


# idime

Instituto de Diagnóstico Médico S.A.

**IDIME**

Instructivo: Instructivo de Montaje

Copia no controlada

	<b>IDIME</b>		<b>Código</b>	ID-ADLAB-IN-11
	<b>Proceso:</b> Apoyo Diagnóstico		<b>Fecha</b>	2020-05-28
	<b>Subproceso:</b> Laboratorio Clínico y Toma de Muestras		<b>Versión</b>	5.0
	<b>Instructivo:</b> Instructivo de Montaje			

<b>Estratégico</b>	<b>Misional</b>	<b>Apoyo Operacional</b>	<b>Evaluación</b>	<b>Gerencial</b>	<b>Asistencial</b>	<b>Apoyo</b>	<b>Atención</b>
--------------------	-----------------	--------------------------	-------------------	------------------	--------------------	--------------	-----------------

## Objetivo

Describir las actividades que se realizan en el área de montaje en el área de procesamiento Laboratorio clínico, con el fin de orientar al personal en la ejecución de las técnicas de una manera adecuada, sistematizada y estandarizada de los procedimientos técnicos que se realizan en los laboratorios utilizados en IDIME S.A.

## Desarrollo

### 2. DESARROLLO

#### 2.1. DEFINICIONES

**Bioseguridad:** Conjunto de medidas preventivas, destinadas a mantener el control de factores de riesgo laborales procedentes de agentes biológicos, físicos o químicos, logrando la prevención de impactos nocivos, asegurando que el desarrollo o producto final de dichos procedimientos no atenten contra la salud y seguridad de trabajadores de la salud, pacientes, visitantes y el medio ambiente.

**Cultivos :** Son ambientes artificiales que contienen los elementos nutritivos y las condiciones físico-químicas que permiten el desarrollo, crecimiento, conservación y estudio de los microorganismos.

**Colorante:** Se define como una sustancia capaz de dar color a células, tejidos, fibras, etc.

**Tinción o coloraciones en el laboratorio clínico:** Los microorganismos vivos se pueden observar directamente en fresco al microscopio óptico, la mayoría de las veces es necesario teñirlos para que por medio del uso de colorantes, sea mucho más fácil su identificación; además, la presencia de ciertas estructuras, así como su reacción a determinadas técnicas, nos permite clasificar microorganismos.

### 2.2 CONTROL DE CALIDAD

#### 2.2.1 CONTROL DE CALIDAD EN COPROANÁLISIS:

- El tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y la observación microscópica debe ser no mayor de dos horas para observar formas activas.
- Tener especial cuidado en la utilización de frascos adecuados y limpios.
- Efectuar el control de calidad del lugol y solución salina 0.85%, los cuales se reenvasan mensualmente. Registrar el resultado semanalmente en el formato Control de Calidad Microscopia ID-ADLAB-MN-01-F17. En caso de evidenciar deterioro o contaminación de las soluciones, se debe realizar descarte inmediato de la solución en uso y se reenvasa nuevamente en frasco limpio.
- El laboratorio deben participar en el control de calidad que le envíe el Laboratorio Central.

### **2.2.2 CONTROL DE CALIDAD EN UROANÁLISIS**

- Correlacionar de lo observado en el examen químico y microscópico
- El tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y el procesamiento de la misma debe ser idealmente no mayor de dos horas. En caso de que el tiempo sea mayor, la muestra se debe mantener en refrigeración.

### **2.2.3 CONTROL DE CALIDAD EN HEMATOLOGÍA**

- Determinar los tiempos de coloración de los frotis con colorante Wright y wright modificado siempre que se cambie el lote de colorante.
- Los laboratorios deben participar en el control de calidad externo de hematología que les envíe el Nivel Central cada año.
- La estandarización de la coloración de Romanowsky es parte del control de calidad interno y se debe realizar para garantizar coloraciones óptimas cada vez que se cambia el lote de uno de los componentes de la coloración. El control se hace con sangre negativa realizando 3 o 4 gotas gruesas. Colorearlas. Como tenemos estandarizado dejar el colorante 10 minutos validar la coloración con los siguientes tiempos: 8, 10, 12 y 14 minutos. La coloración será aquella en la cual las plaquetas se observen bien teñidas y registrar los resultados en el formato: "Control de Calidad Gota Gruesa ID-ADLAB-MN-01-F23". Para las sedes que realizan eventualmente esta coloración, deben realizar el control del calidad realizando 1 gota gruesa con sangre negativa cada vez que vayan a colorar muestras de pacientes.

### **2.2.4 CONTROL DE CALIDAD EN MICROBIOLOGÍA**

En la toma de muestra se deben controlar los siguientes aspectos:

- Tomar la muestra del sitio representativo del proceso infeccioso.
- Evitar la contaminación de la muestra.
- Coleccionar el volumen adecuado de la muestra y en el frasco apropiado.

En la coloración se deben controlar los siguientes aspectos:

- El control de calidad de los colorantes se debe realizar con cada nuevo lote.
- Tener especial cuidado con el alcohol acetona, pues de este depende que la coloración sea excesiva o débil.
- Controlar que los colorantes como la safranina o fucsina básica, no se contaminen.
- Controlar la fijación de la preparación pues el exceso de calor produce daño en la pared celular de las bacterias que pueden afectar, la retención de los colorantes.

## **2.3 COLORACIONES Y OTROS MONTAJES**

### **Manejo de los Colorantes**

Los colorantes deben ser reenvasados para ser manejados con mayor facilidad y evitar la contaminación de los frascos originales por la manipulación, para esta actividad se deben utilizar frascos plásticos de boca angosta. Ver ID-CAALM-IN-04 Instructivo Marcación de Envases.

La filtración del colorante de Gram se debe realizar cada tercer día (para sede Lago este proceso se debe realizar a diario) para evitar que este se precipite en forma de grumos o se contamine, y se debe registrar esta información en el formato ID-ADLAB-F182 Registro Filtración Colorantes. Los colorantes para Baciloscopia se deben filtrar a diario y registrar en el mismo formato.

