



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"PROYECTO DE MANUAL DE PRACTICAS DE
LABORATORIO DE PARASITOLOGIA DE LA
FACULTAD DE QUIMICA"

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a n

MARIA ANTONIETA BASURTO GARCIA
MARIA DEL CARMEN FLORES CHAVEZ
MARIA GUTIERREZ ARRIOLA
HINDA ZLOTNIK ESPINOSA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE

PRESIDENTE	PROFA. MA. MAGDALENA ACOSTA SEGURA
VOCAL	PROFA. RAQUEL MARTINEZ OROPEZA
SECRETARIO	PROF. OSCAR VELASCO CASTREJON
1er. SUPLENTE	PROFA. MA. DOLORES LASTRA AZPILICUETA
2o. SUPLENTE	PROFA. ERNESTINA BALLESTEROS RUEDA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

DEPTO. DE FARMACIA (FACULTAD DE QUIMICA)

DEPTO. DE ECOLOGIA HUMANA (FACULTAD DE MEDICINA).

SUSTENTANTES

MARIA ANTONIETA BASURTO GARCIA

MARIA DEL CARMEN FLORES CHAVEZ

MARIA GUTIERREZ ARRIOLA

HINDA ZLOTNIK ESPINOSA

ASESOR DEL TEMA

Q.F.B. MA. MAGDALENA ACOSTA SEGURA

SUPERVISOR TECNICO

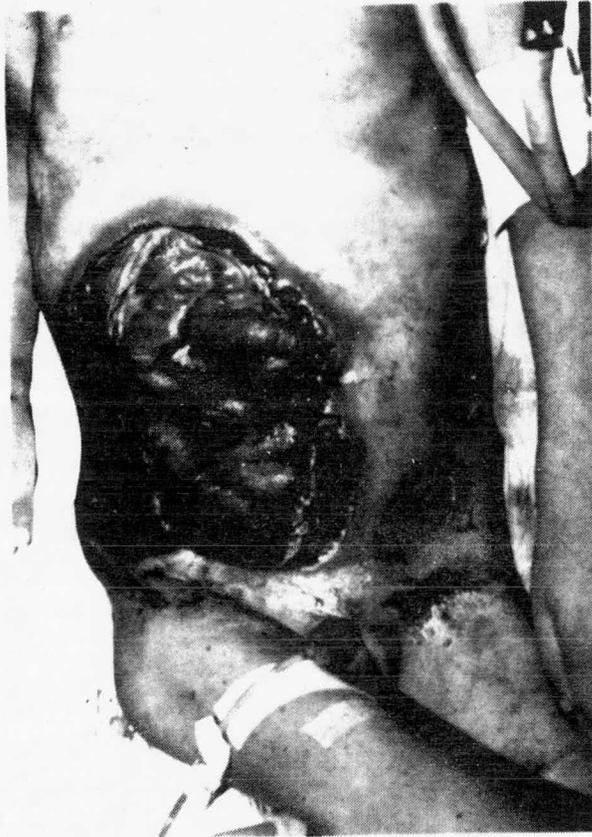
Dr. OSCAR VELASCO CASTREJON

A NUESTROS PADRES.

A NUESTROS HERMANOS.

Nuestro sincero agradecimiento para la
Q.F.B. Ma . Magdalena Acosta Segura y
el Dr. Oscar Velasco Castrejón por su —
acertada dirección y valiosa ayuda.

Nuestro reconocimiento al Depto de
Ecología Humana por la cooperación
que brindó durante el desarrollo de
este trabajo.



Caso clínico de Amebiasis cutánea (Hospital del Niño IMAN).

INDICE

1.- Medición. Observación de Agua de Charco y de Preparaciones Fijas de Diversos Protozoos Intestinales.	1
2.- Preparación de Frotis de Protozoos. Diversas Técnicas de Tinción	5
3.- Preparación de Medios de Cultivo para Diversos Protozoos. . . .	10
4.- Observación Directa de Materia Fecal. Identificación de Restos Alimenticios.	13
5.- Coproparasitoscópicos por Concentración (Cualitativos). . . .	16
6.- Método del Embudo de Baermann y Cápsula de Beale.	20
7.- Coproparasitoscópico Cuantitativo. Método de Ferreira y de Stoll.	24
8.- Protozoos Parenterales. Observación de <u>T. cruzi</u> a partir de medio de cultivo, en ratón, de Triatomas (Xenodiagnóstico). Coloración de frotis utilizando el Método de Giemsa. Cultivo.	30
9.- Observación de Cortes e Improntas de Lesiones causadas por <u>L. mexicana</u> y <u>L. donovani</u>	35
10.- Frotis y Gota Gruesa para el Diagnóstico de Paludismo.	39
11.- Diferenciación de Diversas Especies de Plasmodium por observaciones microscópicas.	42
12.- Diagnóstico de Toxoplasmosis.	45
13.- Observación de Helmintos Adultos.	50
14.- Observación de Tremátodos: <u>Fasciola hepatica</u> . Disección de Hígado de Bovino u Ovino Enfermos. Observación de Cortes Histológicos así como de <u>Fasciola</u> montadas.	53

15.- Observación de Céstodos: <u>Taenia</u> , Cisticercos. Morfolfa Diferencial de <u>Taenia</u> . Disección de <u>Cysticercus cellulosae</u> o <u>bovis</u> .	56
16.- Diagnóstico Serológico de Hidatidosis por Contrainmuno-electroforesis.	60
17.- Triquinosis. <u>T. spiralis</u> en Músculo.	65
18.- Enterobiasis. Método de Graham.	63
19.- Eosinofilia en sangre y en diversas Excreciones y Secreciones	72
20.- Uncinariasis y Estrongiloidosis. Cultivo de Larvas.	76
21.- Observación de <u>Onchocerca volvulus</u>	81
22.- Artrópodos.	83
23.- Dípteros.	95
24.- Efectos tóxicos de Veneno de Alacrán en Ratones.	88
25.- Práctica Optativa: Conservación de Parásitos Animales o Huevos Hallados en la Materia Fecal.	92
26.- Práctica Optativa: Otras Técnicas Coproparasitoscópicas.	96
27.- Desarrollo de Huevos de <u>F. hepatica</u> hasta la Fase de miracidios (Práctica Optativa).	99
28.- Demostración del Ciclo Biológico de <u>Ascaris lumbricoides</u> (Práctica Optativa).	102
29.- Práctica Optativa: Método de Benbrook para el Diagnóstico de Parasitosis Producidas por Acaros.	106
30.- Práctica Optativa: Preparación del Antígeno de <u>C. cellulosae</u> .	109
Bibliografía.	112

INTRODUCCION

La gran mayoría de las enfermedades parasitarias que se conocen desde la antigüedad no han logrado ser erradicadas, a diferencia de otros muchos padecimientos infecciosos, por la ignorancia, negligencia e indiferencia humanas que han impedido la visualización del grave problema que constituyen. Es por ésto que el estudiante de cualquier carrera paramédica está en el deber de conocer las alarmantes consecuencias que acarrearán las parasitosis no sólo dentro del ámbito nacional, sino mundial.

El presente trabajo es un humilde intento de transmitir a las futuras generaciones estudiantiles la importancia de la Parasitología como parte de la Patología que mina específicamente a nuestro pueblo. Reconocemos que dista mucho de ser perfecto, pero consideramos que es un auxiliar conveniente en la introducción al conocimiento de las técnicas de diagnóstico parasitológico, tan importantes en la formación de un profesional de nuestra especialidad en un país en el que este tipo de enfermedades constituyen un gravísimo problema de Salud Pública.

Sabemos que el trabajo de laboratorio es una parte inseparable del curso teórico de Parasitología. Su correcta ejecución es importante para el aprendizaje no sólo de técnicas habituales, sino de fundamentos y principios básicos que contribuyen a la integración de una base científica sólida junto con los conocimientos derivados de las clases teóricas.

Las prácticas que hemos elegido para constituir este Manual corres

ponden en su mayoría a las que de manera clásica se realizan en las escuelas profesionales del país. Básicamente las podemos dividir en tres grupos:

- a).- Prácticas Generales que se refieren a los conocimientos esenciales para el posterior trabajo en un laboratorio de Parasitología.
- b).- Prácticas Especiales en las que se hace mención de los principales métodos diagnósticos para las diversas parasitosis y que incluyen algunos de reciente utilización.
- c).- Prácticas optativas en las que si bien se incluyen técnicas interesantes consideramos que no podrán ser directamente aplicables en un laboratorio de enseñanza por el tipo de material que requieren. De cualquier manera constituyen un suplemento a las prácticas antes descritas.

Cada una de las prácticas que integran el Manual está compuesta por:

- a).- Objetivo
- b).- Introducción
- c).- Material y equipo
- d).- Técnica
- e).- Preguntas
- f).- Referencias Bibliográficas

de tal manera que una vez que se ha establecido la finalidad de la práctica, se da un pequeño panorama del tema a tratar para pasar después propiamente a la parte técnica. Como complemento de todo esto, se han incluido una serie -

de preguntas que creemos permitirán a los alumnos un mejor y más sencillo — estudio, porque enfocan los aspectos más importantes del asunto central. — Estas preguntas podrán ser utilizadas a conveniencia del maestro como medio de evaluar el aprendizaje de los alumnos, para lo cual serán contestadas en el mismo Manual o en hojas anexas a éste. Por último, cabe señalar que también se han incluido algunas fotografías e ilustraciones, con el fin primordial de hacerlo más ameno y didáctico.

El total de prácticas del Manual es de treinta, pero debido a la duración efectiva de los semestres creemos que sólo se realizarán unas veinticuatro si se trabaja una práctica por sesión (2.5 hrs.).

Este Manual, si bien no será de divulgación general, contiene — los elementos necesarios para que el estudiante que lo utilice encuentre en él el incentivo fundamental para proseguir sus estudios sobre uno de los aspectos más relevantes para la sociedad que lo formó y en la que va a desarrollarse.

REGLAMENTO DEL LABORATORIO DE PARASITOLOGIA

Se refiere básicamente al comportamiento que deberá observar el -- alumno dentro del laboratorio, para que junto con el Manual logre un mejor aprovechamiento del curso.

- 1.- El alumno deberá presentarse puntualmente al laboratorio. Se darán 10 min.- de tolerancia y se pasará lista para tener una relación de asistencias.
- 2.- Tanto los maestros como los alumnos deberán usar bata blanca.
- 3.- Como el Manual de Prácticas se proporcionará desde la primera sesión, los alumnos deberán tener conocimiento de la práctica correspondiente al presentarse al laboratorio.
- 4.- Cada alumno llevará el material necesario para efectuar la práctica que no pueda proporcionársele en el laboratorio.
- 5.- Estará absolutamente prohibido salir del laboratorio durante la práctica así como fumar, beber o comer dentro del mismo.
- 6.- Mantener las mesas de trabajo limpias y despejadas, evitando colocar libros o ropa sobre ellas.
- 7.- Al terminar la práctica, los alumnos deberán limpiar y colocar en su lugar el material proporcionado por el laboratorio.
- 8.- Los alumnos deberán lavarse bien las manos con agua y jabón antes de salir del laboratorio.

Práctica Núm. 1MEDICION. OBSERVACION DE AGUA DE CHARCO Y DE PREPARACIONES FIJAS
DE DIVERSOS PROTOZOOS INTESTINALES.

OBJETIVO

Aprender la técnica de medición, así como la identificación de microorganismos de vida libre y de los principales protozoos parásitos intestinales.

INTRODUCCION

La determinación del tamaño en la identificación de estructuras microscópicas es sumamente importante porque constituye una característica diferencial de los mismos. En base a ello es posible reconocer especies de protozoos quistes, huevos de uncinarias e incluso microfilarias, cuando se realiza un estudio morfológico detallado de ellas.

Los protozoos son seres unicelulares, en su mayoría microscópicos, que comprenden un gran número de especies entre las que se encuentran organismos de vida libre y parásitos. Dentro de estos últimos se encuentran muchos protozoos que viven en el tracto intestinal humano. Algunos de ellos son saprofitos, mientras que otros son capaces de causar graves daños al huésped. El hallazgo de éstos en la materia fecal de un paciente indican que dicho organismo se halla parasitando al huésped, y muchas veces éste tiene molestias sugestivas de dicha parasitosis. Casi todos los protozoos entéricos tienen distribución cosmopolita y su incidencia estará determinada por el clima y las condiciones de vida, dieta y hábitos sanitarios propios de la población.

En nuestro medio las parasitosis intestinales causadas por protozoos tienen gran importancia socioeconómica y en Salud Pública por la elevada prevalencia e incidencia con la que se encuentran en la población general. De ahí que el clínico deba aprender a reconocer cuando menos los parásitos prevalentes para poder establecer el tratamiento correcto.

Los protozoos que con más frecuencia se encuentran en la materia fecal son: Entamoeba histolytica, Entamoeba coli, Endolimax nana, Giardia lamblia, Balantidium coli, Dientamoeba fragilis, Trichomonas hominis. Estos pueden reconocerse al realizar observaciones directas teñidas con lugol o mediante otras técnicas, entre las que destacan: hematoxilina-eosina, hematoxilina férrica, Gomori, etc.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Ocular micrométrico y micrómetro objetivo.

Pipetas Pasteur (2).

Portaobjetos (4).

Colorante Rojo Neutro.

Agua de charco.

Preparaciones fijas de: E. histolytica, E. coli, G. lamblia, I. butschlii, T. hominis, B. coli.

TECNICA

A).- CALIBRACION DEL MICROSCOPIO.

- 1.- Colocar el micrómetro objetivo y enfocar lo con el objetivo seco débil.
- 2.- Substituir con el ocular micrométrico el ocular normal. Enfocar las escalas y hacerlas coincidir exactamente en una línea, de preferencia el cero.
- 3.- Determinar el número de espacios que abarcan a partir de este punto --- coincidente hasta el sitio en que ambas escalas vuelvan a corresponder.
- 4.- Dividir el número de espacios del micrómetro objetivo entre el número de espacios del ocular micrométrico, multiplicar el resultado por 10, lo que corresponde al coeficiente micrométrico expresado en micras. Este será aplicable -- para el microscopio y ocular utilizados en dicha determinación.
- 5.- Repetir este proceso para el objetivo seco fuerte y para el objetivo de inmersión.

B).- MEDICION.

- 1.- Para la medición de una estructura microscópica bastará con colocar la -- preparación deseada en lugar del micrómetro objetivo, observar a cuántos espacios del ocular micrométrico corresponde y multiplicar éstos por el coeficiente micrométrico. Se determina así su tamaño expresado en micras.

C).- OBSERVACION DEL AGUA DE CHARCO.

- 1.- Tomar una gota de agua de charco con una pipeta Pasteur.
- 2.- Colocarla en un portaobjetos, cubrirla con una laminilla y observar a seco fuerte.

3.- Poner otra gota de agua de charco en un portaobjetos, adicionarle una gota de colorante rojo neutro, cubrir con una laminilla y proceder a su observación - igual que en el caso anterior.

D).- OBSERVACION DE PREPARACIONES FIJAS .

1.- Observar al microscopio las preparaciones proporcionadas con objetivos seco débil, seco fuerte e inmersión.

2.- Anotar las medidas de tres de las estructuras proporcionadas.

PREGUNTAS

a).- ¿Se puede utilizar el mismo factor o coeficiente micrométrico para otro microscopio u ocular diferentes a los utilizados en la calibración?

b).- ¿Por qué es importante la observación de seres de vida libre en el agua de charco?

c).- De los protozoos parásitos intestinales observados, ¿cuál es el de mayor tamaño y cuáles son sus principales características morfológicas?

d).- ¿Qué características diferenciales existen entre quiste y trofozoito de -- Entamoeba coli y Entamoeba histolytica?

e).- Describir el ciclo de vida de Entamoeba histolytica .

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1, 13, 26, 28, 33.

Práctica Núm. 2

PREPARACION DE FROTIS DE PROTOZOOS. DIVERSAS TECNICAS DE TINCION.

OBJETIVO

Conocer las diferentes técnicas que existen para la observación de protozoos, así como las tinciones que se pueden emplear en ellas.

INTRODUCCION

La técnica a seguir para la observación de protozoos parásitos en muestras biológicas dependerá tanto de la localización del organismo como de la naturaleza de la muestra. De una manera general, las investigaciones de protozoos se pueden agrupar como:

A.- Estudio de parásitos cavitarios:

- 1.- Observación directa.- Se trata de un examen microscópico de especímenes sin teñir, en el que se pueden observar quistes y trofozoitos de protozoarios, huevos y larvas de helmintos que aparecen con aspecto y color naturales. Por ejemplo, la observación de Trichomonas vaginalis móviles en exudado vaginal añadido de solución salina isotónica.
- 2.- Tinción con lugol.- Se emplea principalmente para estudiar las características diagnósticas de quistes de protozoarios y huevos de helmintos, ya que el yodo destruye a los trofozoitos.
- 3.- Preparaciones permanentes con hematoxilina férrica.- Se utilizan principalmente para el estudio de caracteres morfológicos y diferenciales de protozoarios coprozoicos.

B.- Estudio de parásitos sanguíneos. - Exámenes microscópicos que incluyen:

1.- Gota gruesa.- Es un método de concentración que requiere necesariamente hemolizar la muestra sanguínea. Para su observación se tiñe con los colorantes de Giemsa o Wright.

2.- Frotis sanguíneo:- Examen que permite una diferenciación morfológica -- de protozoos parásitos y su relación con células sanguíneas, al teñirse con los colorantes antes mencionados.

C.- Improntas y biopsias.- Exámenes practicados en lesiones de órganos y tejidos para la búsqueda de un posible agente etiológico. Las biopsias pueden ser obtenidas por exéresis quirúrgica mientras que las improntas son simples frotis preparados por aposición o sea por impresión. Ambas suelen teñirse con hematoxilina-eosina para su estudio.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Serie de alcoholes (50-96')
Vasos de Precipitado (o frascos) (12)	Solución de sulfato amónico férrico al 2%
Portaobjetos	Solución de hematoxilina al 0.5%
Aplicadores de madera	Xilol
Lancetas de sechables	Bálsamo de Canadá
Colorante de Giemsa	Muestra Sanguínea
Solución Fijadora de Schaudinn	Materia Fecal

TECNICA

A).- Extensión Sanguínea.

- 1.- Limpiar la yema de un dedo o el lóbulo de una oreja y puncionar con una — lanceta desechable.
- 2.- Desechar la primera gota de sangre y la segunda colorarla en un portaobje- tos limpio y desengrasado.
- 3.- Hacer una extensión lo suficientemente delgada como para que se lean los caracteres de imprenta a través de ella colocando otro portaobjetos en un ángu- lo de 45° .
- 4.- Secar al aire .

B).- Gota Gruesa .

- 1.- Colocar en otro portaobjetos o en el extremo del anterior una gota de sangre de mayor tamaño que la utilizada en la extensión sanguínea.
- 2.- Desfibrinar con la esquina de un portaobjetos, aguja o aplicador de made— ra extendiéndola rápida y homogéneamente para formar una pelfcula de unos — 20 mm de diámetro.
- 3.- Secar al aire.

C).- Tinción con Giemsa.

