



Manual de Procedimientos de Parasitología

MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825
Versión 01

Caja Costarricense de Seguro Social
Gerencia Médica
Dirección de Desarrollo de Servicios de Salud

2025



*Elaborado
por:*


Dra. Ana Lorena Torres Rosales, Coordinadora Nacional de Laboratorios Clínicos
Dra. Sileny Luna Vega, especialista - jefe de división Parasitología, Hospital México
Dra. Guiselle Miranda Jiménez, especialista - jefe de división Parasitología, Hospital San Rafael de Alajuela
Dra. Tatiana Moya Moya, especialista - jefe de división Parasitología, Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera
Dra. Tatiana Cedeño Cascante, especialista - jefe de división Parasitología, Hospital Nacional de Niños Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia

Validado por:

Dr. Marvin Víquez Otárola, Director de Laboratorio Clínico Área de Salud Heredia Virilla.
Dra. Blanca Gallegos Carrillo, Directora de Laboratorio Clínico Área de Salud Cariari.
Dr. Oscar Roberto Quesada Pacheco, Director de Laboratorio Clínico Hospital San Rafael de Alajuela.
Dr. Gerald Montiel Ulloa, Director de Laboratorio Clínico Área de Salud Horquetas-Río Frío.
Dr. Luis Diego Ramírez Fallas, MQC analista Hospital San Francisco de Asís.
Dr. Elisandro Jiménez Cruz, Director de Laboratorio Clínico Área de Salud Carrillo.
Dra. Gendry Díaz Angulo, Directora de Laboratorio Clínico Hospital de La Anexión.
Dr. Víctor Hugo Alvarado Marín, Supervisor Regional en Microbiología, Dirección de Red Integrada para la Prestación de Servicios de Salud Central Norte.
Dr. Edwin Cáceres Beteta, MQC encargado de Parasitología Hospital William Allen Taylor.
Dr. Sergio García Ugalde, Director de Laboratorio Clínico Área de Salud Jicaral Islas.
Dra. Mónica Isolina Henríquez García, Supervisor Regional en Microbiología, Dirección de Red Integrada para la Prestación de Servicios de Salud Central Sur.
Dra. Vivian Pérez Rodríguez, Directora de Laboratorio Clínico Área de Salud Corralillo.
Dr. Alexander Gómez Sáenz, Director de Laboratorio Clínico Hospital Los Chiles.
Dr. Francisco Andrés Báez Astúa, Supervisor Regional en Microbiología, Dirección de Red Integrada para la Prestación de Servicios de Salud Chorotega.
Dra. Jenny Cascante Villegas, Directora de Laboratorio Clínico Área de Salud Poás.
Dr. Cesar Cerdas Quesada, Director de Laboratorio Clínico Hospital de Guápiles.
Dra. Lisbeth Soto Alvarado, MQC encargada de Química Clínica y Parasitología Hospital San Vicente de Paul.
Dr. Johnny Andrés Villalobos Fernández, MQC analista Bacteriología Área de Salud Tibás-Uruca-Merced.



Aprobado por:	Dr. Pedro de Jesús Carrillo Dover, Director de Laboratorio Clínico Hospital Monseñor Sanabria Martínez.
	Dr. Mario Mora Ulloa, jefe Área de Regulación y Sistematización de Diagnóstico y Tratamiento Dra. Ana Jéssica Navarro Ramírez, directora Dirección de Desarrollo de Servicios de Salud
	Avalado por: Dr. Alexander Sánchez Cabo, Gerente Médico
	Fecha revisión y aprobación: 2025
	Próxima revisión: 2029
Observaciones	La reproducción gratuita de este material con fines educativos y sin fines de lucro es permitida, siempre y cuando se respete la propiedad intelectual del documento. No se permitirá la reproducción comercial del producto sin la autorización de la CCSS y la Dirección de Desarrollo de Servicios de Salud.


	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 4 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

Índice

1. Introducción	8
2. Definiciones, abreviaturas y símbolos	9
2.1. Definiciones	9
2.2. Abreviaturas	11
2.3. Símbolos	11
3. Referencias normativas	12
4. Alcance	12
5. Objetivo General	12
6. Metodología	13
7. Responsable del cumplimiento	13
8. Responsable de verificar el cumplimiento	13
9. Contenido	13
9.1. Examen al fresco o examen directo (solución salina y lugol).	15
9.2. Técnica de Kato.	18
9.3. Determinación de calprotectina fecal semicuantitativa.	19
9.4. Determinación de calprotectina fecal cuantitativa	21
9.5. Determinación de elastasa fecal.	22
9.6. Determinación de grasa en heces	24
9.7. Determinación de sustancias reductoras y no reductoras en materia fecal.	26
9.8. Determinación cualitativa de transferrina fecal y sangre oculta en heces	28
9.9. Prueba rápida para detección de <i>Cryptosporidium sp</i> y <i>Lamblia intestinalis</i>.	29
9.10. Gota gruesa, frotis sanguíneo por <i>Plasmodium sp.</i>, densidad parasitaria y parasitemia.	31
9.11. Técnica de Baermann	36
9.12. Técnica de Knott (para la búsqueda de microfilarias de <i>Wuchereria bancrofti</i>).	38
9.13. Técnica de Ritchie.	39
9.14. Técnica de Strout.	41




9.15.	Técnica sedimentación con agua.	42
9.16.	Tinción de Koster modificado para detección de <i>Cryptosporidium sp.</i>	43
9.17.	Tinción de Giemsa.	45
9.18.	Tinción de Ziehl Neelsen.	46
9.19.	Tinción modificada de Ziehl Neelsen.	47
9.20.	Detección de amebas de vida libre en fluidos biológicos.	48
9.21.	Cultivo por amebas de vida libre.	50
9.22.	Diagnóstico de <i>Trichomonas vaginalis.</i>	52
9.23.	Técnica de Graham.	53
9.24.	Toma de muestra para diagnóstico de leishmaniosis cutánea.	55
9.25.	Toma de muestra y diagnóstico de demodicosis.	56
9.26.	Toma de muestra y diagnóstico (técnica cianoacrilato) de demodicosis.	58
9.27.	Toma de muestra y diagnóstico de escabiosis.	59
9.28.	Análisis directo por parásitos en muestras de esputo, esputo inducido, aspirado bronquial o lavado bronqueo alveolar.	60
9.29.	Análisis de lesiones furunculares con sospecha de infestación por larvas de moscas de <i>Dermatobia hominis.</i>	61
9.30.	Examen de heces de triatominos.	62
9.31.	Sospecha de miasis por <i>Cochliomyia hominivorax</i> (gusano barrenador).	63
10.	Diagramas de flujo	64
10.1.	Examen al fresco o examen directo (solución salina y lugol).	64
10.2.	Técnica de Kato.	66
10.3.	Determinación de calprotectina fecal semicuantitativa.	67
10.4.	Determinación de calprotectina fecal cuantitativa	68
10.5.	Determinación de elastasa fecal	69
10.6.	Determinación de grasa en heces	70
10.7.	Determinación de sustancias reductoras y no reductoras en materia fecal	71
10.8.	Determinación cualitativa de transferrina fecal y sangre oculta en heces	72
10.9.	Prueba rápida para detección de <i>Cryptosporidium sp</i> y <i>Lambliia intestinalis.</i>	73

