuando llegan al final del íleon o al comienzo del colón, la amiba de ocho núcleos que sale de la membrana da origen a ocho amibas postquísticas que crecen pronto y se transforman en trofozoítos. después de haber reproducido varias veces por división binaria y si las condiciones ambientales no son favorables para la persistencia de esta forma evolutiva, los trofozoítos se convierten en formas prequísticas y estas, a su vez, en quistes, los que salen con las formas fecales.

C) DIAGNOSTICO:

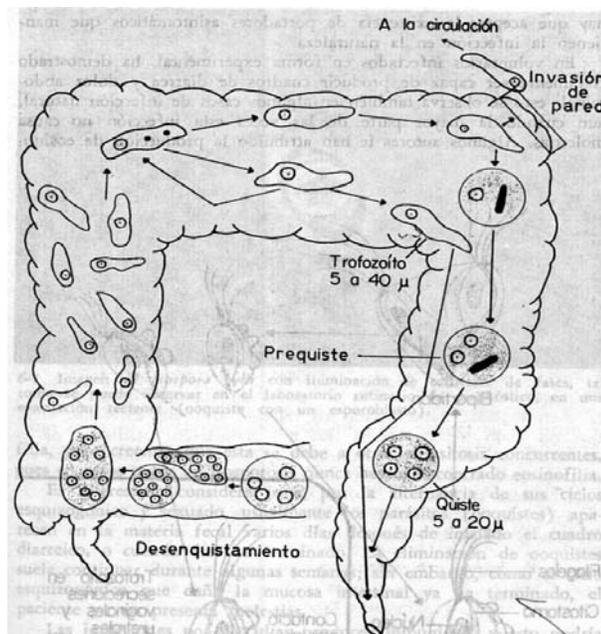
El diagnóstico se establece mediante la demostración de trofozoítos de gran tamaño (mas de 100 micras) y movimiento muy rápido en el examen C.P.S directo, en las evacuaciones diarreicas o disenterias, estos se pueden teñir *para observar mejor sus* características morfológicas, el método de Baermann permite la concentración de trofozoítos , también

puede cultivarse en medios apropiados. En *evacuaciones formadas*, es preferible buscar quistes por un método de C.P.S. de concentración por flotación. En la autopsia, es fácil observar trofozoítos en los cortes histológicos de la pared intestinal.

ENTAMOEBIA HISTOLYTICA.

A) MORFOLOGIA: En la fase de trofozoíto tiene la forma muy variable, su contorno puede ser muy redondo, irregular o alargado, sus dimensiones varían entre 10 y 50 micras; mide por término medio de 10 a 30 micras en su eje mayor; el ectoplasma y el endoplasma están bien diferenciados; el endoplasma no tiene vacuolas ni incluye bacterias, a menos de que se trate de individuos en degeneración o adaptados a vivir como comensales y, en cambio suele contener uno o varios eritrocitos fagocitados. El núcleo se percibe con dificultad en los ejemplares vivos; en los que han sido fijados y tenidos convenientemente aparecen con forma esférica voluminosos, con membrana delgada tapizada en el interior con granos de cromatina uniformemente pequeños; el endosoma, en forma de un grano esferoidal, de no más de 0.5 micras de diámetro muy teñible está situado por lo general en el centro del núcleo.

B) CICLO VITAL.



C) DIAGNOSTICO. El diagnóstico de certeza en cualquier localización de E. histolytica en el organismo humano, es precisamente la observación del agente etiológico, aunque en algunos tipos clínicos, como en la amibiasis extraintestinal es difícil poner de manifiesto los trofozoitos, por lo cual en la actualidad se han desarrollado una serie de reacciones inmunológicas como la hemaglutinación, contraínmunolectroforesis, ELISA, etc..

HELMINTIASIS INTESTINALES.

Las helmintiasis intestinales son enfermedades causadas por diferentes especies de helmintos, es decir, organismos metazoarios, ya sea platyhelminthes o gusanos planos, o bien por nemathelminthes o gusanos redondos, siendo su morfología muy diferente en todos los estadios vitales que presentan.

Ascaris lumbricoides.

Es conocido vulgarmente como la "lombriz intestinal", es un gusano redondo, grande, de 12 a 30 cms. de largo por 5 a 10 mm de diámetro, presentando sexos separados siendo la hembra de mayor talla que el macho, los huevecillos pueden ser fecundados y no fecundados, los primeros son ovalados, cubiertos por tres capas con múltiples mamelones, miden de 40 a 80 micras. Los no fecundados, tienen dos cubiertas, generalmente carecen de mamelones y miden de 85 a 90 micras.

Taenia sp.

Las tenias o solitarias (llamadas así porque generalmente se encuentra una sola) ya eran conocidas desde tiempos remotos, ya que el hombre egipcio consigna en el papiro de Ebers (1550 a. C) a estos parásitos. Son gusanos segmentados, en forma de cinta, hermafroditas, son los parásitos más grandes que existen, llegando a medir de 6 a 10 mts. en el caso de T. saginata y de 2 a 5 mts. en T. solium. Los huevos miden de 30 a 40 micras, son redondos, de paredes gruesas y radiadas.

OBSERVACIONES:

Haga esquemas de lo observado al microscopio anotando lo siguiente:

- a) Género y especie del parásito: _____
- b) Estadio vital: _____
- c) Aumento utilizado: _____
- d) Estructuras observadas: _____

- a) Género y especie del parásito: _____
- b) Estadio vital: _____
- c) Aumento utilizado: _____
- d) Estructuras observadas: _____

- a) Género y especie del parásito: _____
- b) Estadio vital: _____
- c) Aumento utilizado: _____
- d) Estructuras observadas: _____

DISCUSION:

Con los datos obtenidos durante el desarrollo de la práctica elabore una breve discusión.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA POR EL ALUMNO:

PRACTICA No. 8.

OBSERVACION DE FLAGELOS CAVITARIOS.

OBJETIVOS: Aprender a identificar por las características morfológicas y con ayuda de colorante algunas especies de protozoarios flagelados.