- 1.- Fijar la extensión con unas gotas de alcohol etílico o metílico. Dejar ac— tuar 2 ó 3 minutos, desechar el exceso y dejar evaporar el resto. La gota grue— sa no requiere fijación.
- 2.- Cubrir con el colorante diluido por espacio de 20 ó 30 minutos cuidando —

que la preparación no se seque.

3.- Lavar con agua corriente.

4.- Secar al aire .

5.- Observar a inmersión.

D).- Tinción con Hema toxilina férrica.

1.- Practicar sobre un cubreobjetos limpio, con ayuda de un aplicador de madera, una extensión de materia fecal lo suficientemente delgada como para que se lean los caracteres de imprenta a través de ella.

2.- Fijar la extensión con solución de Schaudinn calentada a 60 por espacio - de 5 minutos (mínimo), sumergiendo el cubreobjetos con la cara inferior hacia arriba.

3.- Deshidratar en alcohol de 70° durante 2 minutos.

4.- Lavar para eliminar el fijador con solución de alcohol de 70 yodado durante 2 minutos.

5.- Pasar sucesivamente a alcoholes de 70° y de 50° dejando el cubreobjetos - en cada uno de ellos 2 minutos.

6.- Lavar en agua destilada durante 2 minutos.

7.- Sumergir en solución de alumbre de hierro al 2% y calentada a 40 durante 2 minutos.

8.- Lavar en agua corriente durante 3 minutos.

9.- Teñir sumergiendo en solución acuosa de hema toxilina al 0.5% durante 2 - minutos. (A veces es necesario más tiempo hasta que la extensión se vea negra).

- 10.- Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
- 11.- Diferenciar con solución acuosa de alumbre de hierro al 2% frfa entre porta y cubreobjetos al microscopio con objetivo seco fuerte. (Observar cuidadosamente la preparación para evitar decoloración excesiva, durante 2-5 minutos).
- 12.- Lavar con agua durante 15 minutos.
- 13.- Deshidratar sumergiendo el cubreobjetos sucesivamente en alcoholes de 70-80-90 y 96°, dos minutos en cada uno de ellos.
- 14.- Colocar en xilol durante 5 - 10 minutos.
- 15.- Montar el cubreobjetos en Bálsamo de Canadá.
- 16.- Observar a inmersión.

PREGUNTAS

- a).- Importancia diagnóstica de la gota gruesa.
- b).- ¿Qué es un mordente? Indicar en la técnica de hematoxilina cómo actúa y cuál es.
- c).- ¿Qué otros colorantes pueden emplearse para la tinción de protozoos — sanguíneos?
- d).- ¿Qué tipo de preparaciones y tinciones se usan para la búsqueda de — plasmodios y tripanosomas?
- e).- ¿Qué exámenes se practican para el diagnóstico de leishmaniasis?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

3, 13, 17, 26, 33.

Práctica Núm. 3PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO PARA DIVERSOS PROTOZOOS.

OBJETIVO

Conocer la importancia del uso de los medios de cultivo en el diagnóstico de las parasitosis causadas por protozoos, así como la bibliografía mínima en la que se encuentra su preparación y manipulación.

INTRODUCCION

La técnica del cultivo constituye una parte sustancial del estudio actual de los parásitos animales, sobre todo en especies de protozoos. Se han descrito una gran variedad de medios para el cultivo de los mismos, perteneciendo la mayor parte de ellos a tres categorías: Líquidos (monofásicos); Sólidos cubiertos de líquido (bifásicos) y semisólidos (monofásicos).

Los diferentes medios para el cultivo de protozoos se han clasificado en tres grupos: 1.- Los que permiten el desarrollo de amibas; 2.- Los que sirven para cultivar flagelados; 3.- Los destinados a cultivo de ciliados. En el caso particular de cultivo de amibas (especialmente E. histolytica) se han desarrollado muchos medios que han permitido el diagnóstico de infecciones leves. Dentro de ellos cabe mencionar el medio de huevo coagulado (Boeck y Drbohlav) y el de Diamond. Este último permite la obtención de cultivos axénicos de E. histolytica, es decir, cultivos puros. Este tipo de cultivo es particularmente útil para la extracción de antígenos específicos de E. histolytica, que pueden ser empleados en reacciones inmunológicas

con fines diagnósticos. Por ejemplo: Seramoeba, Amebogen, etc.

La muestra de materia fecal que se utiliza para la inoculación de cualquiera de los medios mencionados se debe obtener sin purgante. Sin embargo, en casos de pacientes con colitis crónica en las que se han obtenido resultados negativos por otros métodos, al administrarle un purgante e inocular con materia fecal el medio seleccionado se ha podido aislar a E. histolytica.

En general, los propósitos del uso de medios de cultivo son:

- 1.- Diagnóstico preciso del parásito, como suplemento a otros métodos, o para establecer el diagnóstico cuando las técnicas habituales no han dado resultado.
- 2.- Cultivo de microorganismos para la preparación de antígenos útiles en el diagnóstico inmunológico.
- 3.- Fuente de material para enseñanza, particularmente cuando el material clínico no se encuentra disponible.
- 4.- Como fuente para la inoculación de animales susceptibles en experimentación.
- 5.- Prueba de fármacos in vitro.
- 6.- Investigación de la fisiología de los parásitos.

De los muchos medios satisfactorios para el desarrollo de protozoos, sobresalen los siguientes: Monofásico de Balamuth, Difásico de Boeck y Drbohlav, Transparente de Shaffer, Ryden y Frye, y los de Philip,—

Novy, Mac Neal y Nicolle (NNN), Weinman, Diamond, etc.

TECNICA

Se le indicará al alumno la bibliografía que deberá consultar con el fin de que investigue la preparación, inoculación y manipulación de los medios NNN y Diamond.

PREGUNTAS

- a).- ¿Qué medios se usan para el cultivo de Leishmania mexicana?
- b).- Importancia del medio de Boeck y Drbohlav para el diagnóstico de la amibiasis.
- c).- ¿Cómo se interpreta un cultivo negativo proveniente de una muestra que ha dado coproparasitoscópicos positivos?
- d).- ¿Cómo se pueden separar los contaminantes en un medio de cultivo?
- e).- ¿Qué formas adopta T. cruzi en el medio NNN? ¿En qué parte del medio ocurre su desarrollo?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

7, 10, 13, 14, 20.

Práctica Núm. 4

OBSERVACION DIRECTA DE MATERIA FECAL. IDENTIFICACION DE RESTOS
ALIMENTICIOS.

OBJETIVO

Distinguir en la observación directa de materia fecal los elementos propios de los parásitos que se puedan encontrar en ella.

INTRODUCCION

La realización de los exámenes directos es valiosa porque permite el estudio de parásitos vivos. En ellos podemos observar trofozoitos y quistes de protozoarios; huevos y larvas de helmintos.

El método por el cual se recolecta la muestra, así como el tiempo que tarda en procesarse son importantes para la observación de resultados positivos en este tipo de examen. Es por esto que en caso de búsqueda de trofozoitos y larvas de helmintos las muestras deben procesarse dentro de las primeras 2 horas después de su emisión si son conservadas a temperatura ambiente. En caso de quistes o huevos, durante las primeras 24 horas si se conservan en refrigeración. De no ser posible observar la muestra en los plazos señalados se podrá añadir un conservador en partes iguales homogenizando, como por ejemplo MIF o PVA para protozoos; Glicerina, Fenol al 88% o Lactofenol para helmintos.

Para la recolección de la muestra existen varios métodos, por ejemplo tratándose de niños con diarrea o disentería se usa el método de la

cucharilla rectal que consiste en un tubo de vidrio de 0.5 cm. de diámetro - ensanchado en uno de los extremos . La obtención de la muestra se hace introduciendo la cucharilla en la región anal y haciéndola girar con el objeto de - recoger la materia fecal (aproximadamente 0.5 g) que se deposita en un tubo - con solución salina.

Normalmente el adulto evacua materia fecal de color pardo de -- distinta intensidad . Esta coloración puede variar por el régimen alimenticio - y en ocasiones por la presencia de sangre la que le confiere tonalidades -- que van del rojo al negro. Por ello se recomienda en estos casos practicar - el examen de "sangre oculta" .

Al practicar el examen directo se debe tener especial cuidado - para distinguir claramente los parásitos de las estructuras frecuentemente - presentes en la materia fecal. No deben de confundirse los leucocitos o -- células y macrófagos con trofozoitos de amibas , pelos vegetales con lar-- vas y granos de almidón o glóbulos de aceite con huevos de helmintos.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Solución salina isotónica

Portaobjetos y cubreobjetos (2)

Lugol

Aplicadores de madera o varilla

Materia fecal

de vidrio

TECNICA

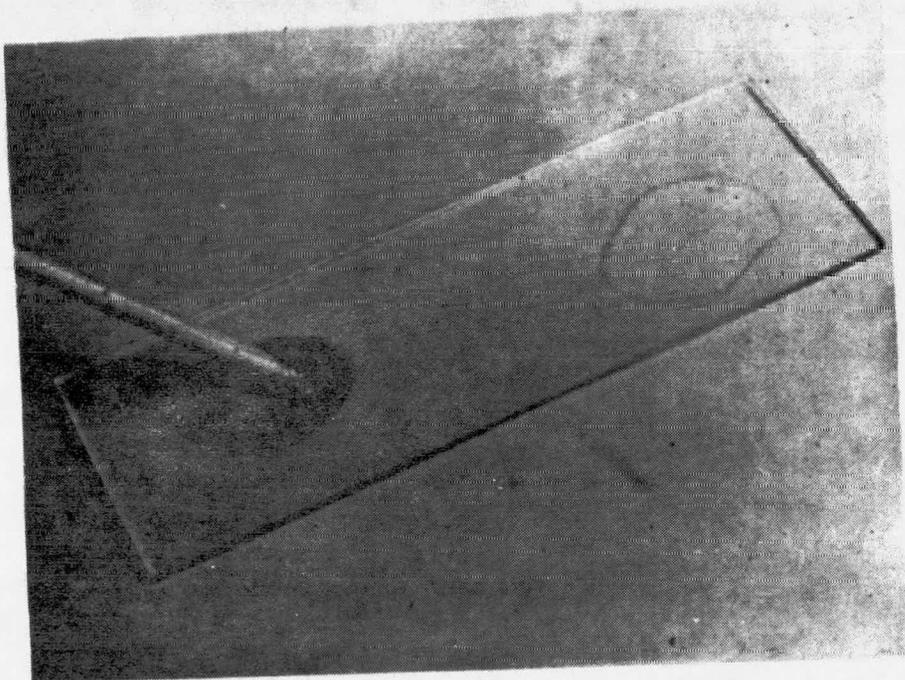
- 1.- En un portaobjetos limpio, colocar una gota de solución salina, y en otro una gota de lugol.
- 2.- Con un aplicador de madera tomar una muestra de materia fecal y mezclarla con una gota de solución salina. Colocar cuidadosamente el cubreobjetos.
- 3.- Repetir el procedimiento con la gota de lugol.
- 4.- Observar a seco débil y seco fuerte, identificando estructuras y parásitos.

PREGUNTAS

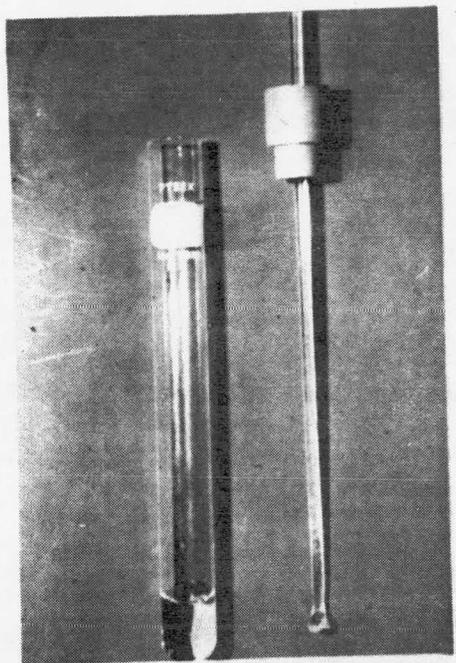
- a).- ¿Cuál es la importancia del examen directo?
- b).- ¿Cómo se efectúa la recolección de muestras de materia fecal para examen directo?
- c).- ¿Cuántas muestras se procesan para dar un resultado negativo en examen directo? ¿Por qué?
- d).- Describir la apariencia del quiste de E. histolytica teñido con lugol.
- e).- ¿En qué tipo de materia fecal se encuentran trofozoítos de Giardia lamblia? ¿Por qué?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

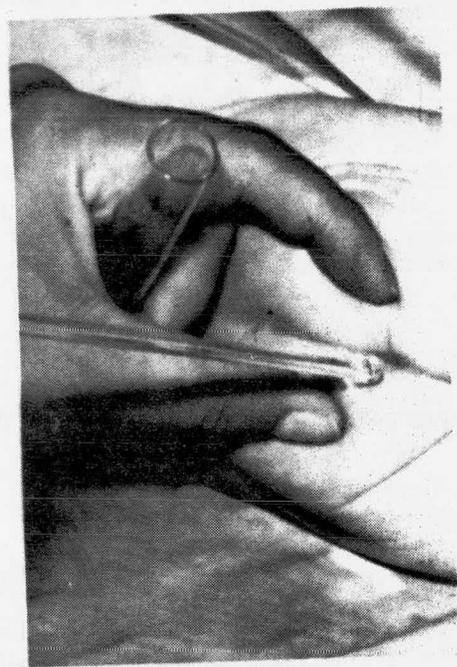
2, 5, 9, 11, 24, 38 .



Observación Directa de Materia Fecal (Depto. de Ecología Humana.)



Cucharilla Rectal (Depto. Ecología Humana).



Toma de Muestra con cucharilla Rectal (Depto. de Ecología Humana).

Práctica Núm. 5COPROPARASITOSCOPICOS POR CONCENTRACION (CUALITATIVOS)

OBJETIVO

Comprender la importancia de los exámenes coproparasitoscópicos cualitativos en el diagnóstico clínico de ciertas parasitosis.

INTRODUCCION

Las técnicas de concentración constituyen un procedimiento muy valioso en la búsqueda de elementos parásitos microscópicos en la materia fecal, porque permiten su mejor separación de otras estructuras presentes en ella.

Al realizar un examen coproparasitoscópico cualitativo con fines diagnósticos, se logra muestrear igual cantidad de materia fecal que si se realizan observaciones directas detalladas de varias porciones de la misma. Ello radica en que los métodos de concentración se logra separar los elementos parásitos de acuerdo a su peso específico, que oscila entre 1.05 a 1.11 .

Dentro de ellos se distinguen básicamente los métodos de sedimentación y los de flotación; existiendo también una combinación de ambos.

La técnica de sedimentación utiliza soluciones de densidad menor a 1.05 que permite la concentración de quistes de protozoarios y huevos de helmintos en el fondo del recipiente. Al contrario de éste en los métodos de flotación, los parásitos existentes en la muestra tratada son recogidos de la película superficial, porque se usan soluciones más densas que ellos (densidad

mayor a 1.11). Este último método se emplea con éxito para concentrar huevos no operculados y quistes.

En caso de individuos con síntomas sugestivos de parasitosis por helmintos es necesario insistir con exámenes coproparasitológicos para — detectarlos debido a que su ciclo de vida influye en la eliminación de huevos y larvas.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Gasa cortada en cuadros (7 x 7 cm)
Centrifuga	Lugol
Vaso de precipitados de 50 ml	Solución de $ZnSO_4$ <u>densidad 1.18</u> -
Tubos de 13 x 100 con tapón (4)	(33%)
Embudo de plástico (5.5 cm diam)	Eter sulfúrico
Pipetas Pasteur con bulbo de hule (2)	Solución de formalina al 10%
Portaobjetos y cubreobjetos	Solución salina isotónica
Varilla de vidrio	Materia fecal
Abatelenguas	
Asa bacteriológica (6 mm diam.)	

TECNICA

A.- Método de Faust y cols.

1.- Poner con un aplicador aproximadamente 1 g de materia fecal en un vaso de precipitados, agregar 10 ml de solución salina isotónica y homogeneizar.

- 2.- Filtrar la suspensión a través de la gasa colocada en un embudo, recibiendo en el tubo para centrífuga.
- 3.- Centrifugar durante 45-60 segundos a 2500 rpm. Tirar el líquido sobrenadante y añadir 2 a 3 ml de agua al sedimento, agitándolo. Añadir agua hasta llenar el tubo.
- 4.- Repetir la maniobra anterior tres o cuatro veces hasta que el líquido que sobrenade sea claro.
- 5.- Agregar 8-9 ml de solución de sulfato de Zinc, densidad 1.18. Una vez tirado el último sobrenadante agitar para homogeneizar y adicionar suficiente solución para llenar el tubo.
- 6.- Centrifugar durante 45-60 segundos a 2500 rpm.
- 7.- Tomar con un asa bacteriológica la película superficial del líquido y colocarla en un portaobjetos, añadir una gota de lugol para teñir la mezcla. Homogeneizar la preparación, cubrir con una laminilla. (Se pueden recoger los parásitos formando un menisco convexo con el sulfato y colocando un cubreobjetos sobre la boca del tubo).
- 8.- Observar cuidadosamente a seco débil y seco fuerte.

B.- Método de Ritchie

- 1.- Poner con un aplicador aproximadamente 1 g de materia fecal en el vaso de precipitados, agregar 10 ml de solución salina isotónica y homogeneizar.
- 2.- Filtrar la suspensión a través de la gasa colocada en un embudo recibiendo en el tubo para centrífuga.

- 3.- Centrifugar durante 1 minuto a 2000 rpm desecar el sobrenadante.
- 4.- Repetir el pas número 3 las veces que sea necesario (generalmente 2 ó 3) con el fin de obtener el sedimento más limpio.
- 5.- Agregar 10 ml de formalina al 10% y dejar en reposo la suspensión aproximadamente 10 minutos (fijación).
- 6.- Agregar 5 ml de éter, tapar el tubo y agitar vigorosamente durante 30 segundos.
- 7.- Centrifugar durante 1 minuto a 1500 rpm, observando la formación de cuatro capas: 1. Eter, 2. Restos fecales, 3. Formol y 4. Sedimento.
- 8.- Introducir una pipeta Pasteur y extraer con cuidado el sedimento.
- 9.- Colocar una gota del sedimento sobre un portaobjetos, agregar una gota de lugol y cubrir con una laminilla.
- 10.- Observar a seco débil y seco fuerte.

PREGUNTAS

- a).- ¿Cuál es el fundamento del método de Faust?
- b).- Desventajas de los métodos de flotación.
- c).- Mencionar otros dos métodos de concentración diferentes a los señalados en la práctica, añadiendo las ventajas o desventajas de los mismos.
- d).- ¿Qué objeto tiene el añadir el éter en el método de Ritchie?
- e).- ¿Qué técnica coproparasitoscópica se puede utilizar en una zona rural?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

8, 11, 31, 37, 44.

Práctica Núm. 6METODO DEL EMBUDO DE BAERMANN Y CAPSULA DE BEALE

OBJETIVO

Conocer otro tipo de exámenes directos cualitativos, útiles en el diagnóstico de parasitosis frecuentes en nuestro país.