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 6 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;">Manual de Procedimientos de Parasitología</p>	<p style="text-align: right;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

10.10.	<i>Gota gruesa, frotis sanguíneo por Plasmodium sp., densidad parasitaria y parasitemia.</i>	74
10.11.	<i>Técnica de Baermann</i>	77
10.12.	<i>Técnica de Knott (para la búsqueda de microfilarias de Wuchereria bancrofti).</i>	78
10.13.	<i>Técnica de Ritchie.</i>	79
10.14.	<i>Técnica de Strout.</i>	80
10.15.	<i>Técnica sedimentación con agua.</i>	81
10.16.	<i>Tinción de Koster modificado para detección de Cryptosporidium sp.</i>	82
10.17.	<i>Tinción de Giemsa.</i>	83
10.18.	<i>Tinción de Ziehl Neelsen.</i>	84
10.19.	<i>Tinción modificada de Ziehl Neelsen.</i>	85
10.20.	<i>Detección de amebas de vida libre en fluidos biológicos.</i>	86
10.21.	<i>Cultivo por amebas de vida libre.</i>	88
10.22.	<i>Diagnóstico de Trichomonas vaginalis.</i>	89
10.23.	<i>Técnica de Graham.</i>	90
10.24.	<i>Toma de muestra para diagnóstico de leishmaniosis cutánea.</i>	91
10.25.	<i>Toma de muestra y diagnóstico de demodicosis.</i>	92
10.26.	<i>Toma de muestra y diagnóstico (técnica cianoacrilato) de demodicosis.</i>	93
10.27.	<i>Toma de muestra y diagnóstico de escabiosis.</i>	94
10.28.	<i>Análisis directo por parásitos en muestras de esputo, esputo inducido, aspirado bronquial o lavado bronqueo alveolar.</i>	95
10.29.	<i>Análisis de lesiones furunculares con sospecha de infestación por larvas de moscas de Dermatobia hominis.</i>	96
11.	<i>Contacto para consultas</i>	96
12.	<i>Monitoreo y auditoria del Manual de Procedimientos</i>	96
13.	<i>Referencias bibliográficas</i>	97
14.	<i>Anexos</i>	100
14.1.	<i>Anexo 1. Criterio de aceptación de muestras clínicas para procesar en Parasitología</i>	101

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 7 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

14.2. Anexo 2. Características morfológicas de larvas de *Strongyloides stercoralis* y *uncinarias* (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*)_____ 101

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 8 de 102</p>
<p>COORDINACIÓN NACIONAL DE LABORATORIOS CLÍNICOS</p>	<p style="text-align: center;">MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN PARASITOLOGÍA</p>	<p style="text-align: right;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

1. Introducción

La Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS) necesita herramientas que faciliten proporcionar los servicios de salud de forma integral al individuo, la familia y la comunidad. Sobre esta base, el uso de evidencia científica constituye un insumo fundamental que permite el desarrollo de gran cantidad de aplicaciones requeridas para el buen funcionamiento de los servicios de salud.

La Ley de Control Interno establece la obligatoriedad que los titulares subordinados tengan identificados, levantados y documentados sus procedimientos de trabajo. De igual manera, uno de los elementos fundamentales en el desarrollo de sistemas de información es el levantamiento del flujo de actividades que se debe estandarizar.


Ante este panorama la Coordinación Nacional de Laboratorio Clínico se ha dado a la tarea de identificar y documentar procedimientos de manera estandarizada, según lo dispuesto en la Norma ISO 15189.

Este documento constituye una versión actualizada de la estandarización de procedimientos en Parasitología, cuyo fin es mejorar la eficiencia y eficacia de los procesos a costos razonables, sin dejar de lado la satisfacción de las necesidades de las personas usuarias de los servicios de la CCSS.

Cada subproceso está integrado por actividades sustantivas, documentadas mediante procedimientos. El procedimiento establece la forma específica de cómo se deben realizar las actividades, y detalla, cuando corresponda, alguna tarea del procedimiento se utilizará una instrucción de trabajo.

El Laboratorio de Microbiología Clínica desempeña un papel importante en el diagnóstico y control de las enfermedades infecciosas. Este manual se enfoca en el diagnóstico de las enfermedades causadas por parásitos. Las enfermedades parasitarias se encuentran distribuidas a nivel mundial con mayor o menor prevalencia en función de la distribución geográfica de los patógenos responsables de las mismas.

En los países desarrollados la incidencia de las parasitosis ha ido aumentando principalmente a causa del mayor número de viajes internacionales y la inmigración. Por esto, todos los Laboratorios Clínicos deben contar con personal cualificado para el diagnóstico de las enfermedades causadas por parásitos.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 9 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

2. Definiciones, abreviaturas y símbolos

2.1. Definiciones

Apariencia de la muestra fecal: se refiere a la textura y composición de la muestra fecal recibida (puede ser homogénea o heterogénea) (1).

Apariencia heterogénea de la muestra fecal: presenta variaciones visibles en textura o contenido (1).

Apariencia homogénea de la muestra fecal: tiene textura uniforme, sin elementos visibles que se diferencien (1).

Cámara de Neubauer: instrumento de laboratorio que consiste en una placa de vidrio grueso, sirve para hacer recuentos de algunos tipos celulares como eritrocitos, leucocitos y plaquetas, además puede utilizarse para recuento de espermatozoides, parásitos, otros (2).