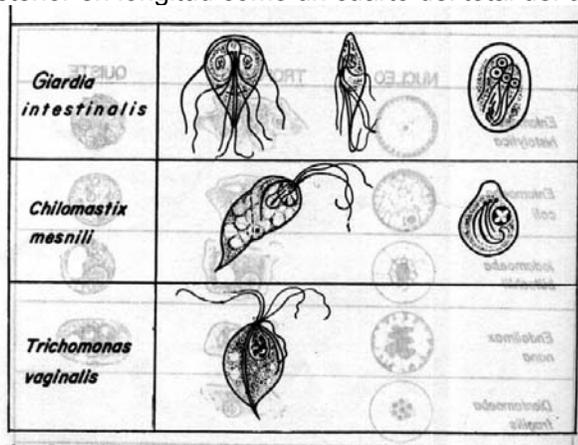
A) Observar la morfología de *Trichomonas vaginalis* en estadio de trofozoito con las técnicas de tinción para *Trichomonas* y la de Giemsa.

B) Observación de la morfología de la giardia lamblia en estadio de quiste tenido con hematoxilina férrica y tinción de tricromico en frotis de heces; y en estadio de trofozoito tenido con Giemsa en frotis de heces.

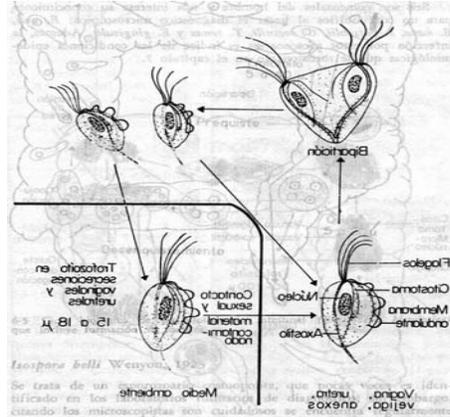
INTRODUCCION:

Trichomonas vaginalis.

A) MORFOLOGIA.- Es la especie de trichomonas con cuerpo más grande de entre las especies que parasitan al hombre; su forma frecuentemente es ancha y redonda, pero más menudo es ovoidal o piriforme; mide de 7 a 23 micras de longitud por 3 a 12 micras de anchura; su citoplasma no tiene vacuolas por lo general, y cuando las tiene, están ocupadas con bacterias o con dentritus celulares. El núcleo es de forma ovoidal alargada; el citoplasma es poco aparente, por pequeño; posee cuatro flagelos libres y uno adherido a la membrana ondulante, la que es corta y no sobrepasa por ese flagelo. El axostilo sobresale del polo posterior en longitud como un cuarto del total del cuerpo.



CICLO VITAL:



C) DIAGNOSTICO.- Algunos casos de trichomoniasis vaginal asintomático son encontrados por el método de Papanicolau en examen de rutina para detección de cáncer; la trichomoniasis puede causar anomalía en este examen.

En el hombre, cuando se origina molestias, se presenta como una uretritis, con salida de secreción uretral y ardor al orinar. Estas uretritis son confundidas con la blenorragia o catalogadas como postgonococicas, con obvias consecuencias.

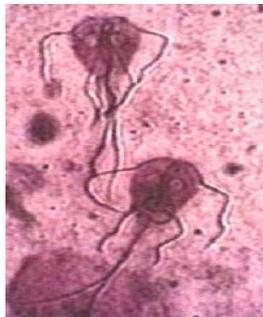
La confirmación del diagnóstico es fácil mediante el examen macroscópico en fresco de las secreciones urogenitales, diluidas en solución salina isotónica, siendo este el método de elección por su eficacia y rapidez. También puede encontrarse las tricomonas en frotis tenido con Giemsa o Papanicolau; de menor interés diagnóstico es el cultivo.

GIARDIA LAMBLIA.

A) MORFOLOGIA.- En las heces humanas los flagelos de esta especie están en la fase de trofozoito o como quiste, la forma de los trofozoitos es semejante a la mitad de una pera partida longitudinalmente, el cuerpo tiene una cara dorsal, convexa y una cara ventral plana en partes y en que su porción anterior y más ancha, lleva dos depresiones, adyacentes, de contorno redondo, con márgenes delgados y elevados y que en su conjunto forman a manera de una ventosa, el acetábulo, también llamado dico chupador. El citoplasma es incoloro, translúcido, y finalmente granuloso. Sus dimensiones son, por término medio, de 12 micras de largo por 6 a 8 micras de ancho. Tiene una membrana lisa y delgada, que envuelve al citoplasma, incoloro y finalmente granuloso en cuyo seno están cuatro o más núcleos así como rudimentos de axonemas, de cuerpo parabasales y de flagelos.

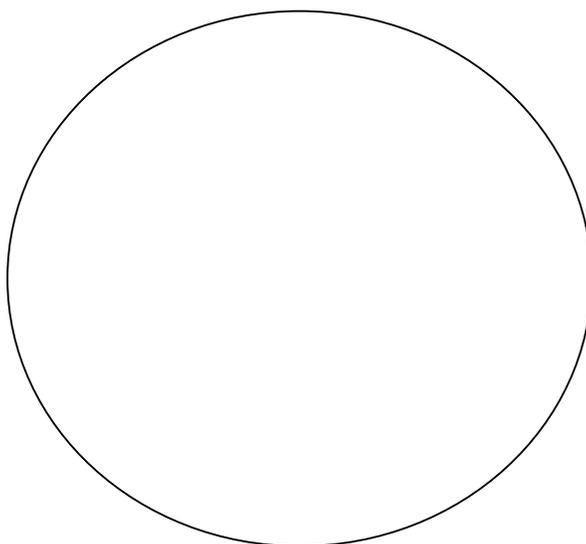
B) CICLO VITAL: Los trofozoitos se multiplican por fisión binaria longitudinal; en ciertas condiciones pasan a la fase de quiste, capaces de resistir la acción de varios factores que serían adversos para los trofozoitos. Así los quistes permanecen viables durante varios días en el agua potable, aún en la que ha sido tratada corrientemente con el cloro, y puede vivir en el intestino de las moscas por lo menos durante 24 horas, y en el de las cucarachas viven hasta por 12 días.

Cuando los quistes han sido ingeridos, se dividen los blefaroplastos y los demás organoides, y al llegar al duodeno salen de cada quiste dos nuevos trofozoítos. Esta multiplicación puede ocurrir antes de que los quistes hayan abandonado el organismo de su primer huésped.

