

CENTRO DE BACHILLERATO TECNOLÓGICO,
industrial y de servicios #130

Análisis Clínicos Generales.

Profesora: Ing. Elsa Elena Campillo P.

Cruz Fierro Carlos Francisco

Especialidad: Técnico Laboratorista Clínico.

Semestre: VI.

Enero - Junio 1994.



Prácticas De Análisis Clínicos Generales

Práctica 1

GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA

Es una glucoproteína de peso molecular 30,000. Es producida por trofoblastos placentarios con una vida media de 294 minutos. Es parecida a la hormona luteinizante, sólo con la diferencia de vida media que es de 67 minutos. Se encuentra a partir de las 8 semanas de embarazo.

La determinación de gonadotropina coriónica humana es una prueba inmunológica por llevar una reacción antígeno-anticuerpo. El anticuerpo es la defensa del organismo y el antígeno es el agente extraño.

Una muestra (suero) se denomina como un antígeno porque el suero contiene gonadotropina coriónica humana y el anticuerpo es producido por otro animal (carnero). Esto es para detectar la hormona. Existen dos métodos que son en tubo y placa.

En el método en placa, se coloca una gota de orina o suero y una gota de látex, se homogeniza y la interpretación es en base a la aglutinación: si aglutina es positivo; si no aglutina es negativo.

Para el método en tubo se emplean eritrocitos sensibilizados, orina centrifugada y antisuero anti-HGC. Es positivo si aglutinan los eritrocitos, negativo si se observa una suspensión homogénea.

Práctica 2

ESPERMATOBIOSCOPIA DIRECTA

Indicaciones:

La muestra debe recolectarse en un plazo de 48 horas a 7 días de abstención, por masturbación en un frasco limpio (no se debe recoger en condón o por coito interrumpido). De



preferencia realizar la toma de muestra en un lugar anexo al laboratorio, o en su defecto, llevar la muestra al mismo en máximo una hora. La muestra se rotula con el nombre del paciente, hora de recepción, días de abstinencia y hora de recolección.

Examen Macroscópico:

El aspecto normal del esperma es opalescente grisáceo, con un tiempo de licuación de 60 minutos a partir de la eyaculación. Si el color es amarillo claro se debe a una baja concentración de espermatozoides, y la presencia de glóbulos rojos ocasiona un color pardo.

El volumen se mide en una probeta graduada o con una jeringa, lo normal es de dos o más mililitros.

La consistencia se mide con una aguja. Si el esperma es normal, se forman filamentos con gotas; si es anormal, se observan filamentos sin gotas y mayores de dos centímetros.

Para valorar el pH se coloca una gota de semen en una tira para pH. Los valores normales se sitúan en el rango de 7.2 a 7.8. Una infección propicia valores bajos de pH.

Examen Microscópico:

La movilidad se evalúa depositando una gota de semen en un portaobjetos y cubriéndolo con un cubreobjetos, observando al microscopio con objetivo 40x. Hay cuatro tipos:

1. Progresiva rápida.
2. Progresiva lenta.
3. No progresiva.
4. Inmóviles.

Se observan de 4 a 6 campos o se cuentan 100 células, reportando en porcentaje. Se considera normal si el 25% tiene movilidad progresiva rápida (tipo 1) o si el 50% tiene movilidad progresiva rápida o lenta (tipos 1 y 2).

También se observa la presencia de otras células, como células epiteliales, leucocitos, eritrocitos y bacterias.

Para el recuento de espermatozoides se llena una pipeta de glóbulos blancos hasta la marca de 0.5 y se diluye con agua fría destilada hasta la marca de 11. Se agita y se llena la cámara de Neubauer con una gota de dilución, se observa a 40x y se cuenta la cuadrícula de glóbulos rojos, multiplicando por un factor de 200,000 para obtener el número de espermatozoides por mililitro. Los valores normales se encuentran por encima de 40 millones por mililitro.



Para el examen de la viabilidad, se coloca en un portaobjetos limpio una gota de semen con una gota de eosina al 0.3%. Se cubre y se observa a 40x. Los espermatozoides muertos absorben el colorante rosa, mientras que los vivos se mantienen incoloros.