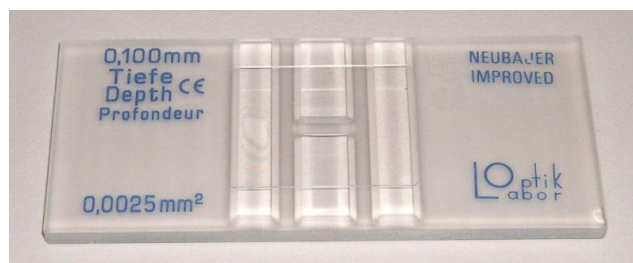



Figura 1. Cámara de Neubauer. Tomado de: Cámara de Neubauer: qué es, características, usos y errores, (<https://www.lifeder.com/camara-de-neubauer/>), revisado 13/08/25

Ciclo de Loos: parte del ciclo de vida de algunos helmintos nemátodos que involucra migración de larvas a través del pulmón del hospedero (*Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis*, uncinarias) (3).

Consistencia: solidez de la muestra fecal (líquida, pastosa, sólida, escíbalos) (4).

Creatorrea: presencia de fibras musculares en heces, por digestión incompleta de proteínas (5).

Cristales de Charcot Leyden: cristales producto de la degranulación de eosinófilos, formados por galectina (6).

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 10 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

Criterios de aceptación o rechazo de muestras: son las condiciones básicas que debe cumplir una muestra clínica, en este caso materia fecal, para su correspondiente análisis (7).

Embalaje: envoltura con que se protege el recipiente (conteniendo la muestra requerida) que va a ser transportado (16).

Espujo: moco u otra materia que se expulsa desde los pulmones al toser (8).

Esteatorrea: presencia de grasa en materia fecal (9).

Goma loca: adhesivo de cianoacrilato (10).

Infección: proceso causado por parásitos que se localizan en el interior del cuerpo humano, tipo protozoarios y helmintos, encontrados en intestino, sangre, tejidos, entre otros (11).

Infestación: proceso causado por parásitos que se localizan en el exterior del cuerpo humano, tipo artrópodos, encontrados en piel, pelo, pestañas, glándulas sebáceas, etc (12).

Informe de resultados: es el resultado de los análisis de laboratorio que se le realizaron a la muestra de una persona, con el fin de informar y/o notificar al médico tratante los hallazgos de Laboratorio (13).


Laboratorio de derivación: es aquel laboratorio definido según la red de establecimientos de salud a nivel institucional para el envío de muestras primarias o alícuotas para análisis, o bien cuando los análisis de rutina no pueden realizarse (14).

Laboratorio de referencia: es el laboratorio especializado estipulado por el Ministerio de Salud (INCIENSA), que oferta consultoría, asesoramiento y confirmación en su respectiva área de actuación y promueve capacitación para instituciones afines como la CCSS (15).

Lientería: muestra fecal usualmente diarreica con la presencia de alimentos no digeridos (16).

Moco: componente de apariencia gelatinosa, blanda y pegajosa que acompaña a la muestra fecal (16).

No conformidad: que no está conforme con una situación, entendiéndose con el desvío detectado en los procesos, productos o servicios que no cumple con los parámetros esperados o definidos (17).

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 11 de 102</p>
<p style="text-align: center;"><i>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

Refrendo: “autorizar un despacho u otro documento por medio de la firma de la persona habilitada para ello” 16). Dentro de la normativa técnica y jurídica el refrendo o firma se refiere a la acción de aprobar, dar autenticidad y fe pública del informe de los resultados de análisis laboratorio, con esto se verifica la integridad, identifica en forma unívoca y se vincula jurídicamente al profesional con el documento previo a su envío

Validación: “confirmación de la fiabilidad para uso específico previsto o aplicación mediante el aporte de evidencia objetiva que se han cumplido los requisitos especificados” (19).

2.2. Abreviaturas

AUX: Auxiliar en Laboratorio Clínico.

CCSS: Caja Costarricense de Seguro Social.

CUCI: colitis ulcerativa crónica idiopática.

DLC: Asistente Laboratorio Clínico, Diplomado.

EII: enfermedad inflamatoria intestinal.

INCIENSA: Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud.

LCR: líquido cefalorraquídeo.

MQC: profesional en Microbiología y Química Clínica.

PBS: solución amortiguadora de fosfatos.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

rpm: revoluciones por minuto.

SENASA: Servicio Nacional de Salud Animal.

SNR: sustancias no reductoras.

SOH (FOB): sangre oculta fecal (en inglés: Fecal Occult Blood).

SR: sustancias reductoras

TÉC-: Asistente en Laboratorio Clínico (técnico).

TRF: transferrina fecal.

UCR: Universidad de Costa Rica.

2.3. Símbolos

µg: microgramo


µL: microlitro

g: gramo

mg: miligramo

mL: mililitro

°: grado

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 12 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

3. Referencias normativas

Cuadro 1. Referencia de la Normas que se aplican en el documento


Número	Nombre de normativa
Ley N° 5395. 30 de octubre de 1973.	Ley General de Salud.
Ley N° 5462. 24 de diciembre de 1973.	Reglamento Estatuto Servicios de Microbiología y Química Clínica.
Ley N° 8239. Marzo 2002.	Derechos y Deberes de las personas usuarias de los servicios de salud públicos y privados.
Ley N° 7600. La Gaceta N° 112 del 29 mayo 1996.	Igualdad de oportunidades para las personas con discapacidad.
Ley 8279. La Gaceta, N° 96, mayo 2002.	Sistema Nacional para la Calidad.
Ley N° 8292. Gaceta 169 del 04 setiembre del 2002.	Ley General de Control Interno.
Norma ISO 15189: 2007.	Laboratorios Clínicos: Requisitos particulares relativos a la calidad y la competencia.
Artículo 2 sesión #8139 Junta Directiva CCSS, celebrada el 22 de marzo del 2007.	Política de Calidad y Seguridad a la persona usuaria de la CCSS.
CCSS, 2006.	Manual de Normas y Procedimientos Técnico- Administrativos de los Laboratorios.
CCSS, 2013.	Manual de Bioseguridad Laboratorios Clínicos.
CCSS, 2012.	Manual de Apoyo para la Implementación de la Gestión de Calidad en los Laboratorios Clínicos.

4. Alcance

Para aplicación en todos los Laboratorios Clínicos de la Caja Costarricense de Seguro Social para la realización de los diferentes análisis parasitológicos en muestras clínicas para la emisión del correspondiente informe de resultados.