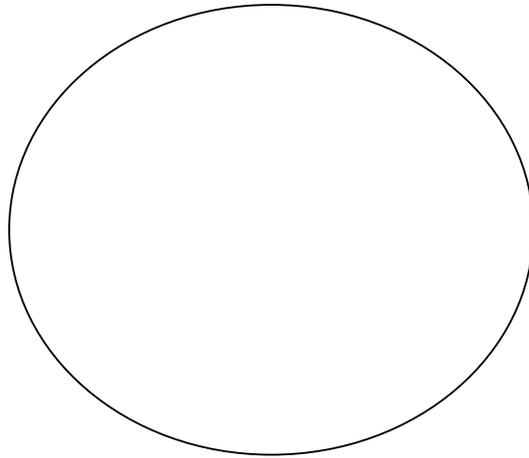


OBSERVACIONES.

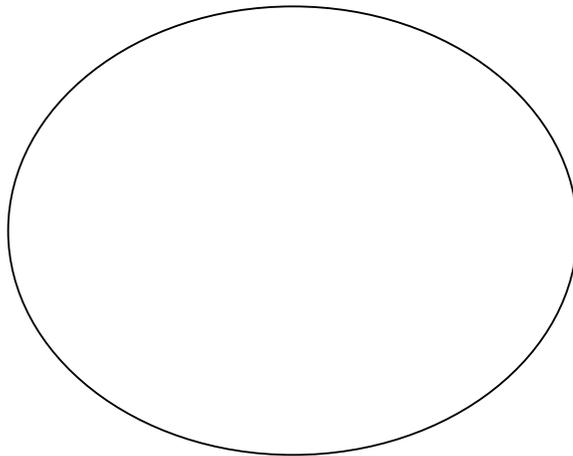
- a) Género y especie del parásito: _____
- b) Estadio vital: _____
- c) Aumento utilizado: _____
- d) Estructuras observadas: _____



- a) Género y especie del parásito: _____
- b) Estadio vital: _____
- c) Aumento utilizado: _____
- d) Estructuras observadas: _____



- a) Género y especie del parásito: _____
- b) Estadio vital: _____
- c) Aumento utilizado: _____
- d) Estructuras observadas: _____



DISCUSION:

Con los datos obtenidos durante el desarrollo durante el desarrollo de la práctica elabore una breve discusión.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA POR EL ALUMNO:

**CUESTIONARIO DE LA PRACTICA 7.
OBSERVACION DE PARASITOS INTESTINALES.**

- 1.- ¿Qué utilidad presentan las técnicas de tinción?
- 2.- Según sus órganos de locomoción ¿a qué grupo de protozoarios pertenecen Balantidium coli y E. histolytica?
- 3.- Describa el trofozoíto de Balantidium coli.
- 4.-¿ Qué sintomatología presenta la balantidiasis?
- 5.- ¿E. histolytica, cuántos y cuáles estadios vitales presenta?
- 6.- Mencione tres diferencias entre el quiste de E. histolytica y E. coli.
- 7.- ¿ Cuáles son los tipos clínicos que produce E. histolytica?
- 8.- Esquematice el huevo y el adulto de Ascaris lumbricoides.
- 9.- Esquematice el huevo y el adulto de Taenia sp.
- 10.- Mencione la forma en que se realiza el diagnóstico de la ascariasis y la teniasis.

CUESTIONARIO DE LA PRACTICA 8.

OBSERVACION DE FLAGELADOS CAVITARIOS.

- 1.- Giardia lamblia y Trichomonas vaginalis, ¿ a qué tipo de protozoarios pertenecen?
- 2.- Trichomonas hominis o intestinalis,¿ dónde habita y si produce alguna enfermedad?
- 3.- ¿ Cuántos estadíos presenta T. intestinalis?
- 4.- Dibuje algún estadío de T. hominis.
- 5.- Mencione algunas características de T. vaginalis.
- 6.- ¿ Dónde habita Giardia lamblia?
- 7.- ¿ Cuántas formas presenta? Ponga esquemas de cada una de ellas.
- 8.- ¿Cómo se adquiere la G. lamblia?
- 9.- ¿Cuál es el examen usual para diagnosticar G. lamblia?
- 10.- ¿Cuáles son los 4 pares de flagelos de G. lamblia?

PRACTICA 9

OBSERVACIÓN DEL HEMOFLAGELADO : *Trypanosoma cruzi*

I.- OBJETIVOS:

- Aprender a identificar por las características morfológicas los estudios de *Trypanosoma cruzi*, así como conocer algunos de los métodos empleados en su diagnóstico.
- Observar la morfología del *tripomastigote* en un frotis sanguíneo teñido con Wright.
- Observar la morfología del *epimastigote* obtenido de un cultivo de NNN en un frotis teñido con Giemsa.
- Observar los nidos del *amastigote* en un corte histológico del miocardio.

II.- INTRODUCCIÓN :

Trypanosoma cruzi es un parásito perteneciente al phylum Protozoa (una sola célula), a la superclase *Mastigophora* y a la especie *cruzi*, su habitad es la sangre, el sistema retículo endotelial y músculo; es el causante de Tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas en el hombre y animales teniendo como mecanismos de transmisión fundamental a un artrópodo chupador de sangre (*Triatoma sp.*).

Este parásito dentro de su ciclo biológico, presenta cuatro estadios que son : *amastigote*, *tripomastigote*, *promastigote* y *epimastigote*.

El *tripomastigote* es un flagelado de cuerpo alargado que mide de 20 a 25 μ de longitud. Presenta un gran núcleo centro venticuoso, cinetoplasto subterminal posterior al núcleo y el cual está formado principalmente de DNA y mitocondrias. Del cinetoplasto surge la membrana ondulante que recorre al parásito a todo lo largo de su cuerpo saliendo libre en la porción anterior para moverse activamente. El citoplasma es poco granuloso y cuando se tiñe el parásito con Giemsa o Wright, se ven azul pálido, el núcleo color carmín y el cinetoplasto morado. A este estadio morfológico se le encuentra además de la sangre de los mamíferos, en el intestino posterior de los triatóminos infectados como *Tripomastigote* metacíclico que es la forma infectante para las mamíferos (hombre) y otros animales, así como para los triatóminos cuando estos chupan sangre de un animal u hombre infectado.