INTRODUCCION

El método del embudo de Baermann constituye un procedimiento — útil para el aislamiento de larvas móviles de muestras de materia fecal, de — ahí que se aplique en el diagnóstico de algunas de las helmintiasis.

Aunque la mayor parte de los diagnósticos parasitológicos se practiquen en la materia fecal, ésta no constituye el único tipo de muestra a utilizar. En casos de giardiasis, uncinariasis, estrongiloidosis, fasciolosis, resulta adecuado el usar la cápsula de Beale para obtener muestras de contenido duodenal en donde es posible observar los elementos parásitos, muy particularmente los trofozoitos de Giardia lamblia, huevos de H. nana y de F. hepatica.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Embudo de tallo corto de 10 a 12 cm diam.
Centrífuga	Tubos de 13 x 100
Soporte	Vidrio de reloj
Pinzas de Hoffman	Pipetas Pasteur con bulbo de hule
Termómetro 0-100°C (por mesa)	Portaobjetos y cubreobjetos

10 cm de tubo de hule

Guan tes de hule

Gasa

Cáps ula de Beale

Tela adhesiva

Mate ria fe cal

TECNICA

A).- Método de Baermann

- 1.- Montar el equipo como se muestra en la figura núm. 1.
- 2.- Depositar de 8 a 10 g de materia fecal sobre la gasa.
- 3.- Llenar el embudo con agua que esté a 40-42°C, de manera que la materia fecal quede parcialmente sumergida en el agua.
- 4.- Dejar en reposo una hora, tiempo en el cual las larvas existentes en la materia fecal, pasarán al agua tibia, acumulándose en el tubo de hule.
- 5.- Abrir la pinza y recibir el agua en los tubos de ensaye (aproximadamente 10 ml).
- 6.- Centrifugar a 1500 rpm durante 1 minuto.
- 7.-Tomar una gota de sedimento, colocarla sobre un portaobjetos.
- 8.- Añadir una gota de lugol y cubrirla con una lamina.
- 9.- Observar a seco débil y seco fuerte.

B).- Cápsula Duodenal (Beale).

- 1.- Indicar al paciente que se someta a la prueba, que deberá estar en ayunas.
- 2.- Administrar la cápsula ayudando a su ingestión con té o jugo de naranja,

reteniendo el hilo libre entre los dedos índice y pulgar.

3.- Fijar el extremo libre del hilo al carrillo con tela adhesiva.

4.- El paciente debe caminar aproximadamente 15 minutos.

5.- Recostar al paciente en decúbito lateral de recho aproximadamente $\frac{1}{2}$ hora.

6.- El paciente puede hacer sus labores habituales.

7.- La cápsula debe permanecer en el duodeno dos a dos y media horas.

8.- Retirar el hilo mediante tracción suave pero sostenida.

9.- Si el extremo del hilo estuvo en duodeno, debe tener coloración verde-amarillenta.

10.- Exprimir con los dedos índice y pulgar la porción que estuvo en duodeno y recibir el producto en un vidrio de reloj o en un recipiente similar.

11.- Obtener una muestra con pipeta Pasteur y colocarla sobre un portaobjetos, cubrir con una laminilla.

12.- Observar a seco débil, seco fuerte.

PREGUNTAS

a).- ¿ Por qué se utiliza agua caliente para humedecer la muestra de materia fecal en el método de Baermann?

b).- ¿ Por qué se prefiere actualmente el método de la cápsula de Beale para el diagnóstico de giardiasis?

c).- ¿ A qué se debe que se encuentren solo determinados parásitos en el líquido duodenal?

- d).- Ventajas de la obtención del contenido duodenal por el método de Beale? .
- e).- Ventajas y desventajas del método de Baermann.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

31, 38, 40, 43.

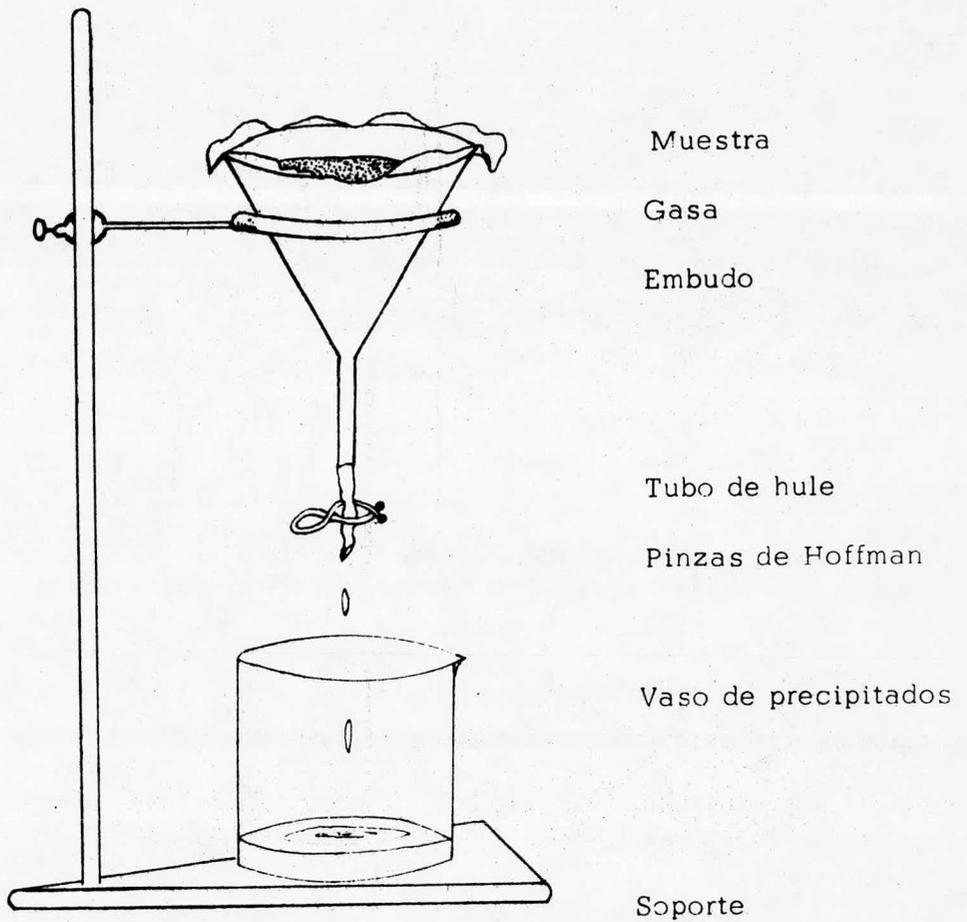


Figura Núm. 1

Práctica Núm. 7COPROPARASITOSCOPICO CUANTITATIVO. METODO DE FERREIRA Y DE STOLL

OBJETIVO

Aprender las técnicas coproparasitoscópicas cuantitativas útiles en la determinación de helmintiasis masivas, en las que se presentan manifestaciones clínicas severas.

INTRODUCCION

En encuestas de poblaciones infectadas por parásitos resulta indispensable determinar la severidad de los padecimientos mediante la obtención del número aproximado de huevos expulsados, ya que están directamente relacionados con el número de helmintos adultos que pueden parasitar a un individuo.

Con el fin de efectuar adecuadamente el diagnóstico de una helmintiasis intestinal se requiere de muestras seriadas ya que la expulsión diaria de huevos varía dependiendo de diferentes factores como pueden ser: ciclo biológico del parásito, interrelación huésped-parásito, dieta, efecto de la consistencia de materia fecal, defectos de digestión, etc.

El método de Ferreira es un procedimiento de concentración cuantitativo por flotación-centrifugación. Se le considera eficaz en un 80% para la observación de huevos, quistes y larvas de parásitos en infecciones ligeras.

El método de Stoll es un método de dilución cuantitativo que emplea NaOH 0.1 N para saponificar las grasas de la materia fecal, facilitando-

la observación de quistes y huevos mezclados con ella.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Campaña de Ferreira
Centrífuga	Abatelenguas
Probeta graduada 100 ml con tapón	Gasa cortada en cuadros (7 x 7 cm)
Vaso de precipitados de 250 ml	Lugol
Tubos de ensaye de 25 x 100	Sol. ZnSO ₄ densidad 1.192
Embudo de 5 a 7 cm de diam.	Sol. de formol al 2%
Pipetas de 1 ml	Sol. de NaOH 0.1 N
Portaobjetos y cubreobjetos	Materia fecal
Varilla y perlas de vidrio	

TECNICA

A) .- Método de Ferreira

- 1.- Tomar con el abatelenguas una muestra de aproximadamente 1 g y pasarla al vaso de precipitados de 250 ml, previamente tarado con el abatelenguas. Por diferencia de pesos tendremos el peso de la muestra.
- 2.- Hacer una suspensión de la materia fecal pesada, en formol al 2%; 1 a 9 para obtener una dilución 1:10.
- 3.- Eliminar las partículas gruesas de la suspensión por filtración, a través de una capa de gasa húmeda en un embudo. Recibir en un tubo de 25 x 100 — hasta llenarlo .

- 4.- Centrifugar el tubo con la suspensión a 15 00 rpm durante 1 minuto.
- 5.- Decantar el líquido sobrenadante y el sedimento resuspenderlo en más agua formolada con agitación, hasta aproximadamente tres cuartas partes del tubo.
- 6.- Repetir el lavado y el centrifugado el número de veces que sea necesario hasta obtener un sobrenadante claro (2 ó 3 veces).
- 7.- Adicionar al sedimento (después del último lavado) $ZnSO_4$ con densidad 1.192 .

- 8.- Introducir la campana de Ferreira dentro del tubo de centrifuga adaptando a la punta de la misma un pequeño tubo de hule y añadir más solución de $ZnSO_4$ hasta llenarlo.
- 9.- Centrifugar nuevamente a 15 00 rpm durante 1 minuto.
- 10.- Tomar la campana por la parte del tubo de goma presionándola con los dedos índice y pulgar de manera que al sacarla del tubo no se caiga el material flotante, donde se encontrarán quistes, huevos y larvas que se han juntado en la rama angosta de la campana.
- 11.- Invertir la campana apuntando sobre un portaobjetos con la parte del tubo de goma y agregar 2 ó 3 gotas de lugol por la parte ancha de la campana. Por gravedad caerá todo el material flotante sobre el portaobjetos, además el lugol arrastrará algunos elementos que se hubieran quedado detenidos en la rama delgada.
- 12.- Mezclar con el borde de un cubreobjetos y colocarlo encima de la gota

ya mezclada.

13.- Contar los huevos de toda la preparación con el objetivo seco débil.

14.- Cálculos: El número de huevos y larvas encontrados en el area del cubreobjetos se multiplica por 5, expresándose el resultado en número de huevos por gramo de heces (h.g.h.).

B).- Método de Stoll

1.- Llenar la probeta hasta la marca 56 ml con solución de NaOH 0.1 N.

2.- Adicionar con ayuda de un palillo aplicador suficiente materia fecal para llevar el nivel de líquido hasta la marca de 60 ml.

3.- Añadir 15-20 perlas de vidrio, cerrar herméticamente y agitar para obtener una muestra homogénea .

4.- Tomar sin permitir que sedimente con pipeta graduada 0.15ml de suspensión y colocarlo entre portaobjetos y cubreobjetos.

5.- Contar los huevos o larvas de toda la preparación con el objetivo seco débil.

6.- Cálculos: El número de huevos o larvas expulsados por día se obtienen multiplicando por:

100 si la materia fecal es dura.

200 si es pastosa.

400 si es líquida.

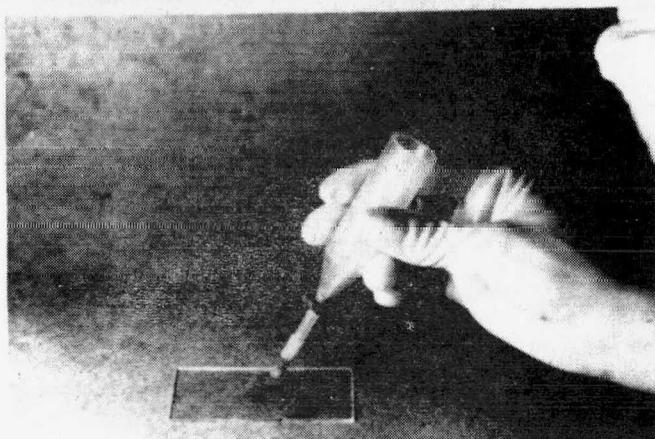
El resultado se expresa en huevos por ml de materia fecal, larvas por ml de materia fecal. Los quistes simplemente se anotan como presentes.

PREGUNTAS

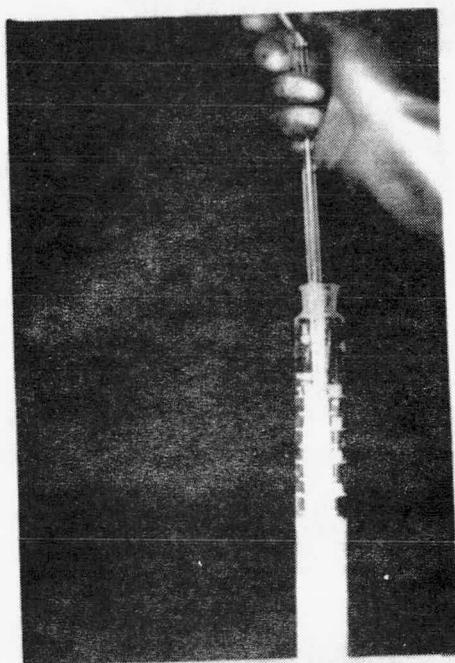
- a).- De los métodos anteriormente citados indique cuál es el mejor y por qué.
- b).- Investigar la cifra mínima de huevos por gramo de materia fecal que deben encontrarse para considerar masiva una helmintiasis (mencionar cuando menos cuatro).
- c).- ¿ A qué se deben estas variaciones de h.g.h.?
- d).- ¿ Para la técnica de Ferreira se puede utilizar $ZnSO_4$ de diferente densidad?, por qué?
- e).- ¿ En qué influye la consistencia de la materia fecal?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

2, 7, 10, 11.



Forma en que se maneja la Campa na de Ferrei-
ra para depos itar la muestra (Depto. Ecología -
Humana).



Probeta graduada usada en el
método de Stoll (Depto. Ecolo-
gía Humana).

Práctica Núm.8

PROTOZOOS PARENTERALES. OBSERVACION DE T. CRUZI A PARTIR DE MEDIO DE CULTIVO, EN RATON, DE TRIATOMAS (XENODIAGNOSTICO). COLORACION DE FROTIS UTILIZANDO EL METODO DE GIEMSA. CULTIVO

OBJETIVO

Estudiar los diferentes métodos diagnóstico para la enfermedad de Chagas, que se ha comprobado es endémica en varios estados de nuestro país.

INTRODUCCION

T. cruzi es un microorganismo de localización hemática y parenteral, agente etiológico de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana. Durante su ciclo de vida presenta 4 estados fundamentales que actualmente se encuentran denominados de la manera siguiente: la antigua forma de leishmaniasis se conoce como amastigote, a la forma leptomonas como promastigote, a la forma de crithidia como epimastigote y finalmente como tripomastigote a la de tripanosoma.

Presenta dos fases en su ciclo vital, una en el hombre o en el reservorio y otra en el insecto transmisor. En la sangre del huésped se encuentra en la forma característica de tripomastigote, mientras que en el interior de las células fijas del mamífero son fagocitados por macrófagos del sistema retículo endotelial, en los cuales se multiplican. Al romperse éstos, se liberan pasando algunos a la sangre y otros a las células de dife-

rentes órganos, como son miocardio, intestino, hígado, etc. El tripanosoma es transmitido por insectos pertenecientes a la familia Reduvidae y a los géneros Triatoma, Rhodnius, Dipetalogaster, Panstrongylus y Eratyrus.

Una vez que penetra T. cruzi al organismo, pueden observarse dos fases (aguda y crónica) que varían en el diagnóstico según la fase en que se encuentra. La demostración del parásito resulta más fácil en la crónica y se basa en lo siguiente:

a).- Observación directa de la sangre periférica por medio del estudio de extensiones y gota gruesa teñidos por la técnica de Giemsa o Wright. El parásito se ve en la forma de tripomastigote con el citoplasma azul, el núcleo, cinetoplasto y flagelo de color rojo oscuro.

b).- Hemocultivo.- Se efectúan con el fin de corroborar un diagnóstico de tripanosomiasis americana o para mantenerla por tiempo indefinido, si se persiguen otros fines se dispone para ello de medios especiales como el de NNN o el de Diamond.

c).- Inoculación de animales.- Se lleva a cabo con sangre de pacientes sospechosos e investigando después la presencia de tripomastigotes en sangre de los animales.

d).- Xenodiagnóstico.- Se realiza con triatomas limpios (de laboratorio) los cuales se contaminan al picar a un enfermo. Después de 10 a 15 días se les hace defecar, observando las deyecciones al microscopio en busca de tripomastigotes metacíclicos.

e).- Cortes histológicos.- Biopsias practicadas en órganos de pacientes -- con tripano somias americana crónica.

También puede efectuarse un diagnóstico de laboratorio recurriendo a los exámenes serológicos basados en la demostración de anticuerpos -- los cuales son detectados mediante las siguientes pruebas: 1) Inmunofluorescencia, 2) Fijación de complemento (utilizando el antígeno de Machado y -- Guerreiro) y 3) Aglutinación de partículas de látex sensibilizadas.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Colorante de Giemsa
Tijeras	Ratón inoculado con <u>T. cruzi</u>
Pipetas Pasteur estériles con bulbo	Triatomas limpios e infectados
Portaobjetos y cubreobjetos	Preparaciones teñidas de <u>T. cruzi</u>
Guantes de hule	

TECNICA

A).- Observación en fresco, preparación y tinción de extensiones.-

- 1.- Practicar a un ratón inoculado con T. cruzi un corte en la porción distal de la cola.
- 2.- Poner una gota de la sangre obtenida entre portaobjetos y cubreobjetos.
- 3.- Observar directamente primero a seco débil y después a seco fuerte reconociendo los tripanosomas presentes.
- 4.- Poner otra gota de sangre en el extremo de un portaobjetos y efectuar --

una extensión.

5.- Secar al aire .

6.- Fijar con alcohol metílico absoluto durante 1 minuto.

7.- Cubrir la preparación con el colorante diluido durante 10-20 minutos.

8.- Lavar durante 2 minutos en agua corriente.

9.- Dejar secar y observar a inmersión.

B).- Inoculación de medios de cultivo .-

1.- Puncionar la vena de la cola de un ratón inoculado con T. cruzi para obtener 0.5 ml de sangre.

2.- Sembrar los tubos con el medio NNN depositando la sangre obtenida en el agua de condensación del mismo.

3.- Incubar a temperatura ambiente (22-30° C). Aproximadamente a los 3 días pueden observarse formas flageladas.

4.- Tomar del líquido de condensación y de la parte del medio sólido inmediatamente superior a él para efectuar su estudio microscópico.

5.- Colocar 1 gota entre portaobjetos y cubreobjetos.

6.- Observar en fresco con objetivo seco débil y seco fuerte, reconociendo las formas de leptomonas que adopta T. cruzi al ser inoculado a medios de cultivo.