5. Objetivo General

Proporcionar una guía a las Divisiones o Secciones de Parasitología de los procedimientos que se deben realizar para garantizar calidad y unificar criterios relacionados con la recepción, toma, consideraciones analíticas de las pruebas, así como el reporte de análisis que se realizan en esta área.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 13 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

6. Metodología

Para la elaboración del presente manual se realizaron sesiones de trabajo en conjunto con diversos profesionales en Microbiología y Química Clínica con especialidad en Parasitología. Se realizó una revisión inicial de los procedimientos que se realizan en las Divisiones o Secciones de Parasitología Institucionales para definir los que se incorporarían al documento. La elaboración de los procedimientos fue basado en revisión bibliográfica y experiencia profesional en los tres niveles de atención. La presente versión fue validada por profesionales en Microbiología de diversas regiones y niveles de atención, a través de una encuesta electrónica de un total de 16 preguntas sobre los diferentes componentes del manual, utilizando la metodología “Delphi Modificada”, la encuesta se aprobó por ítem con una nota mínima de 7 por consenso por mayoría mínima. Se recibieron comentarios de los validadores y se incorporaron los comentarios que tuvieran fundamento técnico o se consideraran oportunos.

7. Responsable del cumplimiento

La responsabilidad de la aplicación de este Manual de Procedimientos se indica en el siguiente cuadro.

Cuadro 2. Unidades y su responsabilidad

Unidades y puestos de trabajo	Responsabilidad
MQC Director (a) del Laboratorio Clínico.	Supervisión y evaluación.
MQC encargado de Parasitología.	Aplicación directa.
MQC analista, DLC, TÉC-2, TÉC-1 y AUX.	Aplicación directa.

8. Responsable de verificar el cumplimiento

Cuadro 3. Responsable de verificar el cumplimiento


Unidades y puestos de trabajo	Responsabilidad
MQC Director de Laboratorio Clínico.	Supervisión y Evaluación.

9. Contenido

El manual ha sido compilado mediante búsqueda de los procedimientos que se realizan en la División o Sección de Parasitología nivel Institucional, así mismo se ha realizado revisión bibliográfica para actualizar los diferentes procedimientos.

Como parte de la estandarización de los procesos de los Laboratorios Clínicos Institucionales, se ha establecido el Subproceso denominado Gestión Técnica de Parasitología,

los procedimientos operativos que se describen en el presente manual son complemento de los subprocesos estandarizados de los servicios de Laboratorio Clínico, proporcionando

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 14 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>


mayor nivel de detalle a las diferentes actividades que se realizan en el área de Parasitología.

El objetivo de este manual es asegurar que la recolección, procesamiento, análisis e informe de resultados de las diferentes muestras para la búsqueda por parásitos, así como otras pruebas coprológicas no parasitológicas, se realicen según los requerimientos establecidos y especificados.

En el siguiente cuadro se indican los procedimientos operativos que se describen en el presente manual:

Cuadro 4. Procedimientos de Parasitología

Procedimientos de Parasitología	
Examen de materia fecal	
1	Examen al fresco o examen directo (solución salina y lugol).
2	Técnica de Kato.
Pruebas de tamizaje	
3	Determinación de calprotectina fecal semicuantitativa.
4	Determinación de calprotectina fecal cuantitativa.
5	Determinación de elastasa fecal.
6	Determinación grasa en heces.
7	Determinación sustancias reductoras y no reductoras.
8	Prueba cualitativa de transferrina fecal y sangre oculta en heces.
9	Prueba rápida para detección de <i>Cryptosporidium sp</i> y <i>Lambliia intestinalis</i> .
Técnicas de concentración	
10	Gota gruesa y frotis sanguíneo por <i>Plasmodium sp</i> .
11	Técnica de Baermann.
12	Técnica de Knott.
13	Técnica de Ritchie.
14	Técnica de Strout.
15	Técnica sedimentación con agua.
Técnicas de tinción	
16	Tinción de Koster modificado para detección de <i>Cryptosporidium sp</i> .
17	Tinción de Giemsa.
18	Tinción de Ziehl Neelsen.
19	Tinción de Ziehl Neelsen modificado.
Técnicas de diagnóstico	
20	Detección de amebas de vida libre en fluidos biológicos.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 15 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

21	Cultivo de amebas de vida libre.
22	Diagnóstico de <i>Trichomonas vaginalis</i> .
23	Técnica de Graham.
24	Toma de muestra para diagnóstico de leishmaniosis cutánea.
25	Toma de muestra y diagnóstico de demodicosis. Técnica 1.
26	Toma de muestra demodicosis y diagnóstico. Técnica 2.
27	Toma de muestra y diagnóstico de escabiosis.
Otros análisis	
28	Análisis directo de esputo por parásitos.
29	Análisis de lesiones furunculares con sospecha de infestación por larvas de moscas.
30	Examen de heces de triatominos.
31	Sospecha de miasis por <i>Cochliomyia hominivorax</i> (gusano barrenador).

Corresponde a cada Laboratorio Clínico aplicar los procedimientos que realiza localmente con base en su oferta de servicios (apegado a la oferta institucional por nivel de atención) y su capacidad instalada.

9.1. Examen al fresco o examen directo (solución salina y lugol).


Objetivo: Realizar la observación directa de materia fecal en busca de parásitos intestinales.

Insumos, equipos y reactivos


1. Suministros de oficina: formulario institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, instrucciones para la recolección de la materia fecal, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: solución salina 0.85 % y lugol (1 g de yoduro de potasio, 1.5 g de cristales de yoduro y 100 mL de agua destilada).
4. Insumos de laboratorio: palillos de madera limpios (sin torunda), portaobjetos, cubreobjetos, recipiente para descarte de palillos de madera utilizados y/o portaobjetos.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 16 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Identifica con el número de muestra con la etiqueta generada por el Laboratorio Clínico los recipientes conteniendo las muestras fecales, colocándola a nivel lateral (nunca en la tapa) sin cubrir la identificación dada por la persona usuaria.
6. Prepara los materiales necesarios para los análisis correspondientes (portaobjetos, cubreobjetos, solución salina, lugol, palillos de madera, lápiz de cera o grafito).
7. Analiza las características macroscópicas de la muestra, relacionadas con:
 - **Consistencia** (líquida, pastosa, sólida, escíbalos).
 - **Color** (café, acólica, negro, verduzco, amarillento, rojiza).
 - **Aspecto** (normal, mucoide, disentérico, granuloso).
 - **Apariencia** (homogéneo y heterogéneo).
 - **Otros hallazgos** (hematoquecia, melena, lientería, esteatorrea).
8. Anota las características macroscópicas observadas donde corresponda (formulario de solicitud o documento dispuesto para tal efecto). Para las muestras sólidas o pastosas se debe realizar de forma simultánea el procedimiento de Kato.
9. Rotula el portaobjetos con lápiz de cera o lápiz de grafito con la numeración respectiva para realizar el análisis directo.
10. Coloca en un portaobjetos una gota de solución salina y una gota de lugol, a una distancia tal que no permita que se mezclen las soluciones.
11. Con un palillo de madera “pica” la muestra fecal en varios sitios de tal manera que en el palillo quede aproximadamente 2 mg de heces.
12. Mezcla las heces que quedan en el palillo con la solución salina primero y luego con el lugol, haciendo una suspensión no muy gruesa ni muy transparente con la muestra fecal (si la muestra de heces es diarreica líquida no mezclar con la solución salina, verla directamente entre portaobjetos y cubreobjetos).
13. ¿La suspensión de la muestra de heces es la adecuada? En caso negativo realiza de nuevo el procedimiento desde la actividad 9, en caso afirmativo continua con la actividad 14.
14. Coloca el cubreobjetos evitando la formación de burbujas o derrames.
15. Realiza análisis microscópico general de la muestra de heces determinando: parásitos (algún estado evolutivo de protozoarios o helmintos), eritrocitos, leucocitos, cristales de Charcot- Leyden y microbiota. Dicha revisión se realiza primero en 10 X, observando algún elemento sugestivo según lo mencionado al inicio de este párrafo, luego se confirma en 40 X para ver características específicas del elemento o parásito.
16. Realiza el informe de resultados con los elementos observados o los estados evolutivos de los parásitos encontrados sean protozoarios (trofozoítos, quistes u ooquistes) o