El *epimastigote*, es de aspecto fusiforme y con 18 a 19 μ de longitud, en el que el cinetoplasto ha emigrado desde la porción posterior del cuerpo hasta la porción anterior al núcleo, pero todavía no se establece en ningún sitio final, el flagelo forma una pequeña membrana ondulante. Este estadio morfológico se multiplica en el intestino de los triatóminos profusamente, para dar lugar a los *tripomastigotes metacíclicos*.

El *promastigote*, es una estructura en forma de huso que mide de 18 a 21 μ de longitud; con movimiento por medio de su flagelo y que se agrupan en forma de roseta; cuando se tiñe al parásito con Giemsa se observa el citoplasma de color azul, un núcleo muy aparente color rojo oscuro violeta; el cinetoplasto del mismo color que el núcleo es

anterior a él, de donde sale el flagelo por el extremo anterior. Este estadio morfológico es un hallazgo frecuente en medio de cultivo.

Amastigote. Es la forma redondeada llamada forma leishmanoide, cuerpos de Leishman Donovan, etc., que mide de 2 a 4 μ , sin flagelo libre, pero al microscopio electrónico se ve flagelo dentro de una bolsa, además presenta un gran núcleo y cinetoplasto. Este estadio morfológico se encuentra en el interior de las células del huésped mamífero y ahí se multiplica profusamente.

El ciclo biológico del parásito se inicia cuando un triatómino pica a un mamífero y le chupa sangre que contiene *promastigotes* circulantes, los cuales pasan al interior del triatómino, se transforman en *epimastigotes*, se multiplican por fisión binaria longitudinal y en pocos días ya hay presencia de *tripomastigote metacíclicos* (forma infectante para un nuevo huésped mamífero). Cuando un triatómino infectado pica a un paciente, ingiere varias veces su peso corporal en sangre y defeca varias veces sobre la piel o mucosa del paciente, depositando junto con su excremento a los *tripomastigotes metacíclicos* infectantes. Estos atraviesan la piel, se meten por el agujero dejado por la gran probóscide del triatómino en el momento de la picadura al arrastrar con las patas la materia fecal hacia adentro de dicho agujero, así como también cuando la persona se rasca, se contamina los dedos con la materia fecal del triatómino y luego se frota los ojos. Una vez en el mamífero y habiendo penetrado los *tripomastigotes metacíclicos* por debajo de la piel u mucosa, se introduce en las células del tejido celular cercano, en donde adoptan la forma de *amastigotes*, se multiplican por fisión, llenan la célula, la cual revienta, salen a la circulación, se transforman rápidamente en *tripomastigotes* sanguíneos diseminados vía hematógena por todo el organismo. Penetran nuevamente a células, se vuelven a transformar en *amastigotes*, se multiplican profusamente, rompen las células y repite éste mecanismo muchas veces. El ciclo biológico se completa cuando un triatómino libre de infección, pica, chupa sangre con *tripomastigote* sanguíneos y se infecta.

Las formas más utilizadas para diagnosticar estas parasitosis en el hombre son : los *amastigotes* que en ocasiones se buscan en músculo o ganglios por medio de biopsias; y los *tripomastigotes* para los cuales se utilizan los siguientes exámenes.

-Examen directo en sangre

-Frotis

-Gota gruesa

-Hemocultivo

-Inoculación en animales

-Xenodiagnóstico

-Exámenes inmunológicos

Examen directo en sangre : para efectuar este examen se obtiene una gota de sangre, se pondrá sobre un portaobjetos, un cubreobjetos y se observa directamente al microscopio. De haber *tripomastigotes* se estarán moviendo activamente y desplazando eritrocitos, lo que facilita su visualización. Es importante hacer gota gruesa, frotis y tinción, para observar las características morfológicas y tintoriales del parásito. En la tinción se emplea colorante Giemsa, Wrigth, Leishman, etc.

Hemocultivo : se usan medios de cultivos especiales como el Novy, Nicolie y Mc Neal (N.N.N.), el de Nakamura u otros. En estos se pondrá sangre obtenida por punción venosa y en cantidad de 1 a 5 ml. Se emplea con buenos resultados sobre todo en la etapa final de la fase aguda cuando empieza a escasear los *tripomastigotes* en la sangre del paciente.

Inoculación en animales de laboratorio: el ratón blanco (*Mus musculus*) de laboratorio, es muy susceptible a la infección por *T.cruzi* por lo que inoculando sangre del paciente sospechoso de tripanosomiasis, por vía intraperitoneal en el ratón, los *tripomastigotes* se desarrollan en este y se podrán detectar 10 días después de la inoculación.

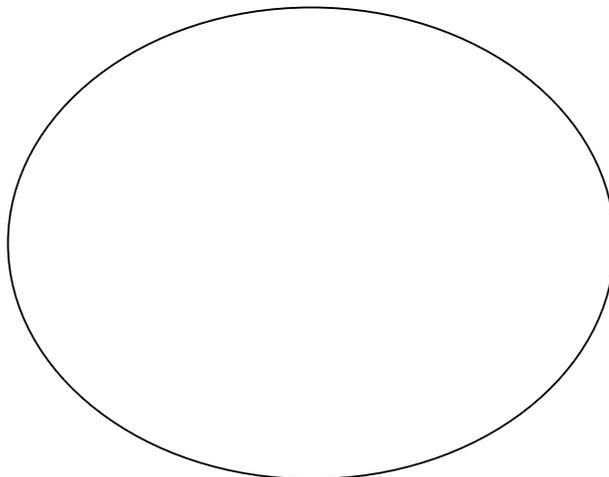
Xenodiagnóstico: es un método que permite diagnosticar *tripomastigotes*, mediante el empleo de los transmisores (triatóminos). Para realizar este método se utilizan ninfas de triatóminos criadas en el laboratorio libres de infección por *T.cruzi*, las cuales se ponen en una cajita de cartón cubierta con tul de nylon, y se colocan sobre el antebrazo del paciente. Una vez que los triatóminos se alimentaron con la sangre del paciente, se observarán sus deyecciones al microscopio a los 10, 20 y 30 días después. De haber tenido *tripomastigotes* el paciente en su sangre periférica estos serán chupados por los triatóminos y en su tubo digestivo se multiplicarán profusamente, permitiendo así observarlos en las deyecciones de los triatóminos. Este método se debe aplicar en la etapa aguda y en la etapa crónica de la infección.