Las láminas de control de calidad que requieren algunas coloraciones, se deben montar siempre que exista una muestra que requiera la coloración. Si se realizan coloraciones varias veces al día y las realizan auxiliares diferentes, el auxiliar debe montar lámina de control de calidad por las coloraciones que realice.

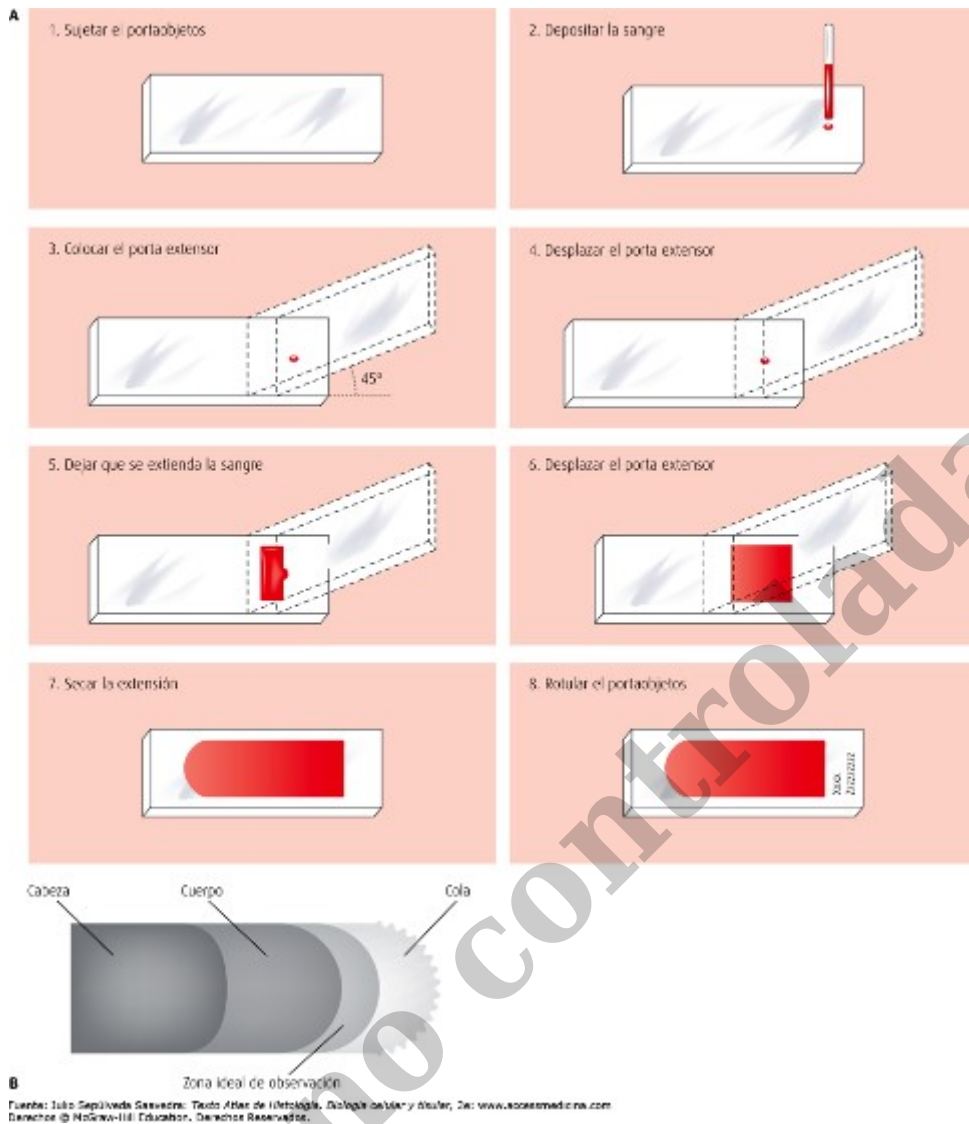
### 2.4.1 Sección Hematología

El procedimiento comienza al recibir por parte del bacteriólogo la relación de los códigos de la muestra de sangre de los que requiere realizar los extendidos de sangre periférica u otros procedimientos.

#### 2.4.1.1 Coloración de WRIGHT ( Aplica para FSP, y Chagas fase aguda)

Técnica estándar:

- Ordenar las muestras de acuerdo al listado que le hayan suministrado por número consecutivo del día o días anteriores, al igual que las láminas, las cuales deben ser nuevas, verificar su condición que no presente residuos de grasa, rayones o roturas.
- Rotule la lámina con lápiz punta de diamante en la parte inferior con el número del sistema del laboratorio que le corresponda.
- Se coloca una gota de sangre sobre la lámina.
- Se toma la lámina extensora.
- Realizar los extendidos no muy gruesos ni muy delgados que tengan cabeza cuerpo y cola o pluma.
- Dejar secar el extendido.
- Las preparaciones secas se colocan con el extendido hacia arriba sobre soportes de coloración.
- Se cubre la lámina con un colorante Wright.
- Se agrega el buffer cubriendo toda la lámina.
- Se mezcla soplando con una pipeta hasta que salga la escarcha metálica.
- Dejar actuar durante 5 minutos.
- Lavar con agua de chorro.
- Limpiar el colorante que queda por detrás de la lámina, con ayuda de una toalla absorbente.
- Dejar secar en posición vertical.
- Pasar en soporte de láminas al área de hematología para su respectiva lectura.



Resultados:

Coloración apta:

- Extendido color rosado con eritrocitos del mismo color.
- Núcleo de los Leucocitos de color azul púrpura.
- Área entre las células claras.
- No debe haber colorante precipitado.