C).- Demostración del Xenodiagnóstico.- El maestro mostrará la manera de trabajar con los triatomas, observando los tripomastigotes metaclicoccos que se encuentran en el intestino terminal de éstos.

D).- Observación de preparaciones fijas de T.cruzi.-

1.- Observar a inmersión las preparaciones proporcionadas.

PREGUNTAS

a).- Descripción del ciclo biológico de T.cruzi.

b).- ¿Cuál es el tratamiento según la fase en que se encuentre el paciente (aguda y crónica)?

c).- Profilaxis de la enfermedad de Chagas.

d).- ¿Cuáles son los huéspedes reservorios de T.cruzi y la importancia de éstos?

e).- Ventajas y desventajas que presentan las técnicas de diagnóstico antes mencionadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

8, 20, 37, 44, 47.

Práctica Núm. 9OBSERVACION DE CORTES E IMPRONTAS DE LESIONES CAUSADAS PORL. MEXICANA Y L. DONOVANI

OBJETIVO

Identificar con fines diagnósticos los amastigotes de Leishmania en improntas y cortes histológicos. Con interés principal en L. mexicana ya que la parasitosis producida por éste es endémica en el sureste del país y zona carbonífera de Coahuila.

INTRODUCCION

Los protozoarios productores de la leishmaniasis son parásitos -- flagelados intracelulares que se encuentran comprendidos en la familia Tripanosomatidae, perteneciendo al género Leishmania.

Leishmania mexicana. Agente etiológico de la leishmaniasis cutánea o "úlceras de los chicleros", padecimiento que afecta principalmente a los adultos que trabajan en la extracción del látex para la fabricación del chicle, así como a madereros y cazadores, aunque también se presenta en niños.

Como transmisor de éste parásito en América tenemos a las especies del género Lutzomia, v.g.r. Lutzomia olmeca, que no sólo transmiten la infección al hombre sino también a los reservorios (perros y roedores).

Leishmania donovani. Agente etiológico de la leishmaniasis visceral o Kala-azar. De distribución cosmopolita, se presenta en América como-

una enzootia rural de regiones semiáridas; en México se han diagnosticado — únicamente cuatro casos procedentes de la Cuena del Río Balsas. El trans— misor en México, no se ha descrito y se cree que pertenece al género Lutz —
mia .

El diagnóstico de la "úlcer a de los chicleros" se establece toman— do en cuenta los antecedentes epidemiológicos, así como el aspecto de la le— sión y ratifica mediante exámenes microscópicos de la impronta obtenida de — los bordes regulares y engrosados de la úlcera que se colorea con Giemsa o — Wright.

Para el diagnóstico de leishmaniasis visera l o Kala-azar debemos considerar el antecedente epidemiológico así como las manifestaciones clíni— cas y alteraciones sanguíneas. Para la demostración del parásito se puede — practicar biopsias de bazo , hígado o punción de la médula ósea; con el mate— rial obtenido se hace cultivo en los medios: NNN, Diamond y Nakamura.

Para la demostración de anticuerpos circulantes se emplea en — la actualidad una prueba de inmunofluorescencia indirecta utilizando frotis — de Leishmania como antígeno.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Preparación de bazo infectado (corte histológico)

Impronta de lesión cutánea producida por Leishmania

Corte histológico de úlcera de los chicleros

TECNICA

1.- Observar de cada una de las preparaciones a seco débil, seco fuerte e inmersión.

PREGUNTAS

- a).- ¿Cuáles son las diferencias de la leishmaniasis causada por L. mexicana de las producidas por otras especies?
- b).- Localización natural de L. donovani en el hombre.
- c).- Patogenia de ambos tipos de leishmaniasis.
- d).- ¿Cuál es el tratamiento para leishmaniasis y cómo se efectúa la profilaxis?
- e).- ¿Qué otras pruebas serológicas existen aparte de las mencionadas para el diagnóstico de Kala-azar?

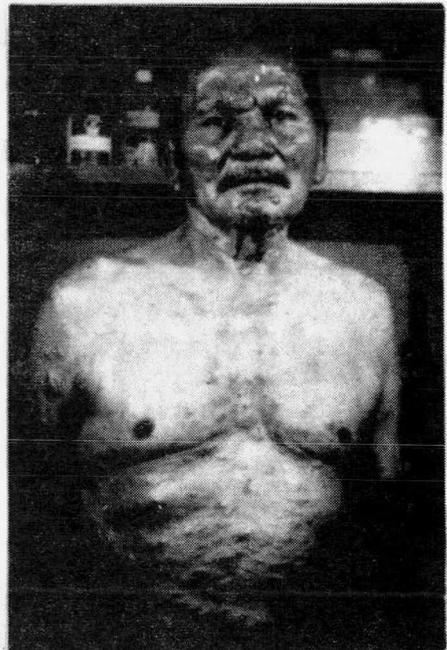
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

3, 9, 11, 44, 46.



"Ulcer de los Chicleros", caso clínico procedente de Quintana Roo (ISET).

Leishmaniasis Visceral tipo verrucosa, caso clínico procedente de Tabasco (ISET).



Práctica Núm. 10FROTIS Y GOTA GRUESA PARA EL DIAGNOSTICO DE PALUDISMO

OBJETIVO

Conocer los métodos habituales para el diagnóstico de paludismo.

INTRODUCCION

El paludismo es debido a la invasión de los eritrocitos por parásitos pertenecientes al género Plasmodium. El diagnóstico de este padecimiento se basa en el hallazgo de las formas de esquizogonia eritrocítica o gametocitos en sangre periférica.

El estudio del parásito en la sangre habitualmente se realiza practicando un examen de gota gruesa y un frotis sanguíneo. La gota gruesa permite la observación de plasmodios de manera compacta en un volumen relativamente grande de sangre, concentrado en un área pequeña, por lo que constituye el método de elección para el diagnóstico aún de enfermedades leves; lo que no ocurre al practicar el frotis sanguíneo, en el que sólo se notarán las características morfológicas de los plasmodios, si es que son abundantes y en cuyo caso es posible diagnosticar la especie.

Por lo anterior se acostumbra realizar la asociación de ambos métodos en el mismo portaobjetos; por medio de la gota gruesa se diagnostica generalmente el padecimiento, y por medio de la extensión, la especie involucrada.

Para la identificación de los parásitos en la sangre se acostumbra utilizar el colorante de Giemsa, que es una modificación de los colorantes de—

Romanowsky. Con él se tiñe el citoplasma de color azul, la cromatina roja, — los eritrocitos azulosos o grisáceos, el núcleo de leucocitos violeta o morado y las plaquetas violeta o rosa.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Alcohol metílico

Portaobjetos

Aceite de inmersión

Lancetas desechables

Ratón inoculado con P. berghei

Colorantes de Giemsa

TECNICA

- 1.- Practicar a un ratón inoculado con P. berghei un corte en la porción distal de la cola, con la sangre obtenida efectuar lo siguiente:
- 2.- Colocar una gota de sangre en un portaobjetos perfectamente limpio y desengrasado.
- 3.- Hacer una extensión delgada colocando otro portaobjetos en un ángulo de 45 grados.
- 4.- Secar al aire.
- 5.- Colocar en otro portaobjetos o en el extremo del anterior, una gota de sangre mayor que la utilizada anteriormente.
- 6.- Desfibrinar con la esquina de un portaobjetos, aguja o aplicador extendiéndola rápida y homogéneamente para formar una película de unos 20 mm de diámetro.

- 7.- Fijar la extensión con unas gotas de alcohol métilico o etílico , dejar — actuar 2 ó 3 minutos, desechar el exceso y dejar evaporar el resto . (la gota-gruesa no requiere fijación).
- 8.- Cubrir con el colorante diluido por espacio de 20 ó 30 minutos, cuidando que la preparación no se seque.
- 9.- Lavar con agua corriente.
- 10.- Secar al aire .
- 11.- Observar a inmersión.

PREGUNTAS

- a).- Describir brevemente el ciclo de Plasmodium sp.
- b).- ¿ Pueden identificarse las especies de plasmodios en la gota gruesa?
¿ Por qué?
- c).- ¿ Se encuentran formas eritrocíticas en sangre periférica de Plasmodium falciparum?
- d).- ¿ Qué formas parásitas predominan en los eritrocitos durante el acceso febril? ¿ Es conveniente realizar un examen durante éste período?
- e).- ¿ Qué otros tipos de diagnóstico existen para el paludismo?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

2, 8, 10, 37.

Práctica Núm. 11DIFERENCIACION DE DIVERSAS ESPECIES DE PLASMODIUM POROBSERVACION MICROSCOPICA

OBJETIVO

Distinguir las variaciones morfológicas útiles para diferenciar especies de Plasmodium.

INTRODUCCION

Dentro de los hematíes ocurre la esquizogonía eritrocítica. Morfológicamente las fases progresivas de este proceso se distinguen por la siguiente secuencia: a) Trofozoitos que se caracterizan por su forma anular; b) Esquizontes, cuya fragmentación cromática facilita la identificación a nivel de especie; c) Gametocitos, en caso de que los merozoitos liberados al romperse el esquizonte no penetren a nuevos eritrocitos y se conviertan en células pre sexuales.

P. vivax: Se caracteriza por la deformación de los hematíes parasitados (generalmente reticulocitos), por la aparición de las granulaciones Schüffner durante la etapa de trofozoito y por esquizontes que presentan de 16 - 18 fragmentos de cromatina.

P. malariae: Se caracteriza por la aparición durante la fase de trofozoito de las granulaciones de Ziemann, además por no presentar deformación eritrocítica, distinguiéndose en los trofozoitos maduros la forma en banda. Sus esquizontes presentan de 6 - 8 fragmentos de cromatina en forma de roseta.

P. falciparum: Se caracteriza por la observación de frecuentes - multiparasitaciones del eritrocito durante la fase anular de trofozoito, así - como granulaciones de Maurer. Sus esquizontes tienen de 18-22 fragmentos - de cromatina que son difícilmente observados en sangre periférica, siendo - por lo tanto de importancia diagnóstica en este caso la observación de game- - tocitos en forma de plátano o salchicha.

P. ovale: Muy similar a P. vivax.

El nivel de parasitemia máxima habitual es de 8000 a 20 000 por - cc de sangre en P. vivax, menos de 10 000 en P. malariae, puede alcanzar - 500 000 por mm³ en P. falciparum y menos de 10 000 por mm³ en P. ovale.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto.

Preparaciones fijas de: P. vivax, P. malariae, P. falciparum y P. ovale.

TECNICA

- 1.- Observar microscópicamente las preparaciones a inmersión y distinguir - las características morfológicas de cada especie.
- 2.- Dibujar esquemáticamente los eritrocitos parasitados por las diferentes - especies de Plasmodium.

PREGUNTAS

- a).- En caso de que un individuo esté parasitado por dos o más especies de Plasmodium, ¿Qué consecuencias traería y como se manifiesta clínicamente?
- b).- ¿ A qué se debe las recidivas del paludismo? ¿Qué especie o especies de Plasmodium pueden causarlas?
- c).- Indicar el tiempo requerido por cada especie de Plasmodium para completar el ciclo esquizogónico eritrocítico en el huésped vertebrado.
- d).- ¿Cuál es el tratamiento adecuado para este tipo de padecimiento?
- e).- Indicar qué tipo de huéspedes son el hombre y el mosquito para este parásito. ¿Qué reservorios encontramos en la naturaleza?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

13, 20, 38, 44, 47.

Práctica Núm. 12DIAGNOSTICO DE TOXOPLASMOSIS

OBJETIVO

Aplicar la hemaglutinación indirecta como método diagnóstico de toxoplasmosis.

INTRODUCCION

La toxoplasmosis es causada por T.gondii, parásito intracelular obligado. La infección del hombre por este protozoario puede ser congénita o adquirida. La variedad más grave de ella es la infección congénita a consecuencia de la infección materna con parasitemia y paso de microorganismos al feto por vía transplacentaria. Las manifestaciones clínicas más frecuentes en éste son: hidrocefalea, coriorretinitis, trastornos en el sistema nervioso central, convulsiones, lesiones musculares, viscerales e incluso calcificación intracerebral.

El diagnóstico ideal de la toxoplasmosis consiste en la demostración de T.gondii como su agente causal. Sin embargo, esto a veces es muy difícil, por lo que se recurre al serodiagnóstico, que consiste en la demostración de anticuerpos frente a componentes específicos del cuerpo del toxoplasma.

El serodiagnóstico de rutina para toxoplasmosis se inició con la prueba de Sabin y Feldman. Estos investigadores encontraron que la tinción de toxoplasmas vivos con azul de metileno básico no se llevaba a cabo si los

organismos habfan sido incubados en presencia de anticuerpos y una fracción de suero de personas normales que se denomina "factor accesorio". Por el contrario en ausencia de anticuerpos los toxoplasmas se tiñen intensamente. Esta prueba se ha utilizado ampliamente en los últimos años, a pesar del problema que representa el cultivo de toxoplasmas vivos por el posible contagio de las mujeres que los manipulen. Por ello se han desarrollado otra serie de pruebas más sencillas que ofrecen resultados positivos en el 95-98% de los casos de toxoplasmosis.

Una de las más recientes es la hemaglutinación indirecta que consiste en la aglutinación de los eritrocitos recubiertos de antígenos específicos de toxoplasma, por la reacción con anticuerpos específicos presentes en el suero de los enfermos. Su principal desventaja se observa en la detección de toxoplasmosis congénita, ya que en muchas ocasiones proporciona resultados negativos. En este caso la prueba de elección es la inmunofluorescencia porque permite incluso la diferenciación de los anticuerpos IgM, lo que es ideal para la identificación de la toxoplasmosis del recién nacido.

MATERIAL Y EQUIPO

Micropipetas y microdilutores

Placas para microtitulación

Agitador mecánico

Espejos

Reactivo para IFA de toxoplasmas (Antígeno purificado de Toxoplasma gondii eritrocitos de carnero)

Amortiguador de Tris a pH 8

Sueros control negativo y positivo

Suero problema

MICROTECNICA

- 1.- Numerar las hileras y los pozos de la placa para microtitulación.
- 2.- Colocar con una micropipeta 0.05 ml de amortiguador Tris (pH 8) en cada una de las ocho hileras de la placa. El primer pozo de cada hilera deberá permanecer vacío.
- 3.- Añadir al primer pozo de la segunda hilera, 0.1 ml de la dilución 1:8 del suero control positivo con una pipeta graduada. Repetir el mismo procedimiento con el suero control negativo y el suero problema en la tercera y subsiguientes hileras respectivamente.
- 4.- Realizar con microdilutores calibrados de 0.05 ml, diluciones de los sueros proporcionados. Para ello introducirlos en el primer pozo de la hilera correspondiente, girarlos lentamente y trasladarlos al siguiente pozo cuidando de no tocar las paredes del mismo.
- 5.- Añadir con una micropipeta una gota de 0.025ml de reactivo IHA-toxoplasma a todas las diluciones preparadas. Mezclar perfectamente los reac

tivos con el agitador mecánico.

6.- Dejar a temperatura ambiente por 2 ó 3 horas.

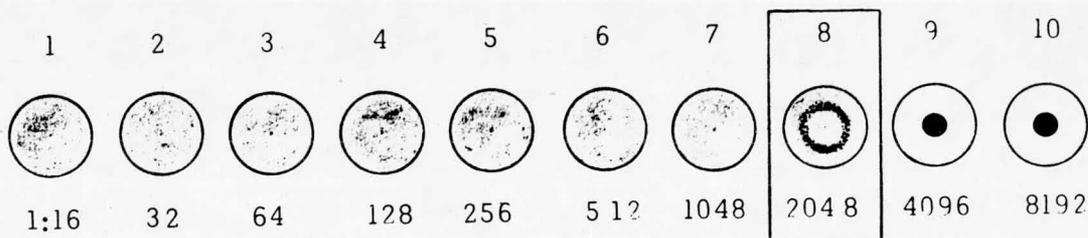
7.- Lectura de la reacción:

Aglutinación completa de los eritrocitos = Reacción positiva.

Aglutinación con formación de ligero botón o anillo = Reacción ligeramente positiva.

Sedimentación de los eritrocitos = Reacción negativa.

La máxima dilución en la que ocurre aglutinación definitiva corresponderá al título de anticuerpos. En el ejemplo que se muestra a continuación, el título está dado por 1:2048.



8.- Interpretación de los resultados:

Títulos elevados darán indicio de infección por T. gondii.

PREGUNTAS

- Indicar el fundamento de la reacción de IHA.
- Describir la prueba de Sabin y Feldman. ¿Qué peligros encierra?
- ¿Cómo se realiza la técnica de inmunofluorescencia para el diagnóstico de toxoplasmosis?

d).- ¿Para qué otras parasitosis se utiliza la hemaglutinación indirecta como prueba diagnóstica?

e).- ¿Qué animales son reservorios en la naturaleza de Toxoplasma gondii?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

10, 12, 17, 39.



Caso Clínico de Toxoplasmosis Congénita (Dr. Martuscelli).

Práctica Núm. 13OBSERVACION DE HELMINTOS ADULTOS

OBJETIVO

Conocer la morfología de algunos helmintos adultos de importancia médica.

INTRODUCCION

Existen dos phyla de helmintos de importancia médica: Nematoda (gusanos redondos) y Plathelminthes (gusanos planos). Ambos están provistos de tegumento, que varía en consistencia y elasticidad y que posee frecuentemente espinas, placas cortantes, ganchos y otras estructuras que sirven para adherirse, penetrar, erosionar los tejidos del huésped.

La mayor parte de los helmintos poseen glándulas secretoras y su aparato reproductor está muy desarrollado, al contrario de otros aparatos que son rudimentarios.

Los nemátodos tienen como características diferenciales cuerpo cilíndrico, no segmentado, sexos separados, cavidad celómica y aparato digestivo completo, mientras que los plathelminthes son gusanos planos, por lo general segmentados, hermafroditas, con excepción de Schistosoma, carentes de celoma y de aparato digestivo, o cuando lo tienen es incompleto.

El diagnóstico de las helmintiasis en el laboratorio clínico está basado en la demostración de huevos, larvas y adultos del parásito causal en líquidos corporales, materia fecal o tejidos. Para ello se deben conocer-

los ciclos biológicos de los mismos para comprender la vía de entrada, la migración del parásito y su establecimiento final, así como la disposición de sus cordones conjuntivos para reconocer su morfología en tejidos.

Con frecuencia los helmintos maduros o inmaduros son expulsados espontáneamente por el huésped, utilizando como vía de salida la boca, nariz, ano; siendo indispensable el recolectarlos en formol o alcohol para su estudio posterior.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio estereoscópico

Preparaciones en formol de: Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Enterobius vermicularis, Taenia sp., Necator americanus, Ancylostoma duodenale, Fasciola hepatica, Hymenolepis nana.

TECNICA

1.- Observar cuidadosamente los distintos helmintos y anotar sus características morfológicas.

PREGUNTAS

- a).- Clasificar los helmintos observados, anotando sus principales características.
- b).- ¿Por qué vía de entrada es expulsada con más frecuencia Ascaris lumbricoides? ¿A qué se debe?