Exámenes inmunológicos : se realizan para poner de manifiesto anticuerpos contra *T.cruzi* en el supuesto paciente, de las pruebas utilizadas para esto se encuentran las de fijación del complemento, hemaglutinación, inmunofluorescencia directa, y otras. Algunas de estas son altamente sensibles. Estas pruebas se efectúan en la fase crónica del paciente, cuando es muy difícil detectar los *tripomastigotes*.

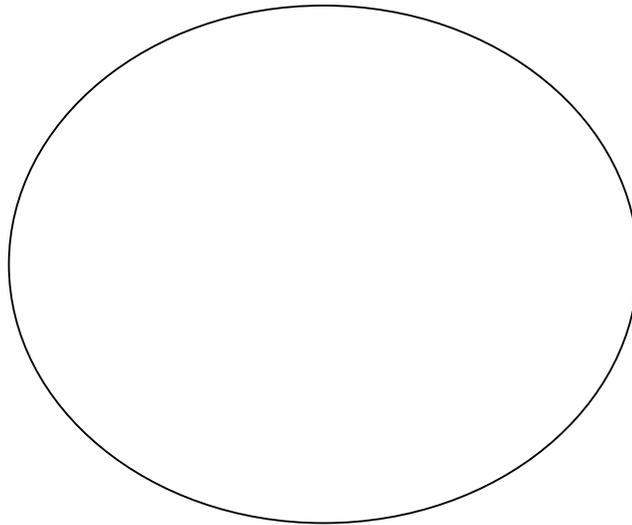
OBSERVACIONES

Haga esquemas de los observado al microscopio anotando lo siguiente :

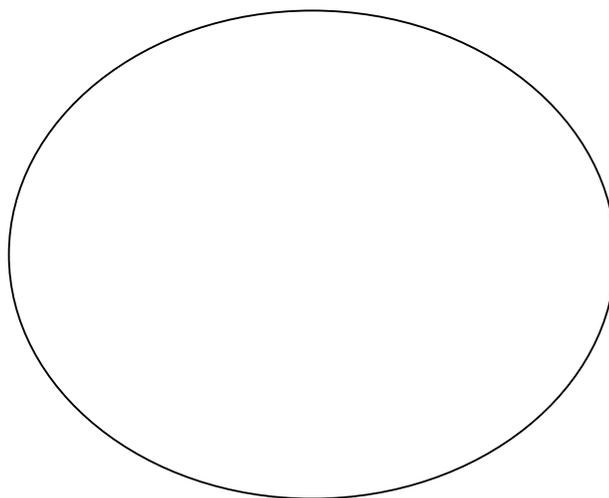
- a) Género y especie del parásito
: _____
- b) Estadio vital
: _____
- c) Aumento utilizado
: _____
- d) Estructuras observadas
: _____



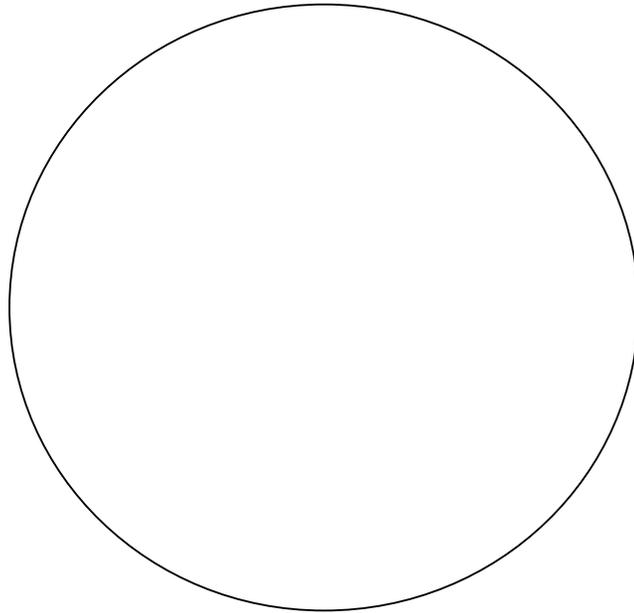
- a) Género y especie del parásito: _____
- b) Estadio vital : _____
- c) Aumento utilizado : _____
- d) Estructuras observadas : _____



- a) Género y especie del parásito : _____
- b) Estadio vital : _____
- c) Aumento utilizado : _____
- d) _____ Estructuras observadas
: _____



- a) Género y especie del parásito : _____
b) Estadio vital : _____
c) Aumento utilizado : _____
d) _____ Estructuras _____ observadas
: _____



DISCUSIÓN

Haga una breve discusión con los resultados obtenidos en la práctica.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA POR EL ALUMNO.

PRACTICA 10.

OBSERVACIÓN DE FLAGELADOS TISULARES: LEISHMANIA SP.

I.- OBJETIVOS.

- ✓ Observar la respuesta inflamatoria en piel y bazo producida por una leishmaniasis.
- ✓ Observaciones de la morfología de los *amastigotes* en la impronta.

II.- INTRODUCCIÓN :

A) GENERALIDADES

Los agentes etiológicos de las leishmaniasis son protozoos intracelulares de género **leishmania** que se agrupan en diversos “complejos” y que afectan al hombre y animales causándoles enfermedades de la piel, mucosa y vísceras; y son transmitidas por pequeños moscos de la familia Psychodidae.

Estos “complejos” fueron designados por Laison y Shaw en 1974, y se establecieron en base a diferentes criterios, tales como : el comportamiento del parásito en los diversos transmisores, el hábitat dentro de ellos, así como su conducta en el medio NNN y el estudio comparativo de la densidad flotante del DNA en el medio de cultivo.