Coloración no apta:

- Extendido Azul: Frotis muy grueso, lavado insuficiente, tiempo de coloración prolongado, alcalinidad en el colorante.
- Extendido Rojo: Exceso de acidez en el colorante o buffer, escaso colorante, tiempo de lavado prolongado, tiempo de coloración insuficiente.
- Precipitados: Colorante no filtrado, lámina sucia, frotis al que le ha caído polvo.

Técnica manual por inmersión:

- Llenar recipientes con cada uno de los reactivos, colorante y buffer respectivamente hasta cubrir en su totalidad las láminas.
- Previo extendido de sangre periférica dejar secar completamente, montar los frotis en las canastillas de forma horizontal.

- Sumergir completamente la canastilla en forma rápida cubriendo toda la lamina y sin mover el colorante para evitar variaciones de coloración en algunas partes del extendido.
- Contabilizar inmediatamente 4 minutos exactos con el cronometro o temporizador ver [INSTRUCTIVO MANEJO DE TEMPORIZADOR](#) y tapar la caja De coloración.
- Pasado los cuatro minutos sacar inmediatamente la canastilla, escurrir colorante en una toalla no dejar que pase mas de 5 segundos y sumergir en el buffer, contabilizar 3 minutos exactos con el cronometro o temporizador ver [INSTRUCTIVO MANEJO DE TEMPORIZADOR](#).
- Después del contacto con el buffer secar sin invertir la canastilla en una toalla de papel.
- Inmediatamente colocar las láminas en posición vertical ideal para el secado.

#### 2.4.1.2 Eritrosedimentacion ó Velocidad de Sedimentación Globular (VSG)

Se trata de la velocidad medida en mm/ hora con que caen los glóbulos rojos durante un tiempo estándar de la hora, los materiales requeridos son: Tubos Wintrobe, Agujas de Wintrobe o Pipetas Pasteur, Jeringas, Gradillas de Wintrobe para VSG.

Método:

- Con la aguja de Wintrobe y una jeringa seca tome del tubo tapa lila una porción de sangre y llene el tubo de Wintrobe, hasta la marca cero (no deben quedar burbujas en el tubo).
- Ponga el tubo en la gradilla de Wintrobe en posición perfectamente vertical.
- Ponga en marcha su reloj el cronómetro o temporizador ver [INSTRUCTIVO MANEJO DE TEMPORIZADOR](#).
- Pasada una hora lea la VSG y pase el dato a la sección de hematología.

#### 2.4.1.3 Recuento de Reticulocitos

Al realizar una coloración supravital de los hematíes, con azul de cresilo brillante o azul de metileno nuevo, se pueden observar gránulos o filamentos azules que presenta estos glóbulos rojos y representan restos de RNA precipitado (Reticulocito).

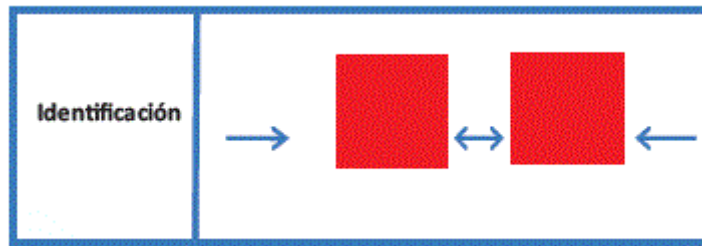
Los materiales requeridos son: Tubos de ensayo, lámina portaobjeto, baño serológico, pipeta, azul de cresil brillante o azul de metileno nuevo.

Método:

- Colocar 2 o 3 gotas de sangre en el tubo, mezclarlas con 2 o 3 gotas de azul de metileno o azul de cresil de manera que la mezcla tome un color uva.
- Llevar a incubar a 37°C durante 10 minutos. Realizar los extendidos poniendo una gota pequeña de la preparación con un tubo capilar sobre la lámina.
- Dejar secar los extendidos a temperatura ambiente.
- Pasar láminas a la sección de hematología para lectura.

#### 2.12.1.4 Gota Gruesa - Coloración de Romanowsky modificada ( Aplica para Hemoparasitos y Chagas fase aguda)

Las laminas de gota gruesa siempre deberan ser tomadas en el area de toma de muestra ya que el extendido de la muestra sobre la lamina se realiza directamente de la gota de sangre obtenida por punción de dedo medio o índice de la mano no dominante. Niños: lóbulo de la oreja, talón o grueso artejo de pies. Ver Instructivo de Toma de muestras numeral 3.2.3



Antes de proceder a la coloración de la gota gruesa es necesario alistar los siguientes materiales

- Lámina cóncava
- Tubos con tapa
- Papel absorbente
- Soporte para coloración
- Jeringa desechable sin aguja para medir 3 mL de sales fosfatadas según necesidad
- Solución A y solución B
- Sales fosfatadas
- Azul de metileno fosfatado
- Temporizador

#### Procedimiento de la coloración

*Pre coloración:* Este paso preserva las células sanguíneas e inicia el proceso de deshemoglobinnización.

Cubrir la lámina con azul de metileno fosfatado por un tiempo no mayor de 3 segundos, luego escurrir la lámina y retirar el exceso de azul de metileno escurriendo en un papel absorbente.

*Enjuague:* Sirva en un vaso de boca ancha una cantidad de solución de sales fosfatadas, realice un enjuague por inmersión de la lámina durante un segundo, escurra en un papel absorbente sin que el papel toque la muestra y coloque la lámina en la lámina cóncava con la muestra hacia la concavidad mientras prepara la solución de coloración.

*Coloración:* En este proceso se completa la deshemoglobinnización y se llega a la diferenciación de las estructuras parasitarias

- Preparar en un tubo la mezcla colorante inmediatamente antes de colorear la gota gruesa midiendo con la jeringa desechable sin aguja 3 mL de solución de sales fosfatadas y adicionando una gota de solución A y una gota de solución B (en su orden) tape el tubo y mezcle por inversión suavemente.
- Colocar las muestras invertidas (con la muestra hacia abajo) en una lámina cóncava. La posición invertida de la gota gruesa se prefiere ya que permite la deshemoglobinnización completa y evita la fijación de precipitados en la lámina
- Agregar la mezcla de colorante evitando que se formen burbujas.
- Dejar la lámina en contacto con la mezcla colorante durante 10 minutos.
- Retire las láminas de la lámina cóncava sin realizar lavado.
- Enjuagar el reverso de la lámina evitando que el agua toque la muestra
- Deje escurrir directamente en posición inclinada y Deje secar.