Para el reporte se incluye el nombre del paciente, la fecha y hora de recolección, los días de abstinencia y los resultados de los exámenes macroscópicos y microscópicos.

Práctica 3

EXAMEN GENERAL DE ORINA (EGO)

Generalidades:

La composición de la orina depende de:

- Estado de nutrición.
- Estado de los procesos metabólicos.
- Capacidad del riñón para seleccionar sustancias.

La formación de orina depende de:

- Filtración glomerular.
- Excreción de sustancias tóxicas.
- Reabsorción tubular.

Recolección De La Muestra (Varones):

Lavar con jabón y enjuagar con agua. Desechar el primer chorro de orina y recolectar la demás.

Recolección De La Muestra (Mujeres):

Separar los labios, lavar con jabón el meato urinario, desechar un poco de orina y recolectar la demás, teniendo los labios abiertos.

Recolección De Orina De 24 Horas:

- Asepsia.
- Desechar la orina.
- Recolectar la orina emitida en las 24 horas.
- Guardarla en el refrigerador.
- Recoger hasta una hora después de haber iniciado el día anterior.



Conservación De La Orina:

La contaminación bacteriana degrada la urea en amoníaco, que aumenta el pH y destruye a los grandes cilindros. La orina de 24 horas es preferible conservarla en refrigeración.

Examen Físico:

El color normal es ámbar. Un color rojo indica sangre.

El aspecto normal es transparente, una orina turbia es anormal (puede ser por exceso de células epiteliales).

Los valores normales de densidad van de 1.015 a 1.022. Cuando aumenta la densidad puede deberse a deshidratación o fiebre.

El pH normal es 6.0. Cuando aumenta indica una infección bacteriana.

El olor normal es suigénis. Olores anormales como frutas (en diabéticos debido a una alta desnaturalización de las proteínas), fecal (por perforación del intestino hacia la vejiga) o pútrido (por formación de pus y acumulación de ácido sulfhídrico).

Exámenes Químico Y Microscópico:

Vaciar aproximadamente 7 ml de orina en un tubo de ensaye. Introducir la tira reactiva y comparar con los bloques de color. Centrifugar 5 minutos a 2,500 rpm, decantar y colocar una gota de sedimento en un portaobjetos. Cubrir con un cubreobjetos y observar al microscopio con el objetivo 40x.

Práctica 4

UROCULTIVO

Fundamentos:

El urocultivo se realiza para analizar si existen bacterias patógenas en vías urinarias, sembrando orina en distintos agares.

Material:

- > Agar EMB en caja de petri.
- > Agar S-110 en caja de petri.
- > Agar Müller-Hinton en caja de petri.
- > Agar sangre en caja de petri.
- > Asa de nicromio.
- > Hisopos.



- Tubos de pruebas bioquímicas (TSI, RM-VP, Citrato y Ureasa).
- Antibióticos para el antibiograma.
- Tubo con caldo Tripticaseína.
- Orina.

Procedimiento:

1. Descargar con un hisopo la muestra de orina en los medios EMB, S-110, agar sangre y estriar en 3 campos.
2. Tomar con el asa la muestra de orina y descargarla en el medio Müller-Hinton, estriar en toda la caja.
3. Incubar a 37°C durante 24 horas.
4. Observar las características de las colonias y realizar las pruebas bioquímicas necesarias para la identificación de los microorganismos obtenidos.
5. Tomar la colonia a estudiar y sembrarla en caldo tripticaseína.
6. Incubar una hora.
7. Descargar con un hisopo del caldo incubado al agar Müller-Hinton.
8. Colocar el disco para el antibiograma e incubar a 37°C por 24 horas.

Resultados:

Las bacterias patógenas de las vías urinarias son:

- *Escherichia coli* (60%).
- *Proteus* (20-30%).
- *Pseudomona* (15-20%).
- *Staphylococcus* (10-20%).
- *Candida albicans* (Raro, no es bacteria sino hongo).

Suele haber crecimiento bacteriano en orina en la pielonefritis, glomerulonefritis y cristitio.