Según esta clasificación, tenemos :

COMPLEJO	ENFERMEDAD
1) <i>Leishmania donovani</i> <i>L.donovani donovani</i> <i>L. infantum</i> <i>L. chagasi</i>	leishmaniosis visceral o Kala-azar
2) <i>Leishmania tropica</i> L.tropica major	botón de oriente del viejo mundo
3) <i>Leishmania y mexicana</i> tegumentaria difusa <i>L.mexicana mexicana</i> <i>L. mexicana amazonensis</i> <i>L. mexicana pifanoi</i> <i>L.enriettii</i>	úlceras de los chicleros leishmaniasis
4) <i>Leishmania brasiliensis</i> <i>L.brasiliensis brasiliensis</i> L. brasiliensis guayanensis <i>L.brasiliensis panamensis</i> <i>L. peruviana</i>	leishmaniosis mucocutánea o espundia

B) MORFOLOGÍA

Los individuos de las especies que integran este género, cuando están parasitando a sus huéspedes definitivos, son unos corpulentos esferoidales u ovoides, de 2 a 5 μ en su diámetro, en su eje mayor. Su cuerpo está limitado por una membrana muy delgada; su citoplasma es claro homogéneo y en él está el trofonúcleo, redondo, voluminoso y macizo, así como el cinitoplasto, que tiene la forma de una barrita corta intensamente teñible, situado cerca de la membrana. Se percibe un corto filamento, el rizoplasto, que va del cinitoplasto a la membrana, en cotes de tejido infectado no siempre destaca el cinitoplasto.

En el tubo digestivo de los insectos que le sirven de vectores, leishmania asume la forma de leptomonas, o sea, que su cuerpo se alarga, se hace fusiforme y tiene un flagelo que se origina en un cinetonúcleo cercano al extremo anterior del cuerpo, otro tanto ocurre en los medios de cultivo, en los que se establece y se reproduce este género de flagelados.

C) CICLO VITAL

En su ciclo biológico leishmania pasa por dos estadios: *amastigote* y *promastigote*. Siendo el *amastigote* la forma parasitaria y que sólo se observa en tejidos de los vertebrados infectados o en cultivos de tejidos; estas formas se encuentran parasitando células del SER de la piel (leishmaniosis cutánea), SER de bazo, hígado y médula ósea (Kala-azar) o bien en las lesiones del huésped (leishmaniosis tegumentaria). Cuando el transmisor ingiere los *amastigotes* pasan al tubo digestivo del insecto y evolucionan a *promastigotes* que se multiplican profusamente por fisión binaria y se acumulan en la proboscis del transmisor, listos para infectar a un nuevo huésped.

D) DIAGNOSTICO

Es posible que en realidad no exista sino una sola especie de leishmania que parasita al hombre que en condiciones variables puede ser la causa de manifestaciones viscerales o principalmente tegumentarias y dentro de estas puramente cutáneas, las cutáneo mucosas.

Los estudios clínicos y experimentales que se han hecho hasta ahora han demostrado la posibilidad de que la misma cepa que originalmente produjo lesiones viscerales sea después causa de lesiones cutáneas.

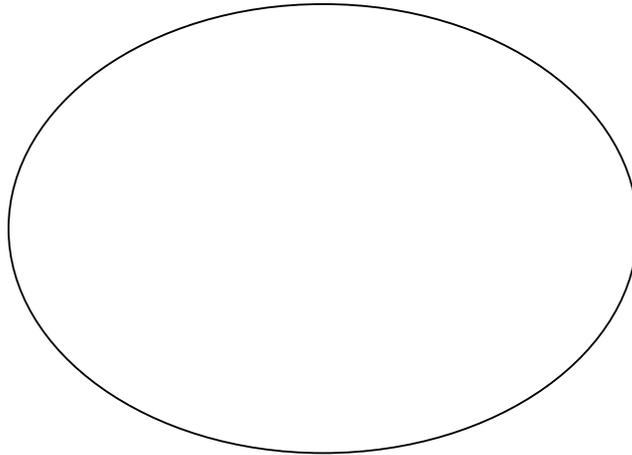
Las infecciones del organismo humano por leishmania suelen manifestarse con dos aspectos principales; como padecimientos tegumentarios, cutáneos puros o cutáneo mucosos, o como padecimientos con manifestaciones de localización visceral, predominantemente esplénica.

OBSERVACIONES

Haga esquemas de lo observado al microscopio anotando lo siguiente :

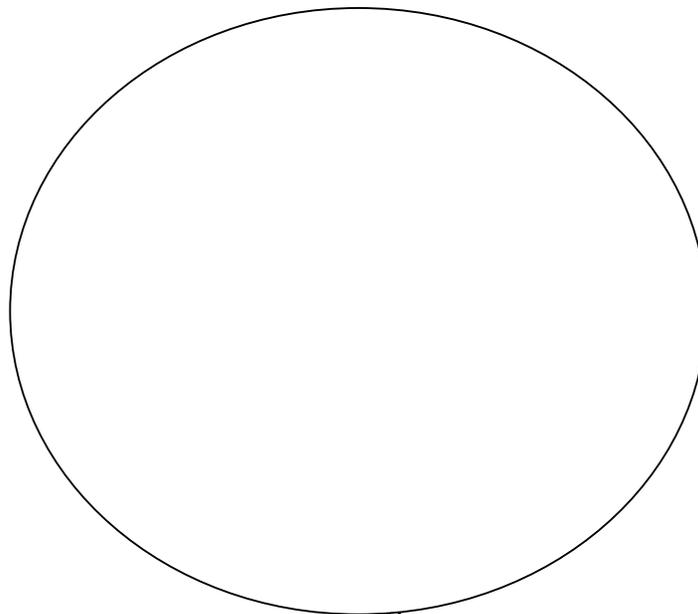
- a) Género y especie del parásito
: _____
- b) Estadio vital
: _____
- c) Aumento utilizado :

- d) Estructuras observadas
: _____

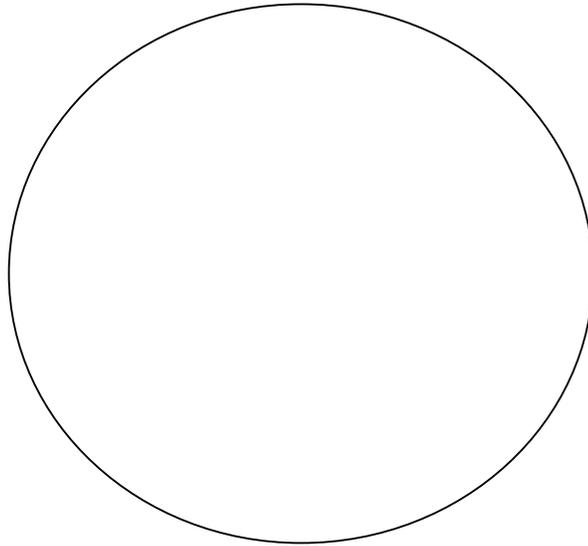


- a) Género y especie del parásito
: _____
- b) Estadio vital
: _____
- c) Aumento utilizado :