- Pasar a la sección de hematología para su respectiva lectura.

### **Cuidados en la coloración:**

- Filtre los colorantes cada vez que se vaya a realizar la coloración
- El azul de metileno fosfatado debe estar almacenado en un recipiente protegido de la luz.
- Se deben utilizar goteros que dispensen gotas del mismo tamaño
- Siempre lave la lámina cóncava después de su uso.

#### **2.4.1.5 Células L.E**

Las células L.E. son polimorfonucleares que han fagocitado material nuclear alterado proveniente de la destrucción del núcleo de otros leucocitos por el llamado factor L.E. factor nuclear.

##### Método:

- Extraer 5cc de sangre y dejarla coagular durante 2 horas a 37°C.
- Centrifugar 10 minutos a 3500 rpm
- Se macera el coágulo contra el tamiz o en el colador, recogiendo el producto resultante en un vaso de precipitado, caja de petri o cualquier recipiente limpio.
- Llenar mediante pipeta Pasteur un tubo de Wintrobe con el hemolizado obtenido de la destrucción del coágulo.
- Centrifugar durante 30 minutos a 5000 rpm.
- Eliminar el sobrenadante y recoger con una pipeta Pasteur los leucocitos situados en la interfase suero/hematíes.
- Efectuar dos extendidos con ese material
- Teñir con el método Wright, dejar secar y pasar a la sección de hematología

#### **2.4.1.6 Lavado de tarjetas pruebas semicuantitativas.**

Para las tarjetas de montaje de PCR, ASTOS (ANTIESTREPTOLISINAS) Y RF (FACTOR REUMATOIDEO) semicuantitativos se realiza lavado con Amonio cuaternario al 40 % (2 ml amonio cuaternario y 998 ml de agua) sumergiéndolas por 1 minuto, posteriormente se realiza lavado a chorro con agua por 1 minuto y se limpia con una toalla absorbente, dejando secar a temperatura ambiente por 15 minutos. Este proceso se realiza máximo 3 veces por tarjeta de montaje.

### **2.4.2 Sección Microbiología y Microscopia**

#### **2.4.2.1 Coloración de Ziehl Neelsen para bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR)**

##### **Para Diagnóstico de TBC**

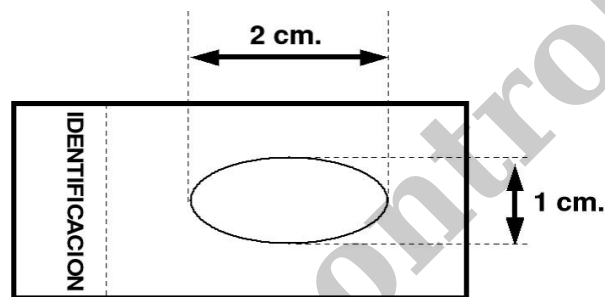
Disponer de los elementos de bioseguridad necesarios tales como bata, gorro, guantes, monogafas y tapabocas N95, al igual que disponer de los reactivos como: Fucsina Fenicada, Solución decolorante alcohol – ácido, Colorante de contraste azul de metileno.

Las baciloscopias a montar, no deben estar expuestas, por mucho tiempo a la luz directa, ya que

esto puede afectar la viabilidad de las bacterias que se pretenden visualizar.

### Realización de la lámina:

1. Utilizar todos los elementos de bioseguridad: gorro, guantes, tapabocas con filtro N95, gafas y bata.
2. Procesar la muestra en cámara de Bioseguridad. En caso de no contar con cámara de bioseguridad, procesar las muestras frente a un mechero.
3. Utilizar láminas nuevas, sin marcas y desengrasadas.
4. Realizar con lápiz punta de diamante la identificación de la lámina, diligenciando número interno de registro del paciente, tipo de muestra y calidad de la misma en caso de ser esputo.
5. Partir un bajalenguas o escobillón y con la parte astillada tomar la partícula útil. Es decir, la parte más purulenta o con sangre.
6. Extender la muestra uniformemente sin tocar el borde de la lámina, realizando un extendido en forma ovalada con dimensiones de 2 cm x 1 cm.



7. No trabajar con más de 6 muestras en cada serie, mantener el orden de las láminas y envases según su numeración de izquierda a derecha y procesar las muestras individualmente. No procesar el siguiente envase antes de cerrar el anterior.

8. Luego de realizadas las láminas, dejar secar a temperatura ambiente.

9. Fijar con calor y colorear los extendidos por medio de la Coloración de Zielh Neelsen. Los tiempos de coloración deben ser los siguientes:

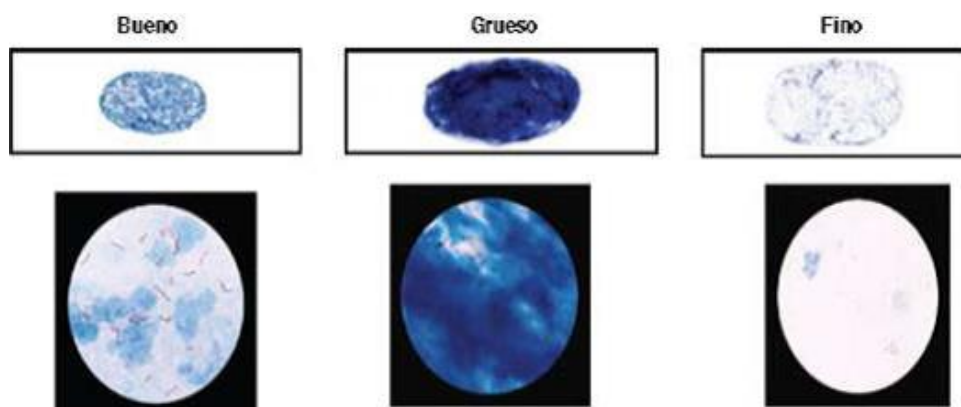
Cubrir las láminas completamente con fucsina fenicada durante 5 minutos, calentando 3 veces hasta la emisión de vapores, sin hervir. Lavar con agua

Decolorar con alcohol ácido por 3 minutos o hasta lograr decoloración completa de la muestra.