- c).- Diferencias externas notables entre nemátodos y platelmintos y entre machos y hembras adultos de los primeros.
- d).- ¿Cuál es el nemátodo parásito intestinal de mayor tamaño?
- e).- Características diferenciales de las uncinarias.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

5, 13, 18, 43, 45.

Práctica Núm. 14OBSERVACION DE TREMATODOS: FASCIOLA HEPATICA. DISECCION DE HIGADO DE BOVINO Y OVINO ENFERMOS. OBSERVACION DE CORTES HISTOLOGICOS — ASI COMO DE FASCIOLA MONTADAS.

OBJETIVO

Estudiar la morfología de F. hepatica, tremátodo típico, así como conocer el daño causado por su establecimiento en el huésped definitivo.

INTRODUCCION

Los tremátodos son gusanos planos con forma de hoja no segmentados, que se adhieren a las membranas mucosas por medio de ventosas. Son hermafroditas, a excepción de los pertenecientes al género Schistosoma. Su tubo digestivo es incompleto y la mayor parte de su cuerpo se halla ocupado por órganos asociados al sistema reproductor.

El diagnóstico de las parasitosis causadas por tremátodos depende del hallazgo de sus huevos. Para ello se pueden emplear técnicas diversas, como frotis directos, métodos de concentración, etc. usando como muestra biológica la materia fecal u otro producto, de acuerdo al ciclo vital del parásito en cuestión.

Un tremátodo típico es Fasciola hepatica, que habita las vías biliares del hombre, ovinos y otros animales herbívoros. En el hombre los adultos sólo pueden encontrarse en autopsia o durante intervención quirúrgica. La infección en el hombre o animales es causada por la ingestión de metacercas-

rias adheridas a la vegetación acuática. Los adultos al establecerse en el hígado causan do estasis biliar, bloqueando los conductos, causando necrosis, fibrosis y llegando incluso a causar cirrosis hepática.

El diagnóstico de la fasciolosis se realiza por el hallazgo de huevos operculados en la materia fecal, en la bilis duodenal así como por serología.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Caja de Petri
Microscopio estereoscópico	Charola de peltre
Equipo de disección	Portaobjetos y cubreobjetos
Fragmento de hígado bovino u ovino parasitado por <u>F. hepatica</u>	
Preparación fija de <u>F. hepatica</u> .	
Cortes histológicos de <u>F. hepatica</u> en conductos biliares.	

TECNICA

- 1.- Abrir con cuidado los conductos biliares del fragmento de hígado y extraer los parásitos adultos. Depositarlos en una caja de Petri y observar las alteraciones histológicas macroscópicas producidas como respuesta de los tejidos del huésped a la presencia de dichos parásitos.
- 2.- Colocar en un portaobjetos un adulto de F. hepatica y observarlo al microscopio estereoscópico.
- 3.- Observar las preparaciones de cortes histológicos al microscopio notan

do sus características morfológicas.

PREGUNTAS

- a).- Describir brevemente el ciclo de F. hepatica.
- b).- ¿Qué alteraciones se notan en los órganos parasitados por F. hepatica.?
- c).- Características de los huevos de F. hepatica.
- d).- ¿Qué pruebas se realizan para el diagnóstico de Schistosomiasis y --- por qué?
- e).- Mencionar otras tres parasitosis causadas por tremátodos indicando el agente etiológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

2, 31, 32, 37, 45.

Práctica Núm. 15OBSERVACION DE CESTODOS. TAENIA, CISTICERCOS. MORFOLOGIA
DIFERENCIAL DE TAENIA. DISECCION DE CYSTICERCUS CELLULOSAE O BOVIS.

OBJETIVO

Reconocimiento específico de Taenia ya que mientras que el hombre no alberga aparentemente la fase embrionaria de T. saginata, C. cellulosa, la forma embrionaria de T. solium le causa frecuentemente cuadros clínicos muy severos e inclusive letales, cuando invade la masa encefálica.

INTRODUCCION

Los cestodos son gusanos en forma de cinta, carentes de vías digestivas y vasculares. El cuerpo de los adultos consta de escólex, cuello y cadena estrobilar. En el escólex se encuentran localizados los órganos de fijación de que están provistos, como son ventosas, ganchos y botridias. Al escólex le sigue el cuello que es una porción angosta y no segmentada. Después la cadena estrobilar formada por múltiples segmentos denominados proglótidos, cuyo número varían según la especie. De acuerdo con su localización en la cadena estrobilar y con la maduración de los órganos reproductores se diferencian en proglótidos inmaduros (los más cercanos al cuello), maduros y grávidos. Los huevos se observan en las ramas uterinas de los proglótidos grávidos.

La cisticercosis es producida en el hombre y en el cerdo por --- Cysticercus cellulosa, forma larvaria de T. solium. Cuando se encuentra en

el cerdo, es conocida vulgarmente como sahuate, tomatillo y sapo. Los cisticercos pueden desarrollarse en cualquier tejido del hombre, siendo las localizaciones principales los músculos estriados y el cerebro, pero también ocurren en el tejido subcutáneo, ojo, corazón, pulmón y peritoneo. El cisticerco maduro es translúcido, oval, con un escólex invaginado con cuatro ventosas y un círculo de ganchos.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Equipo de disección

Microscopio estereoscópico

Solución de Sales biliares

Preparaciones de T. solium y T. saginata (Es scólex, proglótidos inmaduros, maduros y grávidos, huevecillos).

Carne de cerdo parasitada por C. cellulosae.

TECNICA

- 1.- Observar con el microscopio estereoscópico las preparaciones de escólex y proglótidos, y con el microscopio compuesto las de los huevecillos y nuevamente el escólex.
- 2.- Observar los cisticercos que se encuentran en la carne de cerdo parasitada, apreciando su forma, color y consistencia.
- 3.- Extraer con ayuda de bisturí varios cisticercos, procurando evitar su ruptura.

4.- Tomar un cisticerco, colocarlo entre dos portaobjetos y comprimirlo hasta hacer estallar la vesícula. Observar la preparación en un microscopio estereoscópico reconociendo el escólex, con su roseto, su doble corona de ganchos, — las cuatro ventosas, el cuello, los corpúsculos calcáreos y los restos vesiculares. Después observar en el microscopio compuesto a seco débil, para apreciar en detalle los movimientos de las ventosas, el cuello, etc. y la morfología individual de los ganchos.

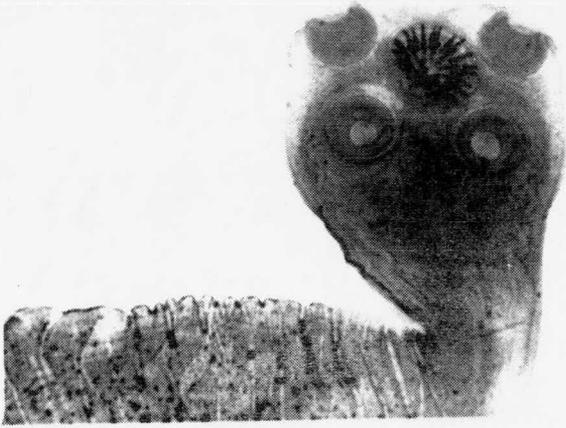
Nota: Para considerar a un cisticerco vivo se tomará en cuenta la movilidad de ventosas y ganchos, y la evaginación en solución de sales biliares.

PREGUNTAS

- a).- Mencionar las diferencias anatómicas y morfológicas de ambas tenias y — decir cuál es la importancia diagnóstica de esta diferenciación.
- b).- Describir brevemente el ciclo biológico de T. solium.
- c).- ¿Cuál es la importancia de que los cestodos puedan infectar en su forma larvaria al hombre? ¿Cuáles son estos casos?
- d).- ¿Qué medidas profilácticas existen para la erradicación o control de estas parasitosis?
- e).- ¿Qué otras teniasis puede presentar el hombre? ¿Cuál es su importancia?

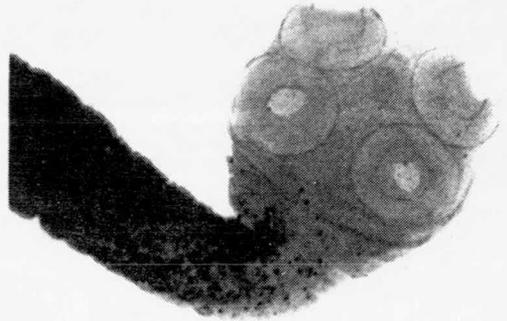
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

11, 18, 31, 38.



Escólex y cuello de T. solium --
(Depto. Ecología Humana).

Escólex y cuello de T. saginata
(Depto. Ecología Humana).



Proglótido grávido de T. saginata
(Depto Ecología Humana).

Práctica Núm. 16DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE HIDATIDOSIS PORCONTRAINMUNOELECTROFORESIS.

OBJETIVO

Aprender a realizar la contrainmunolectroforesis para el diagnóstico de hidatidosis.

INTRODUCCION

El hombre es parasitado sólo por el estadio larvario de Echinoco-
ccus granulosus. Este se adquiere al ingerir los huevos del parásito que
eclosionan en el duodeno liberando los embriones hexacantos. Ellos atravie-
san la pared intestinal pasando a los linfáticos o vénulas mesentéricas que
los conducen a torrente circulatorio y de ahí a diferentes partes del organismo,
dónde se alojan constituyendo los quistes hidatídicos. Estos se encuentran
con mayor frecuencia en el hígado y pulmones, pero también pueden hallarse
en músculos, riñones, bazo, huesos, ojos, cerebro, corazón, etc.

El quiste hidatídico presenta una cutícula externa de soporte, una
capa germinal interna, un líquido amarillo claro, vesículas prolíferas y los
quistes hijos (réplicas del primero).

El diagnóstico de laboratorio de la hidatidosis se puede hacer por
hallazgo de escólices, cápsulas o quistes hijos en quistes extraídos por inter-
vención quirúrgica o usando pruebas cutáneas con antígenos polivalentes
(Intradermo reacción de Casoni).

Existen además pruebas serológicas que pueden contribuir al diagnóstico de este padecimiento. Dentro de ellas, la contrainmunolectroforesis parece ser la más adecuada por su facilidad de realización, su bajo costo y — la lectura rápida de resultados. Es una técnica de inmunodifusión en gel, similar al método de doble difusión de Ouchterlony, con la diferencia de que se efectúa en un campo eléctrico. La mayoría de los antígenos proteicos se movilizan hacia el ánodo y los anticuerpos específicos son arrastrados por la — corriente endosmótica hacia el cátodo. Cuando ambos se encuentran se forman una o varias bandas de precipitación.

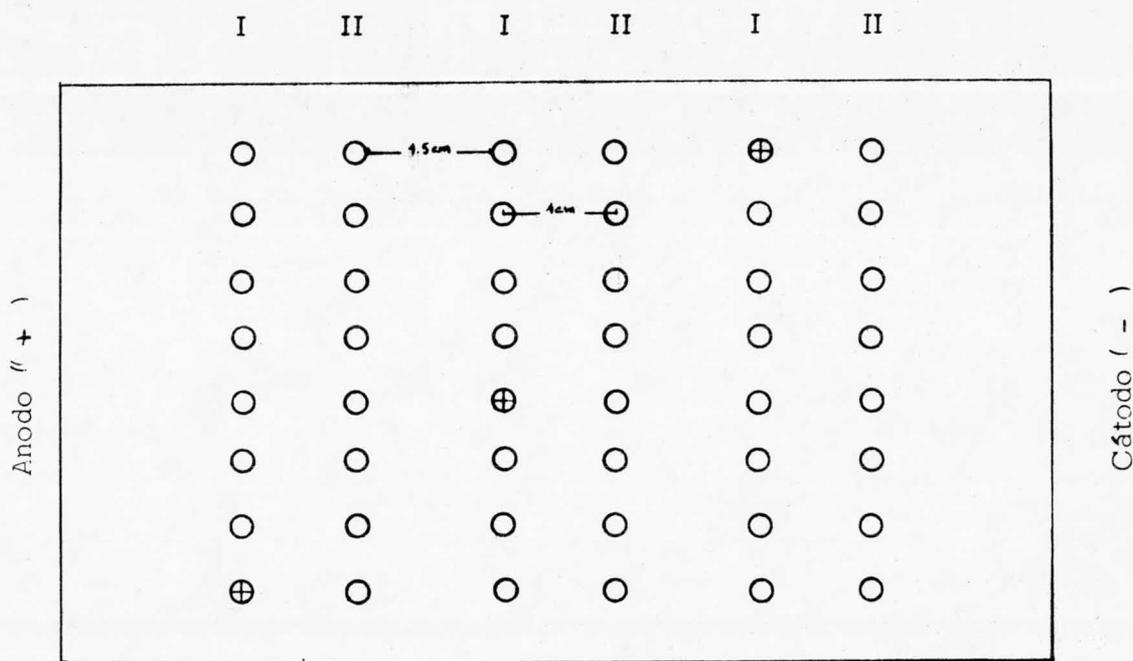
MATERIAL Y EQUIPO

Cámara de electroforesis	Tiras de papel Whatman núm. 1
Electrodos	Antígeno de <u>E. granulosus</u> en su fase química.
Horadores de 4 mm de diám.	Ionagar (1g)
Plantilla para realizar los cortes	
Placas de vidrio de 20.5 x 11 cm.	
Buffer de acetato-dietilbarbiturato, pH 8.6, μ 0.1 (19.6g de acetato de sodio anhidro, 50g de dietilbarbiturato de sodio, 34.2 ml de HCl 1 N y 3.84g de lactato de sodio. Añadir agua destilada a completar 10 l y adicionar 50 — ml de solución de timol al 5% en isopropanol).	
Suero control positivo	
Suero problema	

TECNICA

A).- Preparación de las placas de gel de agar.

- 1.- Disolver 1 g de ionagar en 100 ml de buffer de acetato-dietilbarbiturato, - pH 8.6, μ 0.1. Calentar en plancha eléctrica hasta que la solución esté clara.
- 2.- Dejar enfriar hasta 70-75° C .
- 3.- Verter 25 ml de líquido sobre la placa de vidrio colocada sobre una superficie horizontal, cuidando que no escurra por las orillas.
- 4.- Hacer las horadaciones guiándose con la plantilla de la siguiente manera:



5.- Retirar el gel de agar de los cortes.

B).- Contraimmunoelectroforesis .

1.- Colocar buffer de acetato-dietilbarbiturato pH 8,6 y μ 0.1 en la cámara de electroforesis hasta que su nivel esté 1 cm por debajo de dónde se colocan las placas. Nivelar el buffer en ambas cámaras de electrodos con movimientos de vaivén suaves.

2.- Llenar los pozos de las filas I (de acuerdo al esquema) hasta el borde con el suero control positivo o con los problemas. En cada caso se usará un capilar diferente.

3.- Llenar los pozos de las filas II con el antígeno de E. granulosus procurando llegar al borde sin que se derrame.

4.- Introducir cuidadosamente las placas en la cámara de electroforesis, orientando las filas I hacia el ánodo y las filas II hacia el cátodo.

5.- Saturar las tiras de papel Whatman en el buffer de la cámara.

6.- Llevar a cabo la electroforesis durante 30 minutos cuidando las siguientes condiciones: voltaje de 150 V e intensidad por cámara de 30 mA.

C).- Interpretación de los resultados.

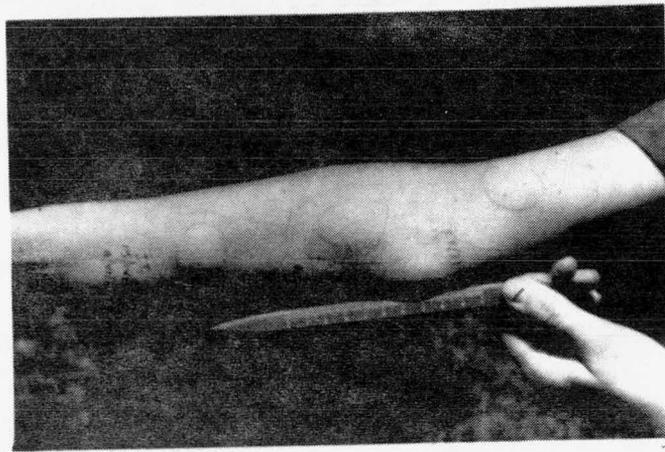
En los casos positivos de hidatidosis, al término de la electroforesis se formarán una o más líneas de precipitación en la zona comprendida entre los pozos en dónde se colocaron sueros del paciente y antígeno. Estas líneas aparecerán siempre en el suero control positivo.

PREGUNTAS

- a).- Describir brevemente el ciclo vital de E. granulosus.
- b).- ¿Qué otros métodos existen para el diagnóstico de hidatidosis?
- c).- ¿Cuáles son las ventajas y las desventajas de la contrainmunoelectroforesis?
- d).- ¿Para qué otras parasitosis puede emplearse la contrainmunolectroforesis como método diagnóstico?
- e).- ¿Cuáles son las medidas profilácticas para el control de la hidatidosis?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

6, 13, 39, 43.



Intradermoreacción de Casoni positiva (ISET).

Práctica Núm. 17TRIQUINOSIS . TRICHINELLA SPIRALIS EN MUSCULO.

OBJETIVO

Estudio de las larvas de T. spiralis en músculo como método —
diagnóstico de esta parasitosis.

INTRODUCCION

Trichinella spiralis es responsable del padecimiento conocido como triquinosis , que se adquiere generalmente por la ingestión de carne de —
cerdo infectada con larvas encapsuladas de triquina. Estas pasan a la porción proximal del intestino delgado en donde sus cápsulas son disueltas y las larvas son liberadas en pocas horas. Ellas invaden la mucosa intestinal y al —
llegar al estado adulto llevan a cabo la fertilización. Después de ésta, los —
machos son expulsados del intestino con la materia fecal o pueden permanecer en él algunos días.

Las hembras repletas de embriones penetran a la mucosa y submucosa para efectuar la postura de los mismos. Después de la submucosa los —
embriones llegan a la circulación venosa o linfática para ser transportados —
a los músculos, donde se fijan y enquistan, pudiendo con el tiempo calcificarse.

El diagnóstico de la parasitosis en el hombre se basa generalmente en la historia clínica o en síntomas que se manifiestan durante la primera —
semana de invasión intestinal, y que consisten en vómito, diarrea, dolores —

abdominales. Cuando las larvas penetran en los músculos, se pueden presentar edema periorbitario, fiebre elevada y una marcada eosinofilia. Durante la encapsulación larval en los músculos, el paciente puede presentar síntomas neurotóxicos y miocarditis. La infección masiva puede ser fatal.