Tinción De Gram:

- Cristal violeta: dos minutos.
- Lavar.
- Lugol: dos minutos.
- Lavar.
- Alcohol-Acetona: 30 segundos.
- Lavar.
- Safranina: 30 segundos.
- Lavar.
- Secar al aire y observar con el objetivo de inmersión.



Práctica 5

EXUDADO FARÍNGEO

Fundamento:

Utilizando medios de aislamiento e identificación, obtener los microorganismos presentes en un cultivo faríngeo.

Material:

- > Una caja de agar S-110.
- > Una caja de agar sangre.
- > Mechero.
- > Hisopo.
- > Asa bacteriológica.
- > Abatelenguas.

Procedimiento:

1. Instruir un paciente para que respire profundamente; el paciente debe tener la boca abierta y con un abatelenguas detener la lengua.
2. Con un hisopo estéril deslizar entre los pilares tonsilares y por detrás de la úvula cuidando de no tocar las paredes laterales de la cavidad bucal o la lengua.
3. Una vez tomada la muestra, depositar en los agares, hacer estrias e incubar a 37°C por 24 horas.

Práctica 6

COPROCULTIVO

Material:

- > Agar EMB.
- > Agar SS.
- > Caldo de Tetracionato.
- > Agar McConkey.
- > Agar XLD.



Procedimiento:

1. Depositar un asa de heces en caldo de tetracionato.
2. Incubar a 37°C por 18 horas.
3. Resembrar por estría en los medios EMB, SS, XLD y McConkey.
4. Incubar a 37°C por 24 horas.
5. En caso de crecimiento realizar las pruebas bioquímicas apropiadas.

Tabla De Características De Algunas Enterobacterias:

GRUPO	Agar EMB	Agar SS	Agar XLD	Agar McCONKEY
<i>Escherichia coli</i>	Planas color púrpura, con brillo metálico.	Grandes opacas, rosas o rojas.	Planas secas, amarillo limón.	Rojas.
<i>Klebsiella enterobacter</i>	Color azul claro a violeta, mucoides.	Grandes, color blanco o crema, opacas.	Elevadas mucoides, color limón.	Grandes mucoides color rojo.
<i>Salmonella</i>	Incoloras, transparentes.	Incoloras con centro negro.	Grandes rojas a marrón con centro negro.	Incoloras o transparentes.
<i>Shigella</i>	Pequeñas transparentes o incoloras.	Pequeñas transparentes o incoloras.	Transparentes rojas, rodeadas de una zona roja en el agar.	Pequeñas transparentes.

Tabla De Pruebas Bioquímicas:

	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10
<i>Escherichia</i>	+	+	-	-	-	-	+/-	+	d	-
<i>Shigella</i>	-/+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i>	-	+	-	d	+	-	+	-	-	+
<i>Arizona</i>	-	+	-	+	+	-	+	d	-	+
<i>Citrobacter</i>	-	+	-	+	+/-	d	+	d	d	+/-
<i>Klebsiella</i>	-/+	-	+	+	-	+	-	+	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	+	+	-	+/-	+	+	+	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>Hafnia</i>	-	+/-	+/-	+/-	-	-	+	-/+	d	-
<i>Serratia</i>	-	-/+	+	+	-	d	+	-/+	+	-



<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	-/+	-/+	+	+	+	-	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	-/+	-/+	+	+	+	-	d	+
<i>Proteus morgogni</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
<i>Proteus retgerii</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	d	-
<i>Providencia</i>	+	+	-	-	-	-	+	-	d	-

1. Indol.
2. Rojo de metilo.
3. Voges Proskauer.
4. Citrato.
5. H₂S.
6. Ureasa.
7. Movilidad.
8. Lactosa.
9. Sacarosa.
10. Gas.

- - Reacción negativa.
- + Reacción positiva.
- +/- La mayoría positiva.
- -/+ La mayoría negativa.
- d Positiva tardía.

Práctica 7

COPROPARASITOSCÓPICO

Fundamento:

Se basa en la flotación de los huevecillos o quistes por medio del sulfato de zinc de densidad 1.181.