Lavar con agua.

Realizar la coloración de contraste con azul de metileno durante un minuto y lavar con agua.

Dejar secar la lámina a temperatura ambiente. **No olvidar que los colorantes deben ser filtrados diariamente.**



### Control de calidad de la coloración

Para la realización de los controles de calidad de la coloración, se deben utilizar muestras positivas y negativas inactivadas con 10 gotas de hipoclorito al 2,5% durante por lo menos media hora, para preparar con ellas extendidos que puedan ser utilizados hasta por dos meses. Colocar el control positivo y negativo en la misma lámina. El control se debe realizar diariamente. Controlar la calidad de cada nuevo lote de colorantes.

Por otro lado, con el fin de llevar control de todos los pacientes, las baciloscopias y cultivos realizados, se llevará en cada sede el libro de registro de baciloscopias y cultivos socializado por el instituto nacional de salud o cada laboratorio de salud pública.

La Bacterióloga de la sección registra los resultados.

### **Para diagnóstico de Lepra**

Para hacer baciloscopia para estudio de Lepra, la lámina debe ser montada durante la toma de la muestra, antes de colorearla, fijela, pasandola rápidamente sobre la llama del mechero en tres oportunidades. Ver instructivo de Microbiología

#### Coloración

- Cubrir las láminas completamente con fucsina fenicada durante 10 minutos, calentando 5 veces hasta la emisión
- Lavar con agua.
- Dejar enfriar por cinco minutos
- Alcohol ácido por 1 minuto o hasta que la lámina decolore completamente.
- Lavar con agua.
- Realizar la coloración de contraste con azul de metileno durante 10 minutos
- Lavar con agua
- Dejar secar la lámina a temperatura ambiente

**No olvidar que los colorantes deben ser filtrados diariamente.**

#### **2.4.2.2 Tinción de Ziehl Neelsen Modificado**

- Cubrir totalmente las extensiones fijadas con fucsina fenicada de Ziehl Neelsen.
- Dejar actuar el colorante durante 8 minutos.
- Verter el colorante y lavar con agua de chorro.
- Decolorar con alcohol ácido durante 5 minutos, hasta que no aparezcan nubes rojas de colorante.
- Lavar con agua de chorro.
- Teñir con solución de azul de metileno durante 5 minutos.
- Lavar con agua de chorro y dejar secar al aire.
- Recoger el residuo de la fucsina fenicada en un galón, rotular con fecha de inicio, para su posterior recolección por la empresa encargada, de recoger este tipo de residuos.

#### **2.4.2.3 Coloración de GRAM**

Reactivos: Violeta cristal (violeta de cristal, contenido de colorante 90 % y alcohol metílico absoluto), Yodo (Cristales de yodo, yoduro de potasio y agua destilada), Solución decolorante (acetona y alcohol etílico al 95 %), Colorante de contraste (Fucsina de Gram). Los colorantes deben ser filtrados cada tercer día.

#### Método:

- Fijar el material sobre el portaobjeto por calor, dejar enfriar el portaobjeto antes de colorear.
- Cubrir el portaobjetos con cristal violeta y dejar en contacto sin que se seque durante 1 minuto

- Enjuagar el portaobjetos con agua corriente y sacudir el exceso.
- Cubrir la lámina con lugol de gram durante 1 minuto.
- Enjuagar el portaobjetos con agua corriente.
- Cubrir el portaobjetos con la solución decolorante durante 30 segundos.
- Enjuagar inmediatamente con agua corriente. Repetir este procedimiento hasta que el decolorante no arrastre más colorante. Los preparados gruesos requieren una coloración más energética. Enjuagar con agua y retirar el exceso.
- Cubrir el portaobjetos con el colorante de contraste o fucsina de gram y dejar en contacto durante 30 segundos sin que se seque, enjuagar con agua corriente; secar suavemente con papel absorbente la parte posterior de la lamina y secar al aire. Para muestras mas delicadas como líquidos del organismo, el secado al aire es mas seguro.
- Recoger el residuo del ultimo paso de la coloración en un galón, rotular con fecha de inicio, para su posterior recolección por la empresa encargada.
- Pasar al área de microbiología para su lectura.

#### Control de calidad de la coloración:

Se monta un control de gram positivos con cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* 29213 en un extremo de la lámina, un control de gram negativos con cepas ATCC de *Escherichia coli* 25922 en el otro extremo de la lámina, y una mezcla de ambos en el centro de la lámina. Se colorean cada vez que se monten coloraciones de gram.

El bacteriólogo de la sección registra los resultados en el formato correspondiente.

## **2.5 Manejo y Montaje de Muestras Urinarias**

### **2.5.1 Montaje de muestras urinarias para Uroanálisis**

Para las sedes en las que se procese la química del uroanálisis de manera automatizada y la parte microscópica con el sistema kovac, se debe sacar listado de muestras del sistema de laboratorio. Las muestras se sirven de acuerdo al orden del listado y manualmente se incluyen las nuevas muestras y pendientes.

En las sedes donde el procesamiento químico y microscópico se realiza de forma automatizada no es necesario sacar el listado del sistema.