El diagnóstico específico de la triquinosis puede hacerse por biopsia muscular o usando pruebas cutáneas (serológicas). En éstas últimas, se utiliza un antígeno de T. spiralis, que se aplica por vía intradérmica en la cara anterior del antebrazo. Se observa durante treinta minutos, cada cinco, verificando el aspecto que presenta la zona inoculada. En casos positivos se produce una reacción con edema, congestión e infiltración de mononucleares, lo que se manifiesta por una pápula y presencia de prolongaciones digitiformes.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Frasco de boca ancha con tapa
Equipo de disección	Algodón
Tabla de corcho	Alfileres
Caja de Petri	Mezcla crómica
Portaobjetos (2)	Eter
Rata infectada con triquina 6 semanas antes de realizar la práctica	
Corte histológico de músculo de rata parasitado por <u>T. spiralis</u>	

TECNICA

- 1.- Sacrificar la rata infectada colocándola dentro de un frasco dónde previamente se ha puesto un algodón empapado en éter.
- 2.- Fijarla a una tabla de corcho con alfileres.
- 3.- Quitarle la piel, las vísceras torácicas y abdominales, incluyendo el diafragma.
- 4.- Fragmentar las masas musculares del animal en tantas porciones como alumnos vayan a realizar la práctica.
- 5.- Colocar en cajas de Petri las porciones de músculo.
- 6.- Tomar un fragmento con las pinzas, colocarlo entre dos portaobjetos y comprimirlo.
- 7.- Observar a seco débil y seco fuerte tratando de identificar las larvas de triquina.
- 8.- Observar de la misma manera las preparaciones de T. spiralis en cortes teñidos.

Nota: Lavar todo el material utilizado con mezcla crómica.

PREGUNTAS

- a).- Describir brevemente el ciclo biológico de T. spiralis.
- b).- ¿Cómo se realiza la digestión del músculo para el diagnóstico de triquinosis?
- c).- Métodos profilácticos utilizados para la prevención de esta parasitosis.

d).- ¿En qué etapa de la identificación es posible encontrar adultos en la materia fecal de los pacientes? ¿Por qué?

e).- Describir una de las pruebas serológicas empleadas para el diagnóstico de triquinosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9, 10, 11, 20, 40.



Larvas de triquina enquistadas en músculo (ISET).

Práctica Núm. 18ENTEROBIASIS. METODO DE GRAHAM

OBJETIVO

Conocer la técnica de elección en el diagnóstico de enterobiasis.

INTRODUCCION

La enterobiasis u oxiuriasis es una enfermedad parasitaria producida por Enterobius vermicularis, nemátodo intestinal con ciclo biológico — directo (no requiere de huéspedes intermediarios, ni de prolongada incubación exógena).

Esta parasitosis presenta una amplia distribución geográfica, prevaleciendo en grupos de bajo nivel económico, principalmente en niños y en aquellos sitios donde exista hacinamiento humano. El habitat o localización común de E. vermicularis es el ciego y porciones adyacentes de intestino delgado e intestino grueso.

E. vermicularis generalmente no produce lesiones graves. En cuanto a las manifestaciones clínicas más importantes presentadas por una persona con enterobiasis son: prurito por irritación perianal, perineal y ocasionalmente vaginal, debido a las migraciones de las hembras grávidas. Se le han adjudicado además otros signos o síntomas como son anorexia, pérdida de peso, hiperactividad, insomnio, irritabilidad, dolor abdominal, náuseas y vómitos. Algunas veces suele ocasionar cuadros quirúrgicos principalmente apendicitis.

Existen numerosos métodos para efectuar el diagnóstico de la enterobiasis, los cuales se basan en la identificación de gusanos adultos o de sus huevos. El más conveniente es el método de Graham, ya que proporciona el porcentaje más elevado de pruebas positivas y el mayor número de huevos. Los exámenes son repetidos en días consecutivos debido a la irregularidad migratoria de las hembras grávidas. Se considera que tres pruebas consecutivas revelan el 90% de pacientes infectados.

Este método deberá practicarse de preferencia en el laboratorio, recomendando al paciente que no defaque y no se bañe por la mañana, ya que de lo contrario los huevos de E. vermicularis depositados en las márgenes del ano, serán arrastrados mecánicamente y el resultado será negativo.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Abatelas

Portaobjetos

Cinta adhesiva transparente

TECNICA

- 1.- Colocar la cinta sobre el abatelas dejando la parte engomada hacia afuera.
- 2.- Colocar al paciente en decúbito supino.
- 3.-Tocar varias veces con la zona engomada las regiones perianal y perineal.
- 4.- Adherir la cinta a un portaobjetos.
- 5.- Aclarar la preparación con una gota de yodo en xilol.

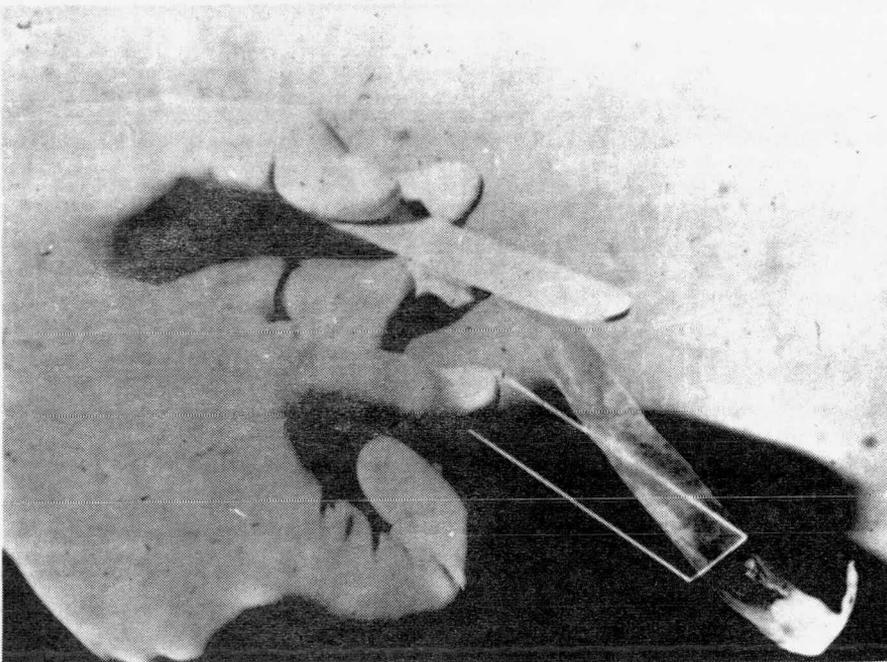
6.- Observar en el microscopio con objetivo seco débil.

PREGUNTAS

- a).- Describir el ciclo biológico de E. vermicularis.
- b).- Mencionar las diferentes fuentes de infección de esta parasitosis.
- c).- Tratamiento y profilaxis para la oxiuriasis.
- d).- ¿Para qué otras parasitosis es útil el método de Graham?
- e).- Mencione otros métodos de diagnóstico de enterobiasis y diga sus ventajas y desventajas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

13, 17, 22, 38.



Manera en que se coloca la cinta adhesiva en el portaobjetos (Depto. Ecología Humana).

Práctica Núm. 19EOSINOFILIA EN SANGRE Y EN DIVERSAS EXCRECIONES Y SECRECIONES

OBJETIVO

Estudio de la eosinofilia como signo clínico asociado a ciertas — parasitosis.

INTRODUCCION

La eosinofilia es el aumento de los eosinófilos por encima del — valor normal ($7 \times 10^5 / \text{cm}^3$), encontrándose hasta más del 20% si se calcula de la cuenta total de leucocitos y más de $2 \times 10^5 / \text{cm}^3$ si se determina por métodos absolutos de conteo. Esta condición se halla asociada a casos de alergia, desórdenes cutaneos, parasitosis, enfermedades infecciosas, — desórdenes sanguíneos y otros trastornos.

En el caso particular de parasitosis, la eosinofilia se presentará sólo en aquellos en que todo o parte de su ciclo biológico se desarrolla fuera de la luz intestinal, por ejemplo, triquinosis, fasciolosis donde se ha — demostrado que la respuesta eosinofílica requiere de parásitos intactos — en número suficiente y distribución adecuada.

Cuando ocurre enquistamiento del parásito, como por ejemplo — en cisticercosis, la eosinofilia que se manifiesta inicialmente es leve, de — saparece en poco tiempo.

En casos de parasitismo exclusivamente intestinal, la eosinofi-

lia no se presenta.

Se pueden clasificar en cuatro grupos los parásitos capaces de — producir eo sinofilia:

1.- Con ciclo extraintestinal y que finalmente se localizan en el aparato di— gestivo:

Ascaris lumbricoides (N), Strongiloides stercoralis (N), Ancylostoma duodena— le (N), Necator americanus (N), Fasciola hepática (T), Schistosoma mansoni, (T), Schistosoma japonicus (T).

2.- Helmin tos con ciclo extra intestinal, que finalmente se localiza fuera del intestino.

Cysticercus cellulosae (C), Echinococcus granulosus (C), Trichinella spira— lis (N), Onchocerca volvulus (N), Manzonella ozzardi (T).

3.- Helmin tos animales que pueden infectar al hombre.

Toxocara canis (N), Toxocara cati (N), Schistosoma sp (T), Sparganum sp (C).

4.- Establecimiento de artrópodos.

Acaros en los bronquios, miasis , tungiasis.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Alcohol

Portaobjetos

Colorante de Wright

Lancetas de sechables

Sangre capilar

Algodón

TECNICA

- 1.- Limpiar la yema de un dedo o el lóbulo de una oreja y puncionar con una lanceta desechable.
- 2.- Desechar la primera gota de sangre y la segunda colocarla en un portaobjetos limpio y desengrasado.
- 3.- Hacer una extensión delgada colocando otro portaobjetos en un ángulo de 45 grados.
- 4.- Secar al aire.
- 5.- Añadir suficiente cantidad de colorante de Wright, para que la extensión sanguínea quede perfectamente cubierta, y así se les deja durante 5 minutos.
- 6.- Agregar agua hasta obtener un brillo metálico y dejar 5 ó 6 minutos.
- 7.- Enjuagar cuidadosamente, secar al aire y observar a inmersión.
- 8.- Contar 100 leucocitos (siguiendo alguna técnica mecánica para evitar repeticiones) y clasificarlos. Según el número de leucocitos encontrados de cada tipo, se hace la relación directa para obtener el por ciento de los mismos en la muestra de sangre original.

PREGUNTAS

- a).- Mencionar algunas parasitosis en las que se presente eosinofilia.
- b).- ¿Qué parasitosis no determinan una elevación de eosinófilos? Dé ejemplos.

- c).- ¿ En qué otros fluidos corporales se puede determinar la eosinofilia ---
aparte de la sangre?
- d).- ¿ Se puede considerar la eosinofilia como un dato diagnóstico? ¿ Por qué?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

5, 7, 13, 47.

Práctica Núm. 20UNCINARIASIS Y E STRONGILOIDOSIS, CULTIVO DE LARVAS.

OBJETIVO

Conocer un método que permite la identificación de larvas de helmintos cuando éstos se encuentran parasitando a un individuo.

INTRODUCCION

Entre las especies que producen uncinariasis en el hombre destacan: Necator americanus y Ancylostoma duodenale.

Los gusanos adultos son pequeños, cilíndricos, fusiformes, blanco-grisáceos. Ambos géneros son muy semejantes entre sí, aunque, presentan algunas diferencias que nos permiten distinguirlos, éstas son: tamaño, -- cápsula bucal, acoplamiento, extremo caudal en la hembra y bolsa copulatriz.

El diagnóstico definitivo de estas parasitosis, depende de la identificación de sus huevos en la materia fecal, aunque son prácticamente indistinguibles y varían ligeramente en el tamaño.

Strongyloides stercoralis es el agente causal de la estrongiloidosis o diarrea de la Conchinchina. Es un nemátodo filariforme, pequeño, incoloro, con cutícula finamente estriada y puede ser de vida libre o parásita -- (parásito facultativo).

Las infecciones por S. stercoralis pueden cursar asintomáticas o dar una sintomatología severa e inclusive mortal.

El diagnóstico de dicho padecimiento comprende exámenes coproparasitológicos cualitativos y observación del contenido duodenal, ya sea directamente o usando métodos de concentración.

Para la demostración de una invasión por Ancylostoma, Necator o Strongyloides, se puede utilizar el cultivo, en el cual se desarrollan larvas filariformes a partir de huevos de Ancylostoma (que pasan por el estadio rabi-ditiforme) y de Strongyloides.

Existen dos técnicas para el cultivo de larvas: en tubo o en placas de carbón. La primera se conoce mejor como la técnica de Harada-Mori.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Abatelenguas
Microscopio estereoscópico	Papel celofán de 6 x 6 cm y liga
Gradilla	Tira de papel filtro de 2 cm de ancho
Tubo de ensaye de 25 x 175 mm	por 17 cm de largo
Pipetas Pasteur con bulbos de hule	Agua destilada estéril
Portaobjetos y cubreobjetos	Materia fecal

TECNICA

- 1.- Colocar en un tubo de ensaye 5 ml de agua destilada estéril.
- 2.- Extender la muestra de materia fecal sobre la tira de papel filtro con el abatelenguas.
- 3.- Introducir la tira de papel filtro en el tubo.

4.- Tapar el tubo con papel celofan asegurándolo con una liga.

5.- Incubar en la estufa a 37°C.

A partir del 5 o. día iniciar la revisión de los tubos de la siguiente manera:

1.- Confirmar la presencia de larvas en el fondo del tubo de ensaye, mediante el uso del microscopio estereoscópico.

2.- Calentar los tubos a 50°C en baño María (con esto se matan las larvas y de esta manera se asegura que al manipular los tubos, no se corre el riesgo de contaminación).

3.- Aspirar con la pipeta Pasteur una muestra del fondo del tubo.

4.- Colocar una gota en cada extremo del portaobjetos (agregar 1 gota de lugol a una de ellas).

5.- Cubrir con una laminilla.

6.- Observar a seco débil y seco fuerte.

Nota: Con el baño María las larvas muere n pero conservan su morfología. La identificación se hace tomando en cuenta la siguiente tabla:

GENERO Y ESPECIE	VAINA	CUERPO	EXTREMIDAD POSTERIOR	OTRAS CARACTERISTICAS
<u>Necator americanus</u>	660 μ , estrias aparentes sobre todo en la porción caudal.	590 μ	Afilada	Extremidad anterior redondeada. Porción anterior del intestino, tan ancha como el bulbo esofágico. — Lanzas bucales oscuras.
<u>Ancylostoma duodenale</u>	720 μ . Estría - poco visible.	660 μ	Roma	Extremidad anterior roma. Diámetro intestinal más estrecho que el bulbo esofágico. Lanzas bucales visibles.
<u>Strongyloides stercoralis</u>	sin estrías	500 μ	Roma o bifurcada.	Esófago aproximadamente de la mitad del cuerpo.
<u>Trichostrongylus sp.</u>	750 μ	600 μ	Redonda y abotonada.	Esófago de una cuarta parte de la longitud del cuerpo.



PREGUNTAS

- a).- Describir brevemente el ciclo de vida de una uncinaria.
- b).- ¿ Cuántos y Cuáles tipos de ciclos vitales presenta S. stercoralis y a- - qué se debe?
- c).- ¿ Qué medidas profilácticas considera usted importante para la erradica- ción de estas parasitosis?
- d).- Ventajas y desventajas de la técnica de Hara di-Mori.
- e).- En su opinión, ¿ cree que es suficiente un diagnóstico por este método?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9, 18, 20, 33.

Práctica Núm. 21OBSERVACION DE ONCHOCERA VOLVULUS

OBJETIVO

Estudio microscópico de Onchocerca volvulus para su posterior reconocimiento e identificación.

INTRODUCCION

La oncocercosis, parasitosis producida por O. volvulus no representa en sí ningún problema letal, pero resulta de gran trascendencia médico-social, puesto que las microfilarias, formas larvarias de este nemátodo, pueden migrar por los linfáticos cutáneos y llegar a los globos oculares, produciendo lesiones en éstos y posteriormente ceguera.

En nuestro país existen tres focos endémicos localizados en el sureste: dos de ellos en el estado de Chiapas (Soconusco y Chamula); y el tercero se encuentra ubicado en la región norte de Oaxaca. En estas zonas abundan los mosquitos transmisores del género Simulium, conocidos vulgarmente como "rodadores", "mosco negro", etc.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Microscopio estereoscópico

Preparaciones de O. volvulus (microfilarias y oncocercoma)

TECNICA

- 1.- Observar las microfilarias al microscopio compuesto.
- 2.- Observar el oncocercoma al microscopio estereoscópico.

PREGUNTAS

- a).- Explicar brevemente el ciclo vital de este parásito.
- b).- ¿Cuáles son las especies de Simulium que transmiten este parásito?
- c).- ¿Qué son los oncocercomas?
- d).- ¿Cómo se efectúa un diagnóstico de oncocercoma?
- e).- ¿Cuál es el tratamiento indicado para esta parasitosis?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

8, 37, 40, 46.

Práctica Núm. 22ARTROPODOS

OBJETIVO

Identificación dentro de los artrópodos, de algunos representantes de importancia epidemiológica.

INTRODUCCION

Los artrópodos son invertebrados multicelulares, segmentados, — con exoesqueleto, con simetría bilateral y pares de apéndices articulados. — En conjunto, constituyen el phylum que comprende el mayor número de especies del reino animal, gozando muchos de importancia médica por las enfermedades que causan al hombre o animales (por ejemplo: miasis, alergias, intoxicaciones severas), o bien, por ser transmisores mecánicos o biológicos.

Las clases de mayor importancia médica en el Phylum Artropoda son: Crustacea, Arachnida e Insecta. En ellas se incluye los copépodos, transmisores de D. latum y chinches, piojos, pulgas, triatomas, moscas, alacranes, entre otros transmisores y agentes de enfermedades infecciosas.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Preparaciones de Triatoma, Cimex, Pe-

Microscopio estereoscópico

diculus, Phtrius pubis y alacrán.

Ejemplares de los mismos

TECNICA

- 1.- Observar las preparaciones proporcionadas, diferenciando las características morfológicas peculiares de cada una de ellas.
- 2.- Observar y distinguir detalles particulares de los ejemplares proporcionados.

PREGUNTAS

- a).- Mencionar algunos parásitos de la clase Arachnida.
- b).- Anotar las clases en las que se dividen los Artrópodos, dando características generales de cada una de ellas.
- c).- Mencionar algunos representantes de la clase Crustacea que sean de importancia médica.
- d).- Características diferenciales entre insectos y arácnidos.
- e).- Indique en que parasitosis actúan como transmisores Xenopsilla, Triatoma y Pediculus.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

2, 7, 38, 44.

Práctica Núm. 23DIPTEROS.

OBJETIVO

Estudio de los dípteros por su importancia como vectores mecánicos y biológicos de ciertas parasitosis.

INTRODUCCION

El orden Diptera es el más importante de la clase Insecta, porque muchos de ellos son transmisores de enfermedades del hombre, tales como paludismo, fiebre amarilla, oncocercosis y leishmaniasis.

Los dípteros son insectos típicos, dotados en el estado adulto de un par de alas membranosas insertadas en el ángulo dorsolateral del segundo segmento torácico, y de un par de halterios, que corresponden a un segundo par de alas transformadas. Sus partes bucales están adaptadas para chupar y en algunos casos para picar.

Dicho orden abarca las moscas y los mosquitos, los cuales sufren metamorfosis completa, es decir, pasan por los siguientes estadios: huevo, estados larvarios, pupa y adulto.

Los principales géneros de dípteros involucrados en la transmisión de parásitos son:

Género	Parasitosis
<u>Anopheles</u>	Paludismo
<u>Phlebotomus</u>	Leishmaniasis visceral, cutánea y mucocutánea.