Procedimiento:

1. Colocar la muestra de heces en un tubo de ensaye y diluir con agua mezclando. Centrifugar 7 minutos a 1,500 rpm. Decantar.
2. Repetir este lavado hasta completar tres veces.



3. Diluir con sulfato de zinc y centrifugar nuevamente.
4. Sacar el tubo de la centrifuga y colocar en una gradilla. Llenar hasta el borde con sulfato de zinc y colocar encima un cubreobjetos. Dejar reposar 5 minutos.
5. Colocar el cubreobjetos sobre un portaobjetos con una gota de yodo-lugol.
6. Observar al microscopio a 40x.

Práctica 8

REACCIONES FEBRILES

Es una serie de reacciones antígeno-anticuerpo con suero. Los antígenos de las reacciones febriles son:

Brucella abortus: Diagnostica la brucelosis, fiebre de malta. Se produce en personas que trabajan con ganado vacuno o por ingerir leche o sus derivados no pasteurizados.

Tífico O y *Tífico H*: Descubren infecciones por *Salmonella typhi*. El antígeno O es somático y el H es flagelar.

Paratífico A y B: Revelan los subtipos A y B de *Salmonella paratyphi*.

Proteus OX-19: Identifica rickettsias, ya que son antigénicamente similares a la pared del *Proteus*.

Práctica 9

BIOMETRÍA HEMÁTICA

Fundamento:

El valor de la hemoglobina se determina diluyendo un volumen medio de sangre venosa con ferrocianuro de potasio o cianuro de potasio formando cianometahemoglobina. La densidad óptica de este pigmento es medida luego a 540 nanómetros y se compara con la solución normal de concentración conocida.

El hematocrito se determina habitualmente llenando un tubo capilar con sangre y colocándolo en la centrifuga.

Para la cuenta leucocitaria se diluye la sangre con solución acuosa de ácido acético al 2%, la cual va a destruir todas las células de la sangre menos a los leucocitos.



La fórmula leucocitaria permite diferenciar entre las distintas clases de leucocitos: neutrófilos (banda y segmentados, son morados con gránulos lilas, de 3 a 4 lóbulos), basófilos (morados, núcleo lobulado), eosinófilos (anaranjados, núcleo lobulado), linfocitos (núcleo grande y morado) y monocitos (de citoplasma azul).

Técnica:

1. **Determinación de hemoglobina:** Colocar en un tubo de ensaye 5.0 ml de reactivo de Drabkin. Homogenizar la sangre. Llenar hasta la marca 0.02 con sangre la pipeta de Sahli. Limpiar el exterior de la pipeta con gasa. Colocar el contenido de la pipeta en el tubo de ensaye con Drabkin. Soplar a través de la pipeta para homogeneizar. Dejar reposar 10 minutos. Leer en el espectrofotómetro a 540 nanómetros usando blanco de reactivo.

2. **Determinación de hematocrito:** Homogenizar la sangre. El extremo no marcado de un capilar se coloca para recoger la sangre y se deja llenar 3/4 partes del capilar (inclinándolo horizontalmente se acelera el llenado). Quitar el capilar de la sangre, tapar un extremo del capilar ya sea sellándolo con fuego o tapándolo con plastilina. Se limpia el exceso de sangre con una gasa y se coloca en la centrifuga con la parte sellada hacia abajo. Se pone a centrifugar a 5000 rpm durante 5 minutos. El hematocrito se lee como el porcentaje de sangre venosa ocupada por los eritrocitos.

3. **Cuenta leucocitaria:** Homogenizar la sangre. Recoger la sangre en un pipeta de Thoma hasta la marca de 0.5, se limpia en forma cuidadosa el extremo de la pipeta. Se completa con líquido de Türk hasta la marca de 11, cuidando que no aparezcan burbujas de aire en la pipeta. Mezclar durante 5 minutos. Desechar las primeras 3 gotas de la pipeta. Colocar la cuarta gota entre la cámara de Neubauer y el cubrehematimetro, dejar reposar 1 minuto para que se sedimenten los leucocitos. Contar los leucocitos contenidos en los cuatro reticulos angulares. El número de leucocitos contados se multiplica por 50.