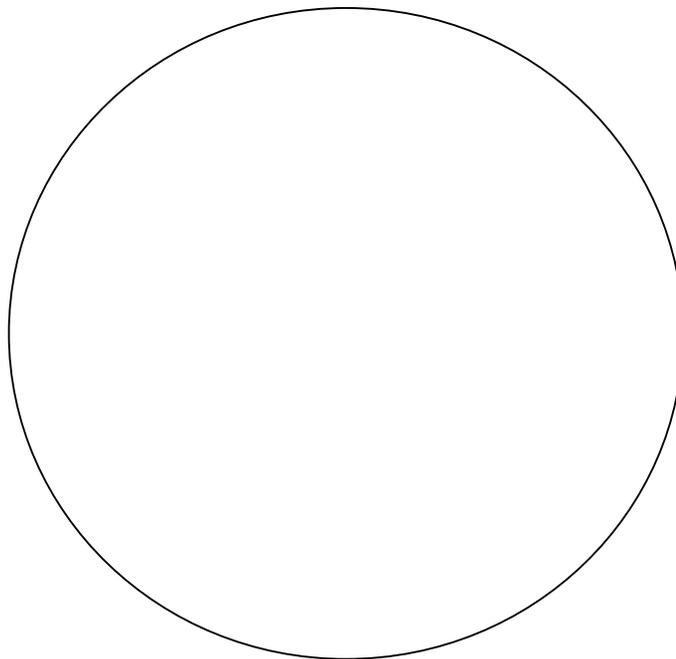
- d) Estructuras observadas
: _____



- a) Género y especie del parásito : _____
b) Estadio vital : _____
c) Aumento utilizado : _____
d) _____ Estructuras _____ observadas
: _____



- a) Género y especie del parásito : _____
b) Estadio vital : _____
c) Aumento utilizado : _____
d) _____ Estructuras _____ observadas
: _____



DISCUSIÓN

Haga una breve discusión con los datos obtenidos en la práctica.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA POR EL ALUMNO.

PRACTICA No. 11

OBSERVACIONES DEL HEMOPARASITO DEL PALUDISMO

I.- OBJETIVOS

GENERAL: El alumno aprenderá a identificar por las características morfológicas los diferentes estadios que presentan los plasmodios en el interior de los glóbulos rojos, en frotis teñido con Wrigth.

- a) Observar la morfología de trofozoitos jóvenes de *Plasmodium falciparum*
- b) Observar la morfología de trofozoito esquizonte y de gametocitos de *Plasmodium malarie*

II.- INTRODUCCION

Los plasmodios parásitos del hombre son esporozoitos del subgénero *Plasmodium* de las especies *vivax, falciparum, malarie y ovale.*

El ciclo vital de los plasmodios comprende dos fases; una asexual o esquizogónica que tiene lugar en el Anopheles vector. El hombre es el hospedero intermediario y reservorio; el definitivo es el mosquito Anopheles.

CICLO ESQUIZOGÓNICO

Comprende dos fases: Pre-eritrocítica o hepática y la eritrocítica.

Pre-eritrocítica .- La picadura del Anopheles infectado inyecta esporozoitos, los cuales desaparecen de la sangre en unos 30 minutos e invaden las células parenquimatosas del hígado en donde su presencia puede descubrirse a los 2 o 3 días. En la célula atacada se desarrolla el esporozoito aumenta de tamaño en 6 a 9 días. El núcleo inicial se divide un elevado número de veces para dar millares de núcleos hijos cada uno rodeado de una pequeña cantidad de citoplasma que son los criptozoitos.

Las células hospederas, prácticamente destruidas, dan salida a un elevado número de criptozoitos llamados "merozoitos criptozoicos". Los cuales acuden unos a los hematíes, con lo cual da comienzo la esquizogonia o ciclo eritrocítico; otros invaden las células hepáticas los cuales están encargados de mantener una infección latente y son la causa de recaídas parasitológicas y clínicas, pero no en caso de *P. falciparum.*

Eritrocítica.- Comienza con el merozoito que se instala en el hematíe adoptando una forma de anillo, transformándose desde ese momento en trofozoito. Cuando el trofozoito envejece, el protoplasma se desarrolla, el núcleo se divide un cierto número de veces y cada núcleo nuevo se rodea de citoplasma que es fase de esquizonte, terminada la división los elementos o merozoitos (núcleo más citoplasma) formados en el interior del hematíe, estalla y da salida a los nuevos merozoitos pudiendo llegar a un nuevo hematíe con lo cual comienza otro ciclo esquizogónico.

Ciclo esporogónico (sexuado) .- Se desarrolla en el mosquito, pero comienza en la sangre del hombre infectado, ya que poco tiempo después de la invasión de la sangre, algunos trofozoitos experimentan un desarrollo especial y se transforman en gametocitos de los cuales podemos diferenciar macrogametocitos (femenino) y al microgametocito (masculino). Estos gametocitos cuando un mosquito *Anopheles* hembra se alimenta de la sangre de un sujeto infectado son absorbidos, y en el estómago del mosquito, el gametocito macho libera de 4 a 8 elementos finos, alargados y flexuosos, que son los gametocitos machos.

El gametocito hembra es penetrado por uno de estos flagelos, después de la reducción cromática y dá lugar así a un huevo. El oocisto móvil está dotado de movimientos verticales que le permiten atravesar la pared del estómago inmovilizándose en la parte exterior de aquella, entre el epitelio y la hoja peritoneal, una vez fijado el oocisto crece en forma considerable. En el curso del desarrollo se producen innumerables divisiones del núcleo que dan a los esporozoítos.

Una vez alcanzada la madurez del oocisto se rompe y quedan libres los esporozoítos, los cuales llegan a glándulas salivales para iniciar un nuevo ciclo.

El hábitat de *Plasmodium* es: En el hombre se encuentra en eritrocitos y hepatocitos, en el mosco *Anopheles* se encuentra en el aparato digestivo.

El paludismo se presenta en todo el mundo, en latinoamérica se ha erradicado de 11 países, entre los que se encuentra Uruguay, Chile, Cuba, Jamaica, Puerto rico, Trinidad y otras islas del Caribe.

En México, el área afectada, comprende el 58% del territorio, toda la zona litoral hasta el paralelo norte quedando libres las zonas montañosas altas, los desiertos del norte y gran parte del altiplano central.