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 17 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</i></p>

helmintos (huevo-cillos, proglótidos o larvas). Reporta de la siguiente manera:

- Parásitos:
 - Ausencia de parásitos: **No se observan parásitos.**
 - Presencia de parásitos: **Se observa (n) (indicar el estado evolutivo) de (nombre científico bien escrito del parásito).** Ejemplo: Se observan quistes de *Endolimax nana*.
- Leucocitos:
 - **No se observan.**
 - **Pocos:** 1 a 2 campo de 40 X.
 - **Moderados:** 3 a 9 por campo de 40 X.
 - **Muchos:** 10 a 25 campo de 40 X.
 - **Abundantes:** más de 25 en campo de 40 X.
- Eritrocitos:
 - **No se observan.**
 - **Pocos:** 1 a 2 campo de 40 X.
 - **Moderados:** 3 a 9 por campo de 40 X.
 - **Muchos:** 10 a 25 campo de 40 X.
 - **Abundantes:** más de 25 en campo de 40 X.
- Microbiota:
 - **Normal.**
 - **Alterada** (bacterias aumentadas, levaduras aumentadas sin pseudomicelio, levaduras aumentadas y pseudomicelio, bacterias disminuidas).
 - **Ausente.**
- Cristales de Charcot-Leyden:
 - **Presencia.**
 - **Ausencia.**

17. Registra los resultados en el sistema de información.


18. Valida y refrenda el informe de resultados.

19. Envía los resultados a quien corresponda.

20. Final del procedimiento.

Controles

1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 18 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

9.2. Técnica de Kato.


Objetivo: Analizar la muestra fecal para la búsqueda de huevecillos helmintos para el diagnóstico y tratamiento.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, instrucciones para la recolección de la materia fecal, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: medio aclarador de Kato (100 partes de agua y 1 parte de solución acuosa de verde malaquita al 3%)
4. Insumos de laboratorio: espátula o bajalenguas de madera, palillos de madera limpios (sin torunda), papel absorbente, papel celofán (dejarlo inmerso durante al menos 24 horas en el medio aclarador de Kato, antes de su uso), portaobjetos, recipiente para descarte de palillos de madera utilizados y / o portaobjetos, medio aclarador de Kato (100 partes de agua y 1 parte de solución acuosa de verde malaquita al 3%).
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del proceso.
2. Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con la documentación y condición de esta (formulario de solicitud o lista de trabajo).
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. ¿La condición de la muestra fecal es sólida o pastosa? En caso negativo continua con la actividad 6, en caso afirmativo continua con la actividad 7.
6. No se realiza la técnica de Kato solo examen al fresco (solución salina y lugol). Final del procedimiento.
7. Prepara los materiales necesarios (papel absorbente, papel celofán inmerso en solución de Kato al menos 24 horas, palillos o bajalenguas de madera, portaobjetos) y rotula el portaobjetos.
8. Coloca con palillo o bajalenguas de madera, de 50 mg - 60 mg de materia fecal en un portaobjetos.
9. Descarta el palillo o bajalenguas en recipiente destinado para tal efecto.
10. Cubre la muestra fecal con una tira de celofán (aproximadamente de 40-50 micrómetros

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 19 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

de grosor, de textura suave, 22 x 30 mm de largo), que ha permanecido en el medio aclarador de Kato.

11. Coloca el portaobjetos con la muestra fecal sobre una servilleta de papel, presiona y mueve en sentido longitudinal para extender la muestra, teniendo cuidado de que no se salga del portaobjetos.
12. Coloca en el portaobjetos posición horizontal y deja a temperatura ambiente de 20 a 30 minutos (tomar en cuenta condiciones ambientales, temperatura y humedad) para el aclaramiento de la muestra fecal, en caso de tiempo prolongado se pueden aclarar los huevecillos, y no ser observables.
13. ¿El tiempo de aclaración fue el adecuado? En caso negativo regresa a la actividad 7, en caso positivo continua con la actividad 14.
14. Realiza el análisis microscópico para la búsqueda de huevecillos de helmintos.
15. Reporta los resultados de la siguiente manera:
 - Si se observa: **Se observa la presencia de huevecillos (género y especie del helminto).**
 - No se observan: **No se observan huevecillos de helmintos.**
16. Registra los resultados en el sistema de información.
17. Valida y refrenda el informe de resultados.
18. Envía los resultados a quien corresponda.
19. Final del procedimiento.

Controles


1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.3. Determinación de calprotectina fecal semicuantitativa.

Objetivo: Analizar la muestra de materia fecal para seguimiento del tratamiento de personas usuarias con diagnóstico de CUCI, EII, enfermedad de Crohn, síndrome del colon irritable y marcador de inflamación de mucosa intestinal.

Insumos, equipos y reactivos.


1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, instrucciones para la recolección de la materia fecal, rotulador o lápiz de cera, etiquetas adhesivas, impresora de código de barras, etc.
2. Muestras: materia fecal refrigerada desde la recolección y hasta ser llevada al laboratorio.
3. Reactivos: inmunocromatografía.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 20 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

4. Insumos de laboratorio: dispositivo con solución de extracción de muestra, cronómetro o temporizador, inserto o panfleto del fabricante según corresponda.
5. Equipo de laboratorio: agitador tipo vórtex.