4. **Cuenta diferencial:** Limpiar dos portaobjetos hasta dejarlos libres de grasa. Homogenizar la sangre. Colocar una gota de sangre en el extremo del portaobjetos. Colocar otro portaobjetos encima, procurando que el borde forme un ángulo de 45°, impregnar la sangre totalmente. Empujar el portaobjetos con suavidad para formar un extendido. Dejar que se seque el extendido. Tefir la laminilla con la tinción de Wright.

Valores Normales:

- Hemoglobina de 14 a 17 g/dl en el hombre y 12 a 14 g/dl en la mujer.
- Hematocrito de 37±3 en la mujer y 47±3 en el hombre.
- Leucocitos de 5 000 a 10 000 en los adultos, de 10 000 a 17 000 en los niños.
- Neutrófilos segmentados 50 a 60%, neutrófilos en banda 3 a 5%, eosinófilos 1 a 4%, basófilos 0 a 1%, linfocitos 20 a 40% y monocitos 0 a 4%



Práctica 10

DETERMINACIÓN DEL GRUPO ERITROCÍTICO

Procedimiento:

1. Preparar una suspensión al 2% en solución salina de eritrocitos lavados una sola vez.
2. Colocar una gota de suero anti-A en un tubo de ensaye pequeño marcado "A" y una gota de anti-B en un tubo de igual tamaño marcado como "B".
3. Añadir a cada tubo una gota de la suspensión de eritrocitos al 2%.
4. Mezclar y centrifugar a 1000 rpm durante un minuto o a 3400 rpm durante 20 segundos.
5. Agitar suavemente y observar si existe aglutinación macroscópica.
6. El suero anti-A,B (grupo O) puede usarse por el método en portaobjetos o por el método en tubo, siguiendo las mismas instrucciones que los sueros anti-A y anti-B.

Práctica 11

TIEMPO DE PROTROMBINA

Técnica:

1. Mezclar 9 partes de sangre fresca con una de citrato de sodio al 3.8%. Centrifugar la sangre 5 minutos a 5000 rpm. Retirar el plasma inmediatamente a otro tubo.
2. Invierta suavemente el frasco conteniendo tromboplastina activada una o dos veces para suspender las partículas.
3. Transfiera un tubo de CaCl_2 0.02M suficiente para el número de pruebas a efectuar. Colocar a baño maría a 37°C.
4. Añadir 0.1 ml de plasma e incubarlo 5 segundos.
5. Soplar fuertemente 0.1 ml de cloruro de calcio. Simultáneamente ponga el reloj en marcha.
6. Agite rápidamente el tubo y manténgalo en el baño 2 ó 3 segundos antes del momento de la formación del coágulo.
7. Extraiga el tubo y manténgalo cerca del baño maría. Agítelo y pare el reloj en el momento en que aglutine.

Valores Normales:

11.5 a 13.3 segundos.



Práctica 12

TIEMPO PARCIAL DE TROMBOPLASTINA

Fundamento:

Para determinar los factores que intervienen en la vía intrínseca, son el XII, XI, IX, VIII, X, V y II.

Técnica:

1. Mezclar 9 partes de sangre fresca con una de citrato de sodio al 3.8%.
2. Centrifugar la sangre 5 minutos a 5000 rpm. Retirar el plasma inmediatamente a otro tubo.
3. Invierta suavemente el frasco conteniendo tromboplastina activada una o dos veces para suspender las partículas.
4. Transfiera un tubo de CaCl_2 0.02M suficiente para el número de pruebas a efectuar. Colocar a baño maría a 37°C .
5. Añadir 0.1 ml de plasma e incubarlo 2 minutos.
6. Soplar fuertemente 0.1 ml de cloruro de calcio. Simultáneamente ponga el reloj en marcha.
7. Agite rápidamente el tubo y manténgalo en el baño 2 o 3 segundos antes del momento de la formación del coágulo.
8. Extraiga el tubo y manténgalo cerca del baño maría. Agítelo y pare el reloj en el momento en que aglutine.

Valores Normales:

45 a 65 segundos.