#### Método:

- En cualquier caso las muestras se deben organizar numéricamente y deben estar previamente verificadas, por el sistema automatizado de distribución de muestras.
- Rotular los tubos con su respectivo número de laboratorio: Etiquetas de códigos de barra si el proceso químico y microscópico es automatizado de lo contrario rotule manualmente.
- Mezclar las muestras antes de servir las.
- Servir las muestras en los tubos.
- Colocar todos los tubos con las muestras de orina en una gradilla.
- En el caso de las sedes donde se realiza lectura microscópica manual se deben centrifugar las muestras por 10 minutos a 2500 RPM. Una vez centrifugadas, se elimina el sobrenadante y colocan las chupas de Kovac. Organice las muestras en la gradilla nuevamente.
- Entregar las muestras a la sección de microscopía para que se realice el procesamiento respectivo. Pasar el listado en el caso de las muestras que se leen bajo el microscopio.
- Tenga en cuenta las muestras que tengan adicional al parcial de orina u otro examen en muestra de orina parcial una prueba de urocultivo, para pasarla al área de microbiología.
- Las muestras de microscopía (orina, esputo, flujo vaginal, materia fecal) serán descartadas al

final del día una vez el bacteriólogo de la sección ha confirmado con su lista de trabajo que todo esta procesado.

### **2.5.2 Montaje y contramuestra de Orinas de 24 horas**

- Verificar la identificación de la muestra, revisando la etiqueta de código de barras que debe encontrarse adherirse al recipiente que contiene la orina, para de esta manera sacar una nueva etiqueta con el numero de laboratorio asignado para rotular las alícuotas.
- Medir con ayuda de un elemento volumetrico o bureta, el volumen total de orina contenido en el galón y registrar este valor en el formato ID-ADLAB-F68 Registro de medición para orina y KTV.
- Marcar con etiqueta de código de barras los tubos de polipropileno que se requieran, esto depende del examen que se vaya a realizar con la muestra, mínimo se deben alicuotar dos tubos. Tenga en cuenta que se debe dejar una contramuestra en el laboratorio, diferente a la que se va a procesar.
- Una vez se tengan las alícuotas se pasan al área de distribución de muestras.

### **2.5.3 Separación de muestras de orina parcial**

Existen otros exámenes que se realizan sobre orinas parciales y deben ser alicuotadas para su procesamiento (Microalbuminurias, electrolitos). Para esto, marcar con etiqueta de código de barras dos tubos de polipropileno. Tenga en cuenta que se debe dejar una contramuestra en el laboratorio, diferente a la que se va a procesar. Una vez se tengan las alícuotas se pasan al área de distribución de muestras.

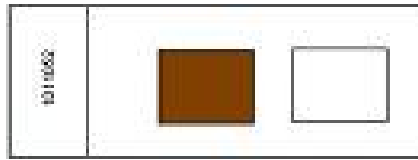
### **2.5.5 Montaje de recuento minutado de hamburguer y recuento de Addis**

- Medir la muestra de orina total y alicuotar 2 tubos debidamente rotulada. Anotar el volumen de la muestra
- Sirva la muestra en dos tubos de orina para centrifugar.
- Centrifugue los dos tubos por 10 minutos a 2500 RPM.
- Pasar el sedimento a la sección, para lectura.

## **2.6 Manejo y Montaje Muestras de Materia Fecal**

### **2.6.1 Coprológicos**

- Este examen incluye la descripción macroscópica ver ID-ADLAB-GU-15 Guía de Actividades Sección Microscopia.
- En una lámina portaobjeto previamente marcada con el número de ingreso del paciente, colocar una gota de solución salina y una gota de lugol.
- En cada una de las soluciones mezclamos aproximadamente 1 gramo de materia fecal, obteniendo una mezcla homogénea.
- Colocar una laminilla en cada preparación.
- Colocar la lámina en cámara húmeda (En una bandeja, colocar toallas desechables humedecidas con agua, encima de estas colocamos las láminas. Si la lectura no se va a realizar en seguida se cubre la bandeja con otra para evitar que se sequen los montajes).
- Pasar los montajes al área de microscopía para su respectiva lectura.



## 2.6.2 Montaje de coprológicos por concentración:

### Método de concentración por sedimentación Ritchie

El formol fija y conserva los parásitos. La concentración se hace por centrifugaciones sucesivas. Una de las ventajas que tiene este método es concentrar y no deformar las formas parasitarias, permite el transporte y almacenamiento de la materia fecal procesada antes de ser examinada, se usa cuando se necesita una técnica para evaluación de tratamiento y determinación de frecuencia.

### Material y equipo:

#### Centrífuga

Tubos de ensayo cónicos de 15 ml (o de KOVA)

Gasa cortada en cuadros de 15 cm por lado

Frascos para recolección de muestra (aprox. 50ml)

Aplicadores de madera

Pipetas Pasteur con bulbo

Portaobjetos de 26 X 76 mm

Cubreobjetos de 22 X 22 mm

Solución salina isotónica

Solución de formol al 10%

Eter

### Método

- Homogenizar 1 gr de Materia Fecal en solución salina en una relación 1/10; si la consistencia de la materia fecal es líquida, no es necesario emplear solución salina.
- Filtrar suspensión por embudo usando triple gasa en tubo cónico de 15 ml.
- Centrifugar 1 minuto a 2300 rpm.
- Descartar sobrenadante y re suspender sedimento con 5 ml de solución salina y agitar hasta homogenizar.
- Realizar el paso anterior, las veces que sea necesario hasta obtener un sobrenadante límpido. Descartar el sobrenadante.
- Agregar al sedimento obtenido de 3-5 ml de formol al 10%, homogenizando la suspensión.
- Dejar reposar 5 minutos.
- En cabina de bioseguridad (o extracción) agregar 3 ml de éter o acetato de etilo y agitar vigorosamente.
- Centrifugar durante 2 minutos a 1500 rpm.
- Luego de la centrifugación se deben obtener 4 capas:
  - 
  - Éter en la superficie
  - Restos de grasas y vegetales
  - Formol
  - Sedimento en el fondo del tubo
  -
- Con pipeta pasteur tomar el sedimento y montar en portaobjetos.