Descripción de actividades

1. Inicio del proceso.
2. Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con la documentación y condición de ésta (formulario de solicitud o lista de trabajo).
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. En caso de que la muestra tenga moco y/o sangre, de preferencia utiliza la porción de la muestra fecal que no tenga la condición anterior y si no es así, procesa la muestra de todas maneras.
6. Rotula el dispositivo con solución de extracción de muestra con la identificación de la muestra, así como la placa de inmunocromatografía.
7. Toma aproximadamente 250 mg de heces introduciendo unas 4 veces el palito del dispositivo para diluir la muestra.
8. Agita para facilitar la dispersión de la muestra por 1 minuto hasta homogenizar bien (puede utilizarse un vortex).
9. Corta la punta del tapón del dispositivo con solución de extracción de muestra.
10. Coloca 3 gotas de la suspensión, en cada una de las ventanas circulares marcadas con una flecha o una S (“sample”) en la placa inmunocromatográfica (evita dispensar partículas con el líquido).
11. Lee el resultado en 10 minutos exactos (no dejar más de ese tiempo de lectura):
 - a. **Negativo:** Solamente se observa la línea de control en ambos canales de la placa de inmunocromatografía.
 - b. **Positivo más de 50 µg/g y menos de 200 µg/g de heces:** se observan las líneas de los controles, pero solamente da reacción en el canal de 50 µg/g de heces.
 - c. **Positivo más de 200 µg/g de heces:** se observan las líneas de los controles, y da reacción en ambos canales, de 50 µg/g y 200 µg/g de heces.
12. Registra los resultados en el sistema de información.
13. Valida y refrenda el informe de resultados.
14. Envía los resultados a quien corresponda.
15. Fin del proceso.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 21 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

Controles

1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.
5. Cada juego de reactivos contiene control positivo para verificar la funcionalidad del lote.

9.4. Determinación de calprotectina fecal cuantitativa


Objetivo: Analizar la muestra de materia fecal para seguimiento de personas usuarias con diagnóstico de CUCI, EII, enfermedad de Crohn, síndrome del colon irritable y marcador de inflamación de mucosa intestinal.

Insumos, equipos y reactivos.

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, protocolo establecido por Gastroenterología, instrucciones para la recolección de la materia fecal, rotulador o lápiz de cera, etiquetas adhesivas, impresora de código de barras, etc.
2. Muestra: materia fecal refrigerada.
3. Reactivos: partículas magnéticas, conjugado, solución tamponada de ensayo, diluyente de muestras, calibradores y controles de calidad, agua destilada o desionizada.
4. Insumos de laboratorio: tubo con solución de extracción de muestra.
5. Equipo de laboratorio: centrífuga, agitador tipo vórtex.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del proceso.
2. Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con la documentación y condición de esta (formulario de solicitud o lista de trabajo).
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. ¿La condición de la muestra fecal es totalmente mucoide o sanguinolenta? En caso positivo continua con la actividad 6, en caso negativo continua con la actividad 7.
6. Solicita nueva muestra fecal según lo estipulado en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
7. En caso de que la muestra tenga poco moco y/o sangre, utiliza la porción de la muestra fecal que no tenga la condición anterior.
8. Rotula el tubo de dilución con etiqueta con código de barras.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 22 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>


9. Dado que el tubo de dilución tiene dos tapas, retira la primera que tiene el dispositivo de muestreo y desenrosca para la recolección de la muestra.
10. Introduce el dispositivo de muestreo en la muestra fecal varias veces (en 3 o 5 sitios diferentes), hasta que las ranuras queden totalmente recubiertas.
11. Inserta y vuelve a colocar el dispositivo de muestreo dentro del tubo de dilución; enrosca adecuadamente para que quede bien sellado. El exceso de heces se retirará del dispositivo por la acción del embudo de goma.
12. Con la tapa mirando hacia arriba, homogeniza las heces en un agitador tipo vórtex, aplicando el ajuste máximo del agitador durante 30 minutos. Se asegura que no queden restos de heces visibles en las ranuras del dispositivo de muestreo. Continúa agitando en vórtex las veces que sean necesarias hasta que no haya restos de heces en las ranuras.
13. Centrifuga la muestra a 4500 rpm por 5 minutos, para que se dé adecuada sedimentación de partículas que puedan obstruir las mangueras del equipo de detección.
14. Desenrosca la segunda tapa y la desecha en un recipiente para residuos biológicamente peligrosos.
15. Coloca el tubo de dilución en la gradilla de muestras para ser procesada.
16. Verifica que el equipo se encuentre en condición adecuada para su uso (controles, calibradores e insumos).
17. Realiza el análisis.
18. Revisa los resultados en el equipo.
19. Registra los resultados en el sistema de información.
20. Valida y refrenda el informe de resultados.
21. Envía los resultados a quien corresponda.
22. Fin del proceso.

Controles

1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.
5. Los estipulados en el equipo.

9.5. Determinación de elastasa fecal.

Objetivo: Analizar la muestra de materia fecal para seguimiento de personas usuarias con insuficiencia pancreática.


	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 23 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

Insumos, equipos y reactivos.

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, instrucciones para la recolección de la materia fecal, rotulador o lápiz de cera, etiquetas adhesivas, impresora de código de barras, etc.
2. Muestra: materia fecal refrigerada.
3. Reactivos: partículas magnéticas, conjugado, solución tamponada de ensayo, diluyente de muestras, calibradores y controles de calidad, agua destilada o desionizada, inserto o panfleto del fabricante según corresponda.
4. Insumos de laboratorio: tubo con solución de extracción de muestra.
5. Equipo de laboratorio: centrífuga, agitador tipo vórtex.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del proceso.
2. Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con la documentación y condición de esta (formulario de solicitud o lista de trabajo).
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. ¿La condición de la muestra fecal es totalmente mucoide o sanguinolenta? En caso positivo continua con la actividad 6, en caso negativo continua con la actividad 7.
6. Solicita nueva muestra fecal según lo estipulado en la División de Parasitología. Final del procedimiento.
7. En caso de que la muestra tenga poco moco y/o sangre, utiliza la porción de la muestra fecal que no tenga la condición anterior.
8. Rotula el tubo de dilución con etiqueta con código de barras.
9. Dado que el tubo de dilución tiene dos tapas, retira la primera que tiene el dispositivo de muestreo y desenrosca para la recolección de la muestra.
10. Introduce el dispositivo de muestreo en la muestra fecal varias veces (en 3 o 5 sitios diferentes), hasta que las ranuras queden totalmente recubiertas.
11. Inserta y vuelve a colocar el dispositivo de muestreo dentro del tubo de dilución; enrosque adecuadamente para que quede bien sellado. El exceso de heces se retirará del dispositivo por la acción del embudo de goma.
12. Con la tapa mirando hacia arriba, homogeniza las heces en un agitador tipo vórtex, aplicando el ajuste máximo del agitador durante 30 minutos. Se asegura que no queden restos de heces visibles en las ranuras del dispositivo de muestreo. Continúa agitando en vórtex las veces que sean necesarias hasta que no haya restos de heces en las ranuras.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 24 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