El paludismo afecta principalmente a niños, a las áreas rurales y al sexo masculino.

La aportación de cada una de las especies de plasmodios es variable según los países y por razón de longevidad de los parásitos *P. falciparum* tiende a disminuir más rápidamente y predominan *P vivax* y *P malarie*. En México, el 99 % de los casos de paludismo son por *P vivax*.

El diagnóstico del acceso febril del paludismo no presenta problemas; sin embargo, no siempre están presentes todos los elementos característicos; la periodicidad raras veces es regular, puede no haber escalofríos y la sudoraciones mínima. En los cursos crónicos son tratamientos incompletos o inmunidad incompleta previa, se establece diagnóstico diferencial; fiebre recurrente, acceso hepático amibiano, entre otras.

El diagnóstico se establece por la demostración del parásito en frotis de sangre o en gota gruesa, obtenidos de preferencia durante o poco después del acceso febril.

Se usa sangre capilar o de punción venosa.

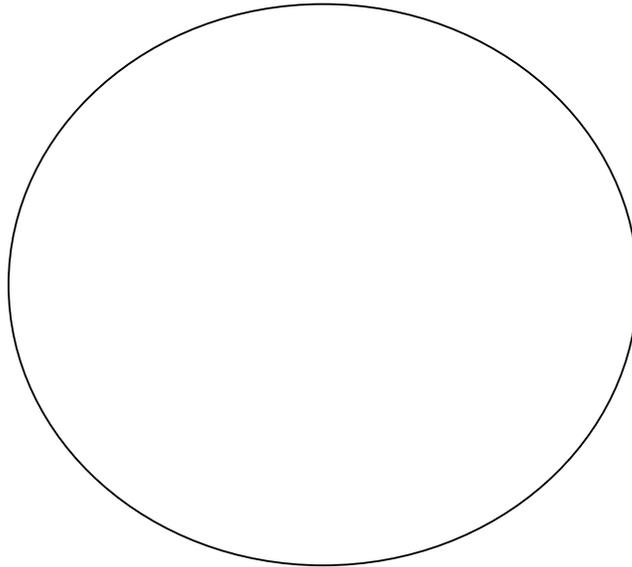
La coloración por Giemsa y el examen durante 5-10 minutos en la gota gruesa para encontrar más fácilmente a los parásitos y en frotis delgado para establecer la identidad de la especie, son la base en que descansa el diagnóstico.

Las pruebas serológicas, inmunodifusión en gel, fijación del complemento, e inmunofluorescencia indirecta, son procedimientos auxiliares en la localización de donadores.

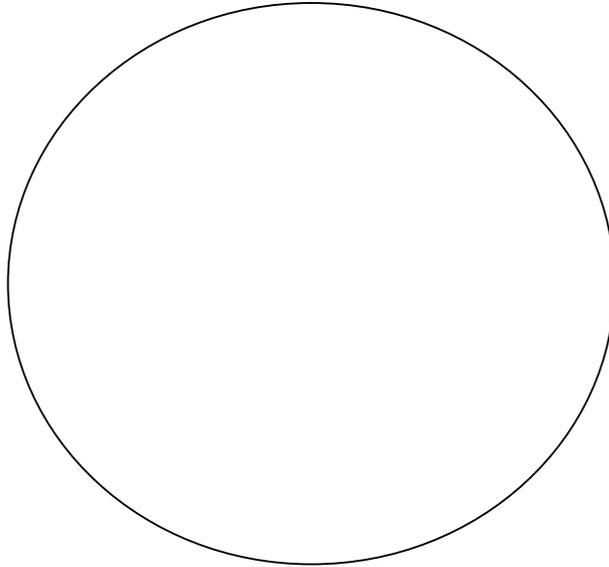
OBSERVACIONES

Haga esquemas de lo observado al microscopio anotando lo siguiente:

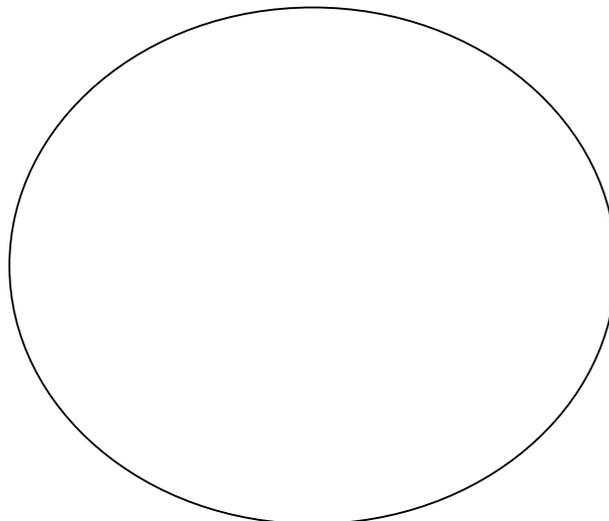
- a) Género y especie del parásito _____
- b) Estadio vital _____
- c) Aumento utilizado _____
- d) Estructuras observadas _____



- a) Género y especie del parásito _____
- b) Estadio vital _____
- c) Aumento utilizado _____
- d) Estructuras observadas _____



- a) Género y especie del parásito _____
- b) Estadio vital _____
- c) Aumento utilizado _____
- d) Estructuras observadas _____



DISCUSIÓN:

Haga una breve discusión con los resultados obtenidos en la práctica

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA POR EL ALUMNO

CUESTIONARIO DE LA PRÁCTICA NUMERO 11 OBSERVACIONES DEL HEMOPARÁSITO DEL PALUDISMO

- 1.-¿Cuál es el hábitat de *Plasmodium*?
- 2.-¿Cuáles son los diferentes especies de *Plasmodium*?
- 3.-¿Cuál es la enfermedad que producen?
- 4.-¿Cuál es la distribución geográfica en México?
- 5.- Indique los exámenes usuales para su diagnóstico
- 6.-¿Cuáles son los estadios que presentan?
- 7.- Dibuje tres de estos estadios de *Plasmodium falciparum*.
- 8.-¿Cómo se ven los glóbulos rojos parasitados por *P. falciparum*?
- 9.-¿Esquematice los esquizontes de *P. malarie*?
- 10.-¿Esquematice los trofozoitos maduros de *P vivax*?