<u>Simulium</u>	Oncocercosis.
<u>Culex</u>	Filaria sis.
<u>Aedes</u>	Fiebre amarilla, encefalitis equina, - dengue .
<u>Culicoides</u>	Mansonella ozzardi.

El diagnóstico diferencial de estos géneros se basa en el estudio de la morfología detallada de los mismos.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Preparaciones con ejemplares montados de: Anopheles , Aedes , Culex —
(adultos macho y hembra, pupas, larvas y huevos).

Preparaciones de los géneros Phlebotomus y Simulium.

TECNICA

- 1.- Observar y diferenciar estructuras en las preparaciones proporcionadas.
- 2.- Compararlas en los diferentes géneros.

PREGUNTAS

- a).- Características morfológicas diferenciales de los géneros observados.
- b).- Distinguir qué papel juegan los géneros mencionados en el ciclo de vida
- c).- Mencionar otras enfermedades causadas por moscas o mosquitos. Características de las mismas.

- d).- Profilaxis de la s enfermedades transmitidas por mosquitos.
- e).- Importancia médica y control del género Simulium.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

17, 20, 37, 44, 46.

Práctica Núm. 24EFFECTOS TOXICOS DEL VENENO DE ALACRAN EN RATONES (Y SU NEUTRALIZACION)

OBJETIVO

Conocer los efectos tóxicos del veneno de alacrán en un animal de laboratorio.

INTRODUCCION

Los alacranes o escorpiones son los principales arácnidos venenosos y posiblemente uno de los animales tóxicos más importantes en el mundo. Entre los principales géneros de alacranes se encuentran los siguientes, de los que señalaremos también su distribución geográfica:

Género	Distribución geográfica
<u>Centruroides</u>	México, suroeste de E.U.A.
<u>Tityus</u>	México, Trinidad, Brasil.
<u>Buthus</u>	Zona del Mediterraneo y Manchuria.
<u>Scorpions</u> y <u>Andronoctus</u>	Norte de Africa.
<u>Tamules</u>	India.
<u>Parabuthus</u>	Bechuanalandia.

En México la gran extensión territorial plagada de alacranes venenosos y su abundancia determina que el número de víctimas sea sorprendente^{mente} alto. Puede calcularse aproximadamente que se producen más de 9,000 casos mensuales, o sea 300 diarios.

Los alacranes presentan un celofórax no segmentado con cuatro

pares de patas, abdomen alargado y su extremidad caudal posee un aguijón curvo, por donde sale el veneno. En el último segmento del abdomen se encuentran localizadas dos glándulas venenosas que desembocan por medio de un canal excretor en el aguijón.

Las manifestaciones clínicas presentadas en el ratón por la acción del veneno de alacrán, son comparables a las que se presentan en el hombre. El veneno de alacrán produce dolores locales parálisis del glosófaringeo, trastornos nerviosos a nivel de placa neuromuscular, hipersecreción bronquial y salival, convulsiones, edema y parálisis respiratoria, cefalea, náuseas, vómitos, midriasis y finalmente la muerte por paro respiratorio.

Con fines de estudio se puede obtener veneno de alacranes vivos mediante estimulación eléctrica del ganglio nervioso, que acciona el músculo constrictor de las glándulas. La cantidad emitida varía con la longitud del animal, se puede obtener entre 0.01-0.1 ml en una sola estimulación.

MATERIAL

Jeringas hipodérmicas de 1 ml	Jaulas para ratones
Aguja del n. 27	Ratones de 18-20 g. (2 por equipo)
Algodón	Veneno de alacrán
Alcohol	Suero anti-alacrán
Sol. salina estéril	

TECNICA

A).- Acción del veneno .

1.- Inyectar a un ratón por vía intraperitoneal con la dosis mínima mortal del veneno, suspendido en solución salina isotónica estéril.

2.- Observar los efectos sobre el ratón.

B).- Efecto del suero anti-alacrán.

1.- Inyectar por vía intraperitoneal a otro ratón con 1 ml de suero anti-alacrán que neutraliza 60 DMM.

2.- En seguida inyectar por vía intraperitoneal la dosis mínima mortal del veneno de alacrán.

3.- Observar los efectos del suero anti- alacrán

PREGUNTAS

a).- Naturaleza química del veneno de alacrán.

b).- Tratamiento de una persona picada por un alacrán.

c).- Profilaxis para evitar el alacranismo.

d).- ¿ Cuáles son las especies de alacranes más tóxicos en México?

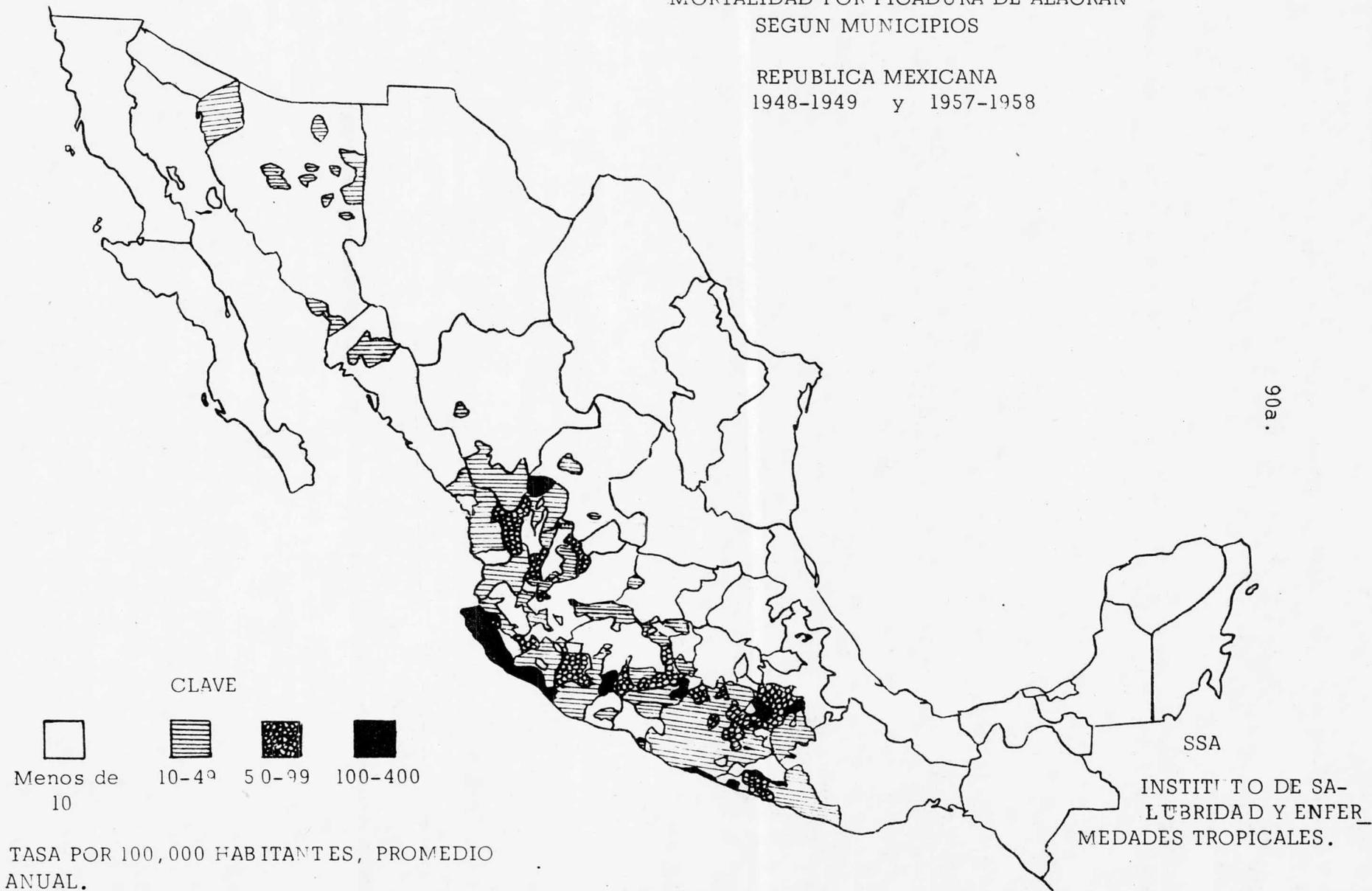
e).- ¿ En qué zonas de la república y durante que época del año hay una mayor incidencia del alacranismo y por qué?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

7, 11, 35, 37, 47.

MORTALIDAD POR PICADURA DE ALACRAN
SEGUN MUNICIPIOS

REPUBLICA MEXICANA
1948-1949 y 1957-1958





Centruroides suffusus suffusus, ejemplar de Durango (Depto.
Ecología Humana).

Práctica OptativaCONSERVACION DE PARASITOS ANIMALES O HUEVOS HALLADOS EN LA MATERIA
FECAL.

OBJETIVO

Conocer las principales técnicas que existen para la conservación de parásitos o de sus productos.

INTRODUCCION

No siempre es posible el inmediato procesamiento de la materia — fecal para diagnóstico parasitológico, por lo que se han desarrollado una serie de soluciones que permiten la preservación tanto de helmintos adultos como de sus huevos, sus larvas y quistes de protozoarios.

El uso de dichos preservadores, ha contribuido a la realización de encuestas epidemiológicas, al incremento de material didáctico disponible y a la conservación de muestras de materia fecal que no han podido procesarse, y que requieren en ocasiones ser enviadas a sitios encargados de su estudio.

Entre las soluciones preservadoras más utilizadas figuran: MIF, — PVA, formol, formalina con glicerol, Schaudinn, etc.

MATERIAL Y EQUIPO

Tripié	Vaso de precipitados de 250 ml (?)
Mechero	Caja de petri
Tela de asbesto	Termómetro

Portaobjetos	Alcohol al 70%
Guantes de hule	Solución Salina Isotónica
Aplicador de madera	Ejemplares de gusanos vivos
Solución de Formol al 3 %	Muestra de Materia Fecal parasitada
Solución de formalina al 10%	con quistes de protozoarios y hue-
Fijador de Schaudinn	vos de helmintos

TECNICA

A).- Conservación de Cés todos.

- 1.- Lavar el verme para librarlo de residuos de materia fecal (el operador debe portar guantes de hule).
- 2.- Dejarlo en agua fresca por 1 ó 2 hrs.
- 3.- Colocarlo en 10 veces su volumen de formol al 3%.
- 4.- Cambiar el formol una vez transcurridas 24 hrs., para la conservación definitiva del parásito.

B).- Conservación de Tremátodos.

- 1.- Lavar al parásito para librarlo de residuos de materia fecal (el operador — debe portar guantes de hule), o de cualquier otro contaminante.
- 2.- Ponerlo en solución de formol al 3%.

Nota: Se obtiene mejores resultados comprimiendo la muestra entre dos portaobjetos y manteniéndolos juntos mediante ligas colocadas en ambos extremos. La muestra así preparada se sumerge durante 2 hrs. en una solución de formol,

se le retira los portaobjetos y el parásito aplanado se coloca en solución de formol al 3%.

C) - Conservación de Nemátodos.

- 1.- Lavar el Nemátodo para librarlo de residuos de materia fecal (el operador - debe portar guantes de hule).
- 2.- Colocarlo en un frasco con solución salina isotónica, ya que el agua hace que aumenten de volumen y pueden estallar.
- 3.- Pasarlos a solución de formol al 3% calentada a 70°C para que mueran.
- 4.- Colocarlos en alcohol al 70% para su conservación.

D).- Conservación de materia fecal que contiene huevos de parásitos.

- 1.- Tomar una pequeña porción de materia fecal (cerca de 1 cm de diámetro) y mezclarlo con suficiente cantidad de agua para producir una pasta de consistencia semisólida.
- 2.- Añadir unos 200 ml de formalina al 10% y calentada a 90°C. Mezclar perfectamente.
- 3.- Dejar sedimentar durante 1-2 horas.
- 4.- Decantar el líquido sobrenadante y añadir al sedimento 200 ml de solución de formalina al 10%.

E).- Conservación de quistes de protozoarios.

- 1.- En un portaobjetos limpio y desengrasado hacer un frotis delgado de materia fecal (como para que se lean caracteres de imprenta através de él) con ayuda de un aplicador de madera.

2.- Sumergirlos con el frotis hacia el líquido en el fijador de Schaudinn y dejarlos reposar 1 hora a temperatura ambiente.

3.- Si se desea se puede teñir con hematoxilina férrica (práctica núm. 2).

PREGUNTAS

- a).- Mencionar la composición de otros dos preservadores diferentes a los utilizados en esta práctica.
- b).- Indicar los preservadores más utilizados en la conservación de protozoarios.
- c).- ¿Cómo se conservan los artrópodos?
- d).- ¿Qué importancia tiene la conservación de los parásitos?
- e).- ¿Qué métodos existen para la captura de mosquitos?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

17, 20, 26, 40.

Práctica OplativaOTRAS TECNICAS COPROPARASITOSCOPICAS.

OBJETIVO

Aprender a realizar otros dos métodos de concentración: Sedimentación en copas y técnica de frotis grueso de "Kato".

INTRODUCCION

A pesar de la amplia gama de técnicas que existen para la determinación de huevos en materia fecal como método diagnóstico de infecciones helmínticas, se tiene aún la necesidad de contar con algunas que sean simples, sencillas y confiables. Dentro de las que pretenden cumplir con esto se encuentran:

- 1.- Sedimentación en copas. Especialmente utilizada para los huevos de helmintos porque permite su sedimentación en el fondo del recipiente en estado viable y sin deformación. Esta es su principal ventaja sobre otros métodos de concentración.
- 2.- Técnica de Frotis grueso de "Kato". Es adecuado para el examen de todo tipo de huevos de helmintos en materia fecal, pero no de larvas o protozoarios. Involucra el aclaramiento de un frotis directo de materia fecal que ha sido presionado bajo una tira de celofán impregnado de glicerina.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto

Pipetas Pasteur

Copas de 250 ml

Agitador de vidrio

Cubreobjetos y portaobjetos

Gasas y toallas de papel

Papel celofán (grueso medio, cortado en tiras de 22 x 30 mm y tratado durante 24 hrs. o más con solución de glicerina-verde de malaquita)

Solución de glicerina-verde de malaquita (100 ml de glicerina, 100 ml de agua, 1 ml de verde de malaquita acuoso al 3%)

Solución acuosa de verde de malaquita al 2%

Detergente

Materia fecal

TECNICA

A).- Sedimentación en copas.

- 1.- Homogenizar la muestra de materia fecal con agua de la llave.
- 2.- Tamizar con gasa, colectando el producto en copas de sedimentación cónicas.
- 3.- Completar el volumen con agua, agregando una pequeña cantidad de detergente.
- 4.- Reposar 20 min. y decantar el sobrenadante.
- 5.- Agregar más agua y 10 gotas de verde de malaquita al 2%.
- 6.- Reposar otros 20 minutos y decantar el sobrenadante.
- 7.- Tomar el sedimento con una pipeta Pasteur, colocarlo en un portaobjetos y cubrirlo con una laminilla.
- 8.- Observar al microscopio a seco débil. Los huevos de helmintos aparecen

de color amarillo en un fondo verde.

B).- Técnica de Frotis Grueso de "Kato".

1.- Poner 50 mg de materia fecal (pesar o estimar) en un portaobjetos.

2.- Cubrir con una tira de celofán previamente tratado.

3.- Colocar hacia abajo sobre una toalla de papel.

4.- Presionar para extender la materia fecal en forma homogénea hasta el margen o más allá.

5.- Voltear el portaobjetos y dejar secar a temperatura ambiente 1 hr. o en — incubadora a 34-40° C durante 20-30 minutos.

6.- Examinar al microscopio a seco fuerte. Los huevos de helmintos aparecen claros en un fondo oscuro.

PREGUNTAS

a).- ¿Para qué helmintos resulta ideal la técnica de sedimentación en copas?
¿Por qué?

b).- ¿Cuáles son las desventajas del método de sedimentación en copas?

c).- ¿Qué ocurre durante el secado en el método de frotis grueso de "Kato"?

d).- Mencionar las ventajas y desventajas de la técnica de frotis grueso de "Kato".

e).- ¿Cómo se procesa la materia fecal que presenta partículas o fibras por el método anterior?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

7, 17, 23, 27, 32.

Práctica OptativaDESARROLLO DE LOS HUEVOS DE F. HEPATICA HASTA LA FASE DE MIRACIDIOS.

OBJETIVO

De demostración de una parte del ciclo vital de Fasciola hepatica - consistente en la maduración de sus huevos con la consiguiente liberación de miracidios .

INTRODUCCION

F. hepatica es un tremátodo que infecta las vías biliares de muchos mamíferos incluyendo al hombre, produciendo la fasciolosis. Tiene la forma de una hoja terminada en el extremo anterior por una proyección cónica, llamada conocefálico en el que se encuentra la ventosa oral; el extremo posterior es redondeado.

El diagnóstico de esta parasitosis se basa en métodos serológicos y en el allazgos de los huevos de F. hepatica en la materia fecal, y en la bilis del huésped definitivo. Estos son grandes, ovoides, operculados, - de color pardo amarillento y miden en promedio de 120-150 x 60-90 micras.- Cuando se hallan en condiciones favorables de humedad y temperatura conservan su viabilidad durante meses .

En el agua y a temperatura de 22-25°C los huevos maduran en — 9-15 días y se abren liberando miracidios , que presentan manchas oculares y que son capaces de sobrevivir de una a tres semanas y mueren si no encuentran caracoles del género Lymnaea.

En el caracol, los miracidios sufren una serie de transformaciones que llevan a la formación primero de esporicistos y luego de redias, las que dan origen a numerosas cercarias. Estas al abandonar el caracol se fijan a la vegetación acuática, a cortezas o incluso permanecen en el agua en donde se enquistan constituyendo las metacercarias (forma infectante).

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Tubos de ensaye de 13 x 100 (2)
Microscopio estereoscópico	Pipetas Pasteur con bulbo de hule
Incubadora a 25°C	Termómetro
Centrifuga	Portaobjetos y cubreobjetos
Equipo de disección	Agua destilada
Cajas de petri (2)	Adultos de <u>F. hepatica</u>

TECNICA

- 1.- Practicar en los ejemplares adultos de F. hepatica un corte transversal en el tercio anterior más o menos a nivel de la ventosa ventral (previa observación al microscopio).
- 2.- Colectar los huevos con ayuda de una pipeta Pasteur y ponerlos en tubos de ensaye que contienen agua destilada.
- 3.- Centrifugar a 15 00 rpm durante 1 minuto y decantar el sobrenadante.
- 4.- Añadir agua destilada y repetir lo indicado en el paso 3.
- 5.- Tomar algunos huevos del sedimento con pipeta Pasteur y depositarlos entre

porta y cubreobjetos. Observar en fresco (seco débil y seco fuerte).

6.- Transferir el resto del sedimento a cajas de Petri que contienen agua destilada e incubar a 25°C durante 13 a 15 días (aerear diariamente el agua por movimiento).

7.- Observar cada 24 hrs. los huevos con el fin de determinar la salida de los miracidios.

Nota: Esterilizar el material empleado.