13. Centrifuga la muestra a 4500 rpm por 5 minutos, para que se dé adecuada sedimentación de partículas que puedan obstruir las mangueras del equipo de detección.
14. Desenrosca la segunda tapa y la desecha en un recipiente para residuos biológicamente peligrosos.
15. Coloca el tubo de dilución en la gradilla de muestras para ser procesada.
16. Verifica que el equipo se encuentre en condición adecuada para su uso (controles, calibradores e insumos).
17. Realiza el análisis.
18. Revisa los resultados en el equipo.
19. Registra los resultados en el sistema de información.
20. Valida y refrenda el informe de resultados.
21. Envía los resultados a quien corresponda.
22. Fin del proceso.

Controles


1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.
5. Los estipulados en el equipo, controles normal y patológico diario.

9.6. Determinación de grasa en heces

Objetivo: Determinar la presencia de grasa no absorbida en las heces debido a un cuadro de mala digestión o absorción intestinal.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, instrucciones para la recolección de la materia fecal, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: sudán negro III o sudán negro II al 1% en alcohol 95%, rojo de sudán al 1% en alcohol 95%, solución salina fisiológica.
4. Insumos de laboratorio: palillos de madera limpios (sin torunda), portaobjetos, cubreobjetos, recipiente para descarte de palillos de madera utilizados y/o portaobjetos, mechero o lampara de alcohol y encendedor.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.


	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 25 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

Descripción de las actividades

1. Inicio del proceso.
2. Revisa la identificación de la muestra con la documentación (formulario de solicitud o lista de trabajo).
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Prepara una suspensión en un tubo de ensayo pequeño (o el que se encuentre disponible), de la materia fecal en solución de negro sudán o rojo sudán (suspensión semejante al frotis al fresco).
6. Coloca en un portaobjetos limpio una gota de la suspensión y sobre ésta coloca un cubreobjetos evitando la formación de burbujas.
7. Calienta suavemente el portaobjetos sobre una pequeña llama y deja enfriar.
8. Observa la preparación al microscopio con el lente de 40 X, en busca de gotas de grasa que se identifican de color naranja o ámbar. Importante hacer la revisión en el centro del cubreobjetos y no en la periferia.
9. Revisa al menos 10 campos con el lente de 40 X, se promedia el número de gotas observadas por campo.
10. Reporta de la siguiente manera:
 - **Negativo** (menos de 5 gotas por campo de 40 X).
 - **Positivo +** (6 a 20 gotas por campo de 40 X).
 - **Positivo ++** (21 a 59 gotas por campo de 40 X).
 - **Positivo +++** (más de 60 gotas por campo de 40 X).
11. Registra los resultados en el sistema de información.
12. Valida y refrenda el informe de resultados.
13. Envía los resultados a quien corresponda.
14. Fin del proceso.

Controles

1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 26 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

9.7. Determinación de sustancias reductoras y no reductoras en materia fecal.


Objetivo: Determinar la presencia de reductores y azúcares no reductores en materia fecal con el fin de ayudar en el diagnóstico de trastornos de la digestión y absorción de carbohidratos.

Insumos, equipos y reactivos.

1. Suministros de oficina: formulario institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: solución de Benedict, ácido clorhídrico (HCl) al 0.1 N.
4. Insumos de laboratorio: recipientes de descarte, tubos de vidrio tipo pírex, mechero o lámpara de alcohol, encendedor o fósforos, palillos de madera, pinzas de metal para sostener tubo de ensayo.
5. Equipo de laboratorio: no aplica.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Recibe la muestra contenida en el recipiente respectivo.
3. Revisa la identificación del recipiente con la muestra con el formulario de solicitud.
4. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 5, en caso afirmativo continua con la actividad 6.
5. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
6. Rotula dos tubos de ensayo de vidrio tipo pyrex, uno como SR (sustancias reductoras) y otro como SNR (sustancias no reductoras).
7. Agrega 0,5 mL de heces líquidas o una porción de heces semisólidas tomada con palillo de madera en cada tubo de ensayo.
 - 7.1. Al tubo rotulado como SNR.
 - 7.1.1. Agrega 5 gotas de HCl 0,1 N.
 - 7.1.2. Calienta suavemente el tubo SNR hasta la salida de vapores con ayuda de mechero o lámpara de alcohol.
 - 7.1.3. Deja enfriar.
 - 7.1.4. Agrega 2,0 mL a 2,5 mL de reactivo de Benedict.
 - 7.1.5. Calienta a ebullición.
 - 7.1.6. Deja enfriar.
 - 7.1.7. Lee de acuerdo con el cambio de color producido al calentar el tubo, según la

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 27 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

actividad 8.

- 7.2. Al tubo rotulado como SR.
 - 7.2.1. Agrega 2,0 mL a 2,5 mL de reactivo de Benedict.
 - 7.2.2. Calienta a ebullición.
 - 7.2.3. Deja enfriar.
 - 7.2.4. Lee de acuerdo con el cambio de color producido al calentar el tubo, según la actividad 8.
8. Interpreta el cambio de color de la siguiente manera:
 - Sin cambio de color: **Negativo**.
 - Azul verdoso: **Positivo trazas**.
 - Verde: **Positivo (+)**.
 - Verde pardo: **Positivo (++)**.
 - Amarillo: **Positivo (+++)**.
 - Rojo ladrillo: **Positivo (++++)**.

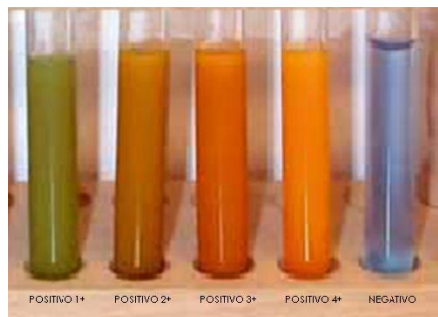



Figura 2. Interpretación en la determinación de azúcares reductores y no reductores. Fuente: Fotografía Dr. Álvaro Vargas, Hospital Nacional de Niños.