- Agregar una gota de lugol parasitario y colocar cubreobjetos homogenizando con un ángulo de la laminilla
- Observar en microscopio a 10X y 40X



Las muestras de microscopia (orina, esputo, flujo vaginal, materia fecal) seran descartadas al final del día una vez el bacteriólogo de la sección ha confirmado con su lista de trabajo que todo esté procesado.

### 2.6.3 Montaje de Coproscópicos

Esta conformado por el estudio coprológico y adicional a esto incluye parámetros químicos como el pH, los Azúcares Reductores y la Sangre oculta.

#### 2.6.3.1 Azúcares reductores:

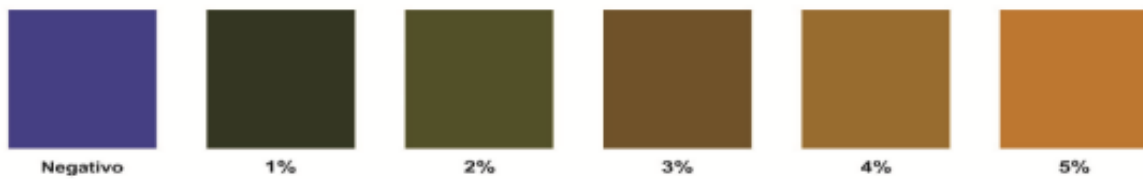
Dentro de los procesos fermentativos de los seres humanos existe la generación de Glucosa, el azúcar reductor más abundante en el organismo; su concentración presente en los diversos fluidos biológicos está directamente relacionada con el eficiente o deficiente funcionamiento de los mecanismos de regulación de los individuos. Metabolismos sanos producen regulación adecuada de la glucosa, sin embargo personas que padecen Diabetes tipo Mellitus suelen liberar grandes cantidades de glucosa a su torrente sanguíneo por ello es generalmente considerado como el azúcar reductor marcador de gran interés en reacciones de Glucosilacion no enzimática. Las sustancias reductoras como los azucars (glucosa, lactosa, manosa, galactosa, maltosa) presentes en una muestra biológica o no biológica, oxidan las sales de cobre componentes de la mezcla solida (TRS) formando un complejo coloreado que va desde las tonalidades azules en casos negativos (ausencia de azúcar) hasta anaranjados (presencia de alto contenido de azúcar), generalmente superiores a 5%. La presencia de sustancias proteínicas, carbohidratos entre otras sustancias orgánicas que se encuentren presentes en la matriz de evaluación, reaccionan con la mezcla reductora generando calor y la formación de dióxido de carbono, por lo cual se aprecia efervescencia y ebullición durante el ensayo.

Para la determinación de este parametro se pueden usar dos tecnicas:

#### Tableta o polvo reactivo:

1. Disponga en un tubo de ensayo un (1) ml de la muestra a analizar pura o diluida con agua destilada sin centrifugar, agite para conservar homogeneidad. 2. Adicione la totalidad del contenido del vial de la mezcla de reductor (TRS) o la pastilla al tubo de ensayo con la muestra. 3. Permita que la reacción se complete, (note efervescencia y calor de la reacción) 4. Al finalizar la reacción coloque el tubo sobre la gradilla para identificar el color, (la lectura es estable y permanece aún 5 minutos después de finalizada). 5. Compare con la tabla de color. Cualquier color distinto de color azul se considera positivo (+). El color varía dependiendo la cantidad de azúcar presente en las

heces y puede variar desde color verde hasta un rojo ladrillo.



**Método de Benedict:** Los azúcares existentes en materia fecal reducen el sulfato cúprico, de color azul, de la solución de benedict, a óxido rojo que es insoluble.

- Pipetear 2 ml de reactivo de benedict en un tubo de ensayo
- Agregue una porción de materia fecal (1 gramo) y mezcle completamente con el reactivo de benedict
- Caliente durante un minuto en mechero (haciendo uso de un tubo termo resistente) o en el baño serológico a 100 °C durante 3 minutos (verificar la temperatura máxima del baño serológico de cada sede)
- Dejar enfriar
- Examinar la mezcla para verificar si existen cambios de color o precipitados.
- Para la interpretación de los resultados tenga en cuenta el cambio de color de la mezcla elaborada:

COLOR	RESULTADO	CONCENTRACION mol/L
Azul	Negativo	0
Verde	trazas	14
Verde con precipitado amarillo	+	28
Amarillo a verde oscuro	++	56
Castaño	+++	83
Rojo	++++	111 o mas

Tenga en cuenta que para el reporte en el sistema del laboratorio solo se informa el resultado, no la concentración.

**2.6.3.2 pH:** En papel indicador de pH, aplicamos un poco de materia fecal y leemos contra la tabla de colores que se encuentra en la caja del papel indicador de pH.

### 2.6.3.3 Montaje para detección de sangre oculta en heces por RightSign

La prueba rápida de FOB en cassette (heces) es una prueba de inmuno ensayo cromatográfico para la detección cualitativa de sangre humana oculta en heces.

#### Principio

La membrana es precubierta con un anticuerpo anti hemoglobina en la banda de la región de la prueba. Durante la prueba, el espécimen reacciona con partículas cubiertas con anticuerpo-hemoglobina, la mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el anticuerpo de la prueba y generar una línea coloreada. La presencia de una

línea coloreada en la banda de la región prueba indica un resultado positivo mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

### Almacenamiento y estabilidad

El kit puede ser almacenado a temperatura ambiente o refrigerado (2-30°C).

### Materiales

- Cassettes
- Tubos colectores de espécimen con bufer de extracción

1. Desenrosque la tapa del frasco recolector de la muestra, luego pinche aleatoriamente el aplicador de colección de muestra dentro de la muestra fecal por lo menos en 3 diferentes sitios. No sacar por adiciones la muestra fecal.