PREGUNTAS

- a).- Explicar las transformaciones que sufre F. hepatica dentro del caracol.
- b).- ¿Por qué es importante mantener durante la incubación la temperatura a 25°C?
- c).- Medidas profilácticas para la erradicación de esta parasitosis.
- d).- ¿Qué técnicas clínicas se emplean para el diagnóstico de esta parasitosis?
- e).- Características de los miracidios.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

5, 31, 40, 45.

Práctica OptativaDEMOSTRACION DEL CICLO BIOLÓGICO DE ASCARIS LUMBRICOIDES

OBJETIVO

Confirmación del ciclo biológico de Ascaris lumbricoides en animales de laboratorio.

INTRODUCCION

Ascaris lumbricoides, agente etiológico de la ascariasis, es el nemátodo intestinal de mayor tamaño. La parasitosis se adquiere por la ingestión de huevos embrionados que se encuentran frecuentemente en el suelo, agua y frutas o verduras.

En el duodeno del huésped, ocurre la eclosión del embrión, pero las larvas que han salido de los huevos no permanecen en el intestino sino que se introducen en su pared pasando al torrente circulatorio que las conduce primeramente al hígado y de éste al corazón y los pulmones.

Como consecuencia de su penetración en el parenquima pulmonar ocurre una infiltración transitoria. De aquí, son transportadas a bronquios, ascienden a traquea, glotis, de donde pasan al tracto digestivo para localizarse finalmente en el intestino delgado, donde inicia su reproducción.

En el hombre, el periodo de incubación (tiempo comprendido entre el momento de la infección y la primera ovoposición de las hembras maduras) es de aproximadamente dos meses.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Portaobjetos y cubreobjetos
Equipo de disección	Sonda de hule
Tabla de disección	Guan tes de hule
Cajas Petri	Alfileres
Morteros	S.S. I. con formol al 2%
Tubos de ensaye de 13 x 100 c/tapón	E ter etílico
Pipetas Pasteur	Conejos (de 2-2.5 Kg de peso)
Jeringas hipodérmicas de cristal de 2.5 ml	Hembras vivas de <u>A. lumbricoides</u>

(Esta práctica se realizará en equipos de 10 personas)

TECNICA

- 1.- Tomar una hembra viva de A. lumbricoides y practicarle una incisión longitudinal, teniendo cuidado de seccionar únicamente la cutícula y los músculos.
- 2.- Separar y fijar con ayuda de alfileres los colgajos obtenidos, facilitando así la identificación de los úteros.
- 3.- Cortar con tijeras a dos cm por arriba de la vulva.
- 4.- Colocar los úteros así obtenidos en un mortero y triturarlos añadiendo solución salina isotónica con formol al 2%.
- 5.- Tomar una gota de la suspensión que se encuentra en el mortero y colocarla entre porta y cubreobjetos. Observar a seco débil y seco fuerte los hue

vos que estaban contenidos en los úteros .

6.- Transferir el triturado a los tubos de ensaye e incubarlos en estufa a 26--28° C durante 25-36 días.

7.- Tomar una gota del sedimento de los tubos que contienen a los huevos embrionados, colocarla entre porta y cubreobjetos y observar a seco débil y seco fuerte para corroborar la existencia de larvas móviles en el interior de los huevos.

8.- Agitar los tubos cuidadosamente y tomar con jeringa a la que se ha adaptado una sonda un inóculo de 2 ml.

9.- Anestesiarse al conejo con éter e introducirle la sonda hasta el esófago.

10.- Presionar el émbolo de la jeringa lentamente.

11.- Dejar transcurrir 3, 5, 7, 10 días. Al cabo de ellos, sacrificar a los conejos con éter.

12.- Sujetar a los animales a tablas de disección por cada una de sus extremidades, para proceder a abrir la cavidad tóraco-abdominal y extraer pulmones e hígado.

13.- Depositar estos órganos en cajas de Petri y cortarlos en pequeños fragmentos.

14.- Tomar uno de los fragmentos, colocarlo entre los portaobjetos junto con una gota de solución salina.

15.- Presionarlos de manera que se forme una película delgada y observar a seco débil y seco fuerte para tratar de identificar la presencia de larvas en -

parénquima pulmonar y hepático.

16.- Anotar los resultados obtenidos de la siguiente manera:

Días	Núm. de larvas en hígado	Núm. de larvas en pulmones
3		
5		
7		
10		

PREGUNTAS

- Describir brevemente el ciclo biológico de Ascaris lumbricoides.
- ¿Cómo se realiza el diagnóstico de una ascariasis?
- ¿Qué complicaciones frecuentes presenta esta parasitosis?
- Medidas profilácticas para el control de las infecciones causadas por -
A. lumbricoides.
- ¿Qué padecimiento puede causar Toxocara canis en el humano? ¿Cómo se realiza su diagnóstico?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

8, 11, 18, 20.

Práctica OptativaMETODO DE BENBROOK PARA EL DIAGNOSTICO DE PARASITOSIS PRODUCIDAS
POR ACAROS.

OBJETIVO

Aprender uno de los métodos más utilizados en el diagnóstico de lesiones cutáneas causadas por ácaros.

INTRODUCCION

El orden acarina incluye a los ácaros y garrapatas, importantes parásitos y transmisores de enfermedades del hombre y a animales. Ambos artrópodos se caracterizan por presentar el cefalotórax y abdomen unidos, sin segmentación externa. Los adultos son dioicos y poseen cuatro pares de patas a diferencia de las larvas que sólo tienen tres.

Una de las superfamilias de mayor importancia médica dentro del orden mencionado es Sarcoptidae, ya que a ella pertenece Sarcoptes scabiei, agente etiológico de la sarna o escabiasis, padecimiento de distribución cosmopolita que afecta principalmente a las clases de bajo nivel económico.

Sarcoptes scabiei es un artrópodo microscópico, de contornos ovales que carecen de aparato respiratorio especial. Sus patas anteriores están separadas de los dos pares de patas posteriores; en la hembra, las patas anteriores terminan en pequeñas ventosas y las posteriores en largas cerdas; en el macho el tercer par termina en cerdas y el cuarto está provisto de pulvilos.

La sarna del hombre se adquiere comunemente por contacto con — personas infectadas o ropas contaminadas con hembras adultas del ácaro o — con sus huevos, larvas o ninfas. Las hembras penetran en la piel produciendo surcos de 1 a 10 mm de longitud, en los cuales depositan de 15 a 30 huevos. Su localización habitual se halla en los pliegues interdigitales de manos y — pies, y en las regiones inguinal y genital. Los huevos miden unas 14 μ de longitud.

MATERIAL Y EQUIPO

Microscopio compuesto	Portaobjetos y cubreobjetos
Pinzas de disección	Vaselina
Hoja de bisturí	Conejo sarnoso

TECNICA

- 1.- Colocar una gota de vaselina en el centro de un portaobjetos.
- 2.- Mojar la hoja de bisturí con la vaselina (así se recogen mejor los parásitos que con uno seco).
- 3.- Formar un pliegue en la piel del lomo del conejo con los dedos índice y — pulgar en la zona afectada y raspar la cresta del pliegue con la hoja de bisturí hasta que empiece a rezumar la linfa. Evitar que la piel sangre.
- 4.- Trasladar el producto del raspado que queda en la hoja de bisturí a la gota de vaselina colocada en el portaobjetos.
- 5.- Poner un cubreobjetos encima de la gota por medio de las pinzas.

6.- Examinar el material situado debajo del cubreobjetos con objetivo seco - débil (o microscopio estereoscópico) y con luz intensa. El aceite vuelve transparentes la s escamas cutáneas y los parásitos destacan perfectamente. En - esta preparación los ácaros pueden vivir varios días. En algunos casos pue - de ser necesario el efectuar varios raspados para encontrarlos.

PREGUNTAS

- a).- Mencionar las principales diferencia s que existen entre ácaros y garra - patas.
- b).- Describir el ciclo vital de un ácaro.
- c).- Medidas profilácticas para la erradicac ión de la sarna.
- d).- ¿Cuále s son las manifestaciones clínicas de la sarna?
- e).- Indicar qué otras parasitosis son causadas por ácaros.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

10, 17, 37, 45.

Práctica Op tativaPREPARACION DEL ANTIGENO DE CYSTICERCUS CELLULOSAE.

OBJETIVO

Conocer una de las técnicas que existen para la preparación de — antígeno de Cysticercus cellulosa.

INTRODUCCION

La cisticercosis humana es una infección causada por Cysticer—
cus cellulosa, estado larval de Taenia solium (la tenia del puerco).

La ingestión de carne cruda o insuficientemente cocida de puer—
co infectado con la larva cisticercosa, lleva al establecimiento de la Taenia —
solium adulta en el intestino humano. La ingestión de huevos de T. solium da—
como resultado un cuadro clínico totalmente diferente. Los huevos eclosionan —
al ser expuestos a jugo gástrico y enseguida a jugo inte stinal. Los organismos
resultantes penetran la pared intestinal y entran a las venas mesentéricas de —
dónde se distribuyen a todo el cuerpo. Generalmente pasan a los músculos don—
de dan origen a los cisticercos, sin embargo, éstos pueden encontrarse en —
prácticamente cualquier órgano del cuerpo. Los síntomas de esta infección so—
mática varían dependiendo del número de larvas presentes y del órgano invadido.

El diagnóstico de la cisticercosis depende de la escisión de los pa—
rásitos y del uso de rayos X. Hasta hace algunos años las pruebas serológicas —
se habían visto limitadas por reacciones cruzadas que se presentaban por el ti—
po de antígeno empleado. Actualmente, gracias a los nuevos procedimientos de

extracción de éste, se cuenta con dos procedimientos serodiagnósticos muy prometedores: la prueba de fijación de complemento y la de hemaglutinación indirecta.

MATERIAL Y EQUIPO

Balanza analítica	Vidrio de reloj y espátula
Centrífuga	Vaso de precipitados de 250 ml
Liofilizadora	Pipetas de 10 ml (2)
Triturador de tejidos	Pipetas de 1 ml
Tubos de centrifuga de 15 ml (2)	Ampulas de vidrio
Eter anhidro	
Buffer Bicarbonato-Veronal en solución salina (VBBS pH 7.2)	
Adultos secos de <u>Taenia solium</u>	
<u>Cysticercus cellulosae</u> secos	

TECNICA

Procedimiento de Chaffee.

- 1.- Colocar en un vaso de precipitados 100 mg de adultos y cisticercos secos.
- 2.- Adicionarles 10 ml de éter anhidro frío.
- 3.- Moler por 10-15 minutos con un triturador de tejidos colocado en baño de hielo.
- 4.- Decantar la suspensión de antígeno en tubos de centrifuga. Enjuagar el triturador de tejido con 5 ml de éter anhidro frío y adicionarlo a la suspensión.
- 5.- Centrifugar la suspensión éter parásito en frío a 850 x g por 30 minutos.

13.- Transferir el sobrenadante opalescente a ámpulas de vidrio en alícuotas exactas de 1 ml.

14.- Liofilizar y almacenar a -20°C .

PREGUNTAS

a).- ¿En qué consiste la autoinfección interna y externa por Cysticercus cellulosae?

b).- ¿Por qué se trabaja en frío durante la preparación del antígeno de Cysticercus cellulosae?

c).- ¿Qué problemas existen para la preparación de antígenos de los diversos parásitos macroscópicos?

d).- ¿Cuál es la importancia de las pruebas serológicas en el diagnóstico de la cisticercosis?

e).- ¿Qué lesiones graves pueden presentarse como consecuencia de una cisticercosis somática?

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

10, 12, 13, 39.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Bach, F.W., J. Zschucke , 1933, Diagnóstico Microscópico de las Enfermedades Tropicales más Importantes, México, Ed. Rev. de Inf. Terapeutica.
- 2.- Belding, D.L., 1965, Textbook of Parasitology, 3rd ed., New York, Appleton-Century-Crofts, Inc.
- 3.- Biological Stain Commission ed., 1965, Staining Procedures, 2nd ed., - Baltimore, The Williams and Wilkins Co.
- 4.- Boeck, W.C., J. Drbohlav, 1962, "The Cultivation of Endamoeba histolytica," Amer. J. Hyg., 5: 4.
- 5.- Brenes, R.R., 1970, Manual de Laboratorio, Costa Rica, Fac. de Microbiología, Cd. Universitaria Rodrigo Facio.
- 6.- Brewer, J.M., A.J. Pesce, R.B. Asworth, 1974, Experimental Techniques in Biochemistry, New Jersey, Prentice Hall, Inc.
- 7.- Brown, H.W., 1969, Basic Clinical Parasitology, 3rd ed., New York, -- Meredith Corp.
- 8.- Burrows, R.B., 1965, Microscopic Diagnosis of the Parasites of Man, -- New Haven, Yale University Press.
- 9.- Cable, R.M., 1958, An Illustrated Manual of Parasitology, U.S.A., Burgess Publishing Co.
- 10.- Chandler, A.E., C.P. Read, 1951, Introduction to Parasitology with Special Reference to the Parasites of Man, New York, John Wiley and Sons, Inc.
- 11.- Cheng, T.C., 1964, The Biology of Animal Parasites, Philadelphia, W.B.

Saunders Co.

- 12.- Conrath, T.B., ed., 1972, Handbook of Microtiter Procedures, Cambridge Mass. Dynatech Corp.
- 13.- Davidshon, I., J. Bernard, 1974, Todd-Sanford Clinical Diagnosis by — Laboratory Methods, 15th ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co.
- 14.- De la Torre, M., R. de la Hoz-Couturier, L. Landa, B. Sepúlveda, 1971, - "Cultivos Axénicos de E. histolytica", Arch. Inv. Med., núm. 1: 166.
- 15.- De Roeber, B., 1970, "The Importance of Serology for Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis", II Congreso Latinoam. de Parasitología, México.
- 16.- Faust, E.C., J.S. D'Antoni, V. Odom, M. Miller, C. Peres, W. Sa—witz, L.F. Thomen, & J.H. Walker, 1938, "A critical Study of Clinical Labora—tory Technics for the Diagnosis of Protozoan Cysts and Helminth Eggs in Fe—ces", Amer. J. Trop. Med., 18: 169.
- 17.- Faust, E.C., P.R. Russell, R.C. Jung, 1975, Craig y Faust: Parasitolo—gía Clínica, México, Salvat Ed. S.A.
- 18.- Faust, E.C., 1949, Human Helminthology, 3rd ed., Philadelphia, Lea— and Febiger.
- 19.- Feldman, H. A., 1953, "The Clinical Manifestations and Laboratory — Diagnosis of Toxoplasmosis", Amer. J. Trop. Med. Hyg., 2: 240.
- 20.- Garrido, A.J., 1966, Técnicas de Laboratorio en Parasitología Clínica, - Madrid, Ed. Librería Marban.
- 21.- Goiffon, R., 1925, Manuel de Coprologie Clinique, 2ème ed., Paris, —

Masson et Cie. Editeurs.

- 22.- Graham, C. F., 1941, "A Device for the Diagnosis of Enterobius Infection", Amer. J. Trop. Med., 21: 159.
- 23.- Henriksen, Sv.Aa., 1966, "An Improved Method for the Demonstration of Distoma Eggs in Faeces", Nord. Vet. Med., 18: 266.
- 24.- Huepke, W., 1941, Las Heces del Hombre, Madrid, Espasa-Calpe S.A.
- 25.- Jawetz, E., J. Melnick, E. Adelberg, 1973, Manual de Microbiología Médica, 5a. Ed., México, El Manual Moderno.
- 26.- Kolmer, J.A., F. Boerner, 1948, Métodos de Laboratorio Clínico, 2a ed., México, Ed. Interamericana.
- 27.- Komiya, Y., A. Kobayashi, 1966, "Evaluation of Kato's Thick Smear — Technic with a Cellophane Cover for Helminth Eggs in Feces", Jap. J. Med. Sci. Biol., 19: 59.
- 28.- Langeron, M., M. Rondeau du Noyer, 1930, Coprologie Microscopique, Paris, Masson et Cie. Editeurs.
- 29.- Lee, E., O. Palacios, B. Sepúlveda, 1970, "Inmunoelectroforesis del Antígeno Amibiano", Arch. Inv. Med., 1, Supl. núm 1: 91.
- 30.- Loughlin, E.H., N. R. Stoll, 1946, "An Efficient Concentration Method (AEX) for Detecting Helminth Ova in Feces", Amer. J. Trop. Med., 26: 517.
- 31.- Markell, E.K., M. Voge, 1958, Diagnostic Medical Parasitology, Philadelphia, W. B. Saunders Co.
- 32.- Martin, L.K., P.C. Beaver, 1968, "Evaluation of Kato Thick Smear —

- Technic for Quantitative Diagnosis of Helminth Infections", Amer. J. Trop. Med. Hyg., 17:3 28.
- 33.- Melvin, D.M., M.M. Brooke, 1969, Métodos de Laboratorio para Diagnóstico de Parasitosis Intestinales, México, Ed. Interamericana.
- 34.- "Monografías Médicas Squibb núm 1: Los Paludismos y su Tratamiento",- 1950, Depto Médico de E.R. Squibb e hijos, ed., E.U.A.
- 35.- Monroy, J., J.M. Monroy, 1960, Alacranes Venenosos de México, --- Rev. Mex. Cienc. Med. Biol., núms. 1, 3, 4, 5, 6, México.
- 36.- Novy, F.G., W.J., Mac Neal, 1904, "On the Cultivation of Trypanosoma brucei", J. Infect. Dis., 1: 1.
- 37.- Piekarski, G., 1959, Tratado de Parasitología, con especial consideración de los parásitos del Hombre, Madrid, Ed. Aguilar.
- 38.- Riley, W.A., 1949, Introduction to the Study of Animal Parasites and Parasitism, U.S.A., Burgess Pub. Co.
- 39.- Roitt, I., 1974, Essential Immunology, 2nd ed., Oxford, William Clowes and Sons, Ltd.
- 40.- Schell, S.C., 1956, Manual de Laboratorio de Parasitología, España, Ed. Académica.
- 41.- Sepúlveda, B., M. de la Torre, R. de la Hoz-Couturier, 1971, "La Amibiasis Invasora por E. histolytica", Gaceta Med. Mex., 100:203.
- 42.- Sepúlveda, B., E. Lee, L. Landa, 1971, "El Diagnóstico Serológico de la Amibiasis Invasora con la técnica de Contraímmunoelectroforesis Cruzada", —

Arch. Inv. Med., 2: 263.

43.- Smyth, J.D., 1962, Introduction to Animal Parasitology, London, The English Universities Press.

44.- Soberón y Parra, G., D. Peláez F., 1975, No ciones de Parasitología Médica y Patología Tropical, 2a ed., México, Francisco Méndez Oteo ed.

45.- Spencer, F.M., L.S. Monroe, 1961, The Color Atlas of the Intestinal Parasites, Illinois, Charles C. Thomas, ed.

46.- Tay, V., O. Velasco, 1973, Parasitología para Estudiantes de Medicina, México, Ed. Tayve S.A.

47.- Wintrobe, M.M., 1967, Clinical Hematology, 6th ed., Philadelphia, Lea & Febiger.

48.- Wykoff, D.E., L.P. Frick, L.S. Ritchie, 1958, "Statistical Evaluation of the Formalin-Ether Fecal Sedimentation Concentration Procedure", Amer. J. Trop. Med. Hyg., 7: 150.