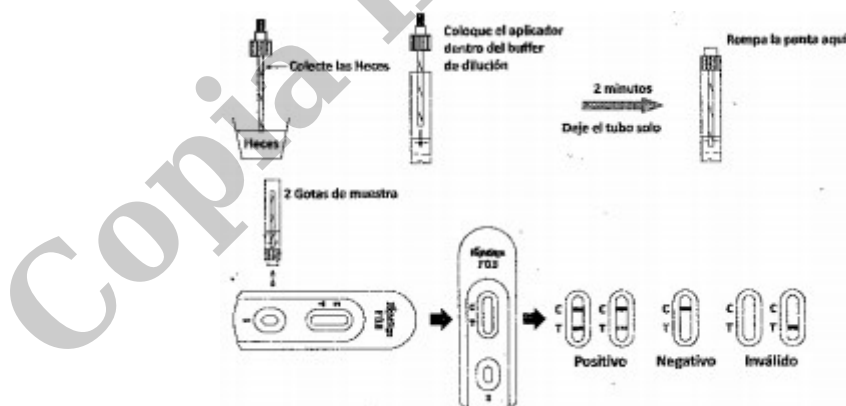
Enrosque la tapa y asegúrela sobre el tubo de colección de muestra, luego agite el tubo de colección de muestra vigorosamente para mezclar la muestra y la extracción del buffer.

2. Las muestras preparadas en el tubo de colección de muestras pueden ser almacenadas por 6 meses a -20° C si no se ejecuta dentro de 1 hora después de la preparación.

3. Retire el cassette de la prueba de la bolsa de aluminio y utilicela tan pronto sea posible.

4. Mantenga el tubo colector de la muestra hacia arriba y abra la tapa del tubo colector de la muestra. Invierta el tubo colector de colector de muestra y transfiera 2 gotas llenas de la muestra extraída al pozo (S) del cassette de la prueba.

5. Lea los resultados en 5 minutos. no resultados después de 10 minutos.



### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

**POSITIVOS:** Dos líneas coloreadas aparecen. Una línea debe estar en la banda de región de control (C) y otra línea debe estar en la banda de la región de la prueba (T).

**Nota:** La intensidad de color de la banda de la región de la prueba (T) puede variar dependiendo de la concentración de la sangre oculta fecal presente en el espécimen. Por lo tanto cualquier tonalidad del color en la región de la prueba (T) debe ser considerado positivo.

**NEGATIVO:** Una línea coloreada aparece en la banda de control de la región (C). Ningún color aparente aparece en la banda de la región de la prueba (T).

**No válido:** La línea de control no aparece. Volumen insuficiente del espécimen o técnicas procesales incorrectas son las razones más frecuentes para que el control de la línea no aparezca. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.

## CONTROL DE CALIDAD

El proceso de control de calidad está incluido en la prueba. Una línea coloreada que aparece en la banda de la región de control (C) es considerada un procedimiento de control interno. Confirma el uso de volumen suficiente de espécimen, y una adecuada reacción de la membrana y técnicas procesales correctas.

### 2.6.3.4 Determinación de grasas en materia fecal - Esteatorrea

Los reactivos utilizados son Etanol, Sudán III y Ácido acético que están listos para usar, almacenar a temperatura ambiente 15-25 °C. Los reactivos son estables por 8 meses almacenados a la temperatura recomendada (Ver fecha de expiración en los respectivos rótulos).

Procedimiento A: Determinación de grasas neutras

- En un tubo de ensayo dispensar 10 gotas de etanol y 10 gotas de Sudán III. Mezclar por agitación.
- Adicionar aproximadamente 1 gramo de materia fecal y mezclar bien hasta homogenizar
- Dispensar 2 ó 3 gotas de sobrenadante en una lámina portaobjetos y cubrir con una laminilla
- Pasar al área de microscopía para que el profesional lea el examen.

Procedimiento B: Determinación de ácidos grasos

- En un tubo de ensayo dispensar 10 gotas de ácido acético y 10 gotas de Sudán III. Mezclar por agitación
- Adicionar aproximadamente un gramo de materia fecal y mezclar bien hasta homogeneizar
- Dispensar 2 ó 3 gotas del sobrenadante en una lámina portaobjetos y cubrir con una laminilla
- Calentar la preparación varias veces sobre la llama hasta que se obtenga una ligera ebullición
- Pasar al área de Microscopía inmediatamente para que el profesional lea en el microscopio mientras todavía la preparación esté caliente.
- Las muestras de microscopía (orina, esputo, flujo vaginal, materia fecal) serán descartadas al final del día una vez el bacteriólogo de la sección ha confirmado con su lista de trabajo que todo esté procesado.

## 2.7 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Manual Garantía de Calidad en Química Clínica y Hematología del Instituto Nacional de Salud. Bogotá 1998
- Conductas Básicas en Bioseguridad: Manejo integral. Protocolo básico para el equipo de Salud del Ministerio de Salud. Bogotá, Abril de 1997
- Decreto 2676 de 2000 y 2763 de 2001 del Ministerio de Salud y Ministerio del Medio Ambiente. Por el cual se reglamenta la gestión integral de los residuos hospitalarios y similares.
- Plan de manejo seguro de los residuos a nivel de instituciones prestadoras de servicios de salud. Subdirección de Ambiente y Salud, Programa de Riesgos Físicos del Ministerio de Salud.

Bogotá, Junio de 1997

- Química Clínica: Teoría, Análisis y Correlación. Lawrence A. Kaplan. Pesca Kaplan publicaciones. Nueva York. 2001
- Instituto Nacional De Salud "INS". 2011. *Manual para envío de muestras para análisis de eventos de interés en Salud Pública*. Bogotá : INS, 2011
- Fichas técnicas de productos de limpieza y desinfección ( Extran, Amonio cuaternario, Desinfectante a base de Amonio Cuaternario)

Copia no controlada