9. Registra los resultados en el sistema de información.
10. Valida y refrenda el informe de resultados.
11. Envía los resultados a quien corresponda.
12. Final del procedimiento.

Controles

1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 28 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

9.8. Determinación cualitativa de transferrina fecal y sangre oculta en heces


Objetivo: Detectar pérdida de sangre en el tracto gastrointestinal superior y/o inferior por detección de hemoglobina humana (FOB) y/o transferrina (TRF) en heces.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, instrucciones para la recolección de la materia fecal, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: inmunocromatografía para detección de hemoglobina y transferrina en heces.
4. Insumos de laboratorio: palillos de madera limpios (sin torunda), recipiente para descarte de palillos de madera utilizados y/o portaobjetos, inserto o panfleto del fabricante según corresponda.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Revisa la identificación de la muestra con la documentación (formulario de solicitud o lista de trabajo).
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Alista el tubo de recogida de muestra y el reactivo a utilizar (placa de prueba).
6. Rotula el tubo de recogida de muestra con la identificación de la muestra.
7. Desenrosca la tapa del tubo de recolección de muestra y con el palillo punza al menos 3 sitios diferentes de la muestra.
8. Cierra el tubo y agita vigorosamente.
9. Saca la placa de prueba de la bolsa sellada y la rotula con la identificación de la muestra.
10. Quita la tapa del tubo de recogida de muestra, invierte el tubo y agrega tres (3) gotas de la muestra sin burbujas de aire en el pozo de muestra de la placa.
11. Interpreta los resultados negativos y positivos según la metodología utilizada.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 29 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

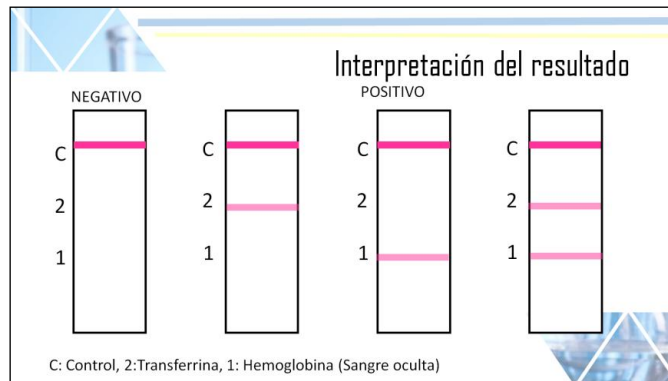


Figura 3. Interpretación del resultado en la prueba de sangre oculta y transferrina. Fuente: Inserto Kit de prueba FOB-TRF Novatest®

12. Registra los resultados en el sistema de información.
13. Valida y refrenda el informe de resultados.
14. Envía los resultados a quien corresponda.
15. Final del procedimiento.

Controles


1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.9. Prueba rápida para detección de *Cryptosporidium* sp y *Lambli*a *intestinalis*.

Objetivo: Analizar la muestra de materia fecal diarreica líquida o semilíquida para la detección de *Cryptosporidium* sp y *Lambli*a *intestinalis* (considerar la búsqueda de portadores de *Lambli*a *intestinalis* en muestra de heces sólidas).


Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario institucional de solicitud de exámenes, instrucciones para la recolección de la materia fecal, rotulador o lápiz de cera, etiquetas adhesivas, impresora de código de barras, etc.
2. Muestra: materia fecal líquida o semilíquida.
3. Reactivos: inmunocromatografía.
4. Insumos de laboratorio: dispositivo con solución de extracción de muestra, cronómetro, inserto o panfleto del fabricante según corresponda.
5. Equipo de laboratorio: agitador tipo vórtex.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 30 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</i></p>

Descripción de actividades

1. Inicio del proceso.
2. Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con la documentación y condición de ésta (formulario de solicitud o lista de trabajo).
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Rotula el dispositivo con la identificación, así como la placa de inmunocromatografía.
6. Introduce el palillo del dispositivo en 4 o 5 sitios diferentes, para tener mayor posibilidad de captar los parásitos. Para muestras líquidas toma 125 µL.
7. Coloca la muestra tomada en la actividad anterior en el dispositivo de dilución.
8. Agita la muestra en vórtex o mezcla vigorosamente por 1 minuto para homogenizar bien. Si la suspensión tiene muchos detritos se puede centrifugar 5 minutos a 4500 rpm.
9. Retira la placa inmunocromatográfica de su empaque hasta el momento de su uso.
10. Corta la punta del tapón del dispositivo.
11. Coloca 3 gotas de la suspensión, en cada una de las ventanas circulares en la placa inmunocromatográfica.
12. Lee el resultado en 10 minutos exactos (no dejar más de ese tiempo de lectura):
 - **Negativo:** Solamente se observa la línea de control en ambos canales de la placa de inmunocromatografía.
 - **Positivo por *Cryptosporidium* sp:** se observan las líneas de control en ambos canales, pero solamente en el canal de *Cryptosporidium* aparece la línea respectiva (positivo por *Cryptosporidium* sp y negativo por *Lambliia intestinalis*).
 - **Positivo por *Lambliia intestinalis*:** se observan las líneas de control en ambos canales, pero solamente en el canal de *Lambliia intestinalis* aparece la línea respectiva (positivo por *Lambliia intestinalis* y negativo por *Cryptosporidium* sp).
 - **Positivo por *Cryptosporidium* sp y *Lambliia intestinalis*:** se observan las líneas de control en ambos canales, así como las líneas de prueba de los dos canales (positivo por *Cryptosporidium* sp y positivo por *Lambliia intestinalis*).
13. Registra los resultados en el sistema de información.
14. Valida y refrenda el informe de resultados.
15. Envía los resultados a quien corresponda.
16. Fin del proceso.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 31 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

Controles

1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.
5. Cada juego de reactivos contiene control positivo para verificar la funcionalidad del lote.

9.10. Gota gruesa, frotis sanguíneo por *Plasmodium* sp., densidad parasitaria y parasitemia.


Objetivo: Realizar el diagnóstico microscópico de malaria por gota gruesa y frotis sanguíneo, mediante la observación de estadios de *Plasmodium* sp.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: sangre venosa recolectada en tubo con EDTA (tubo de tapón morado).
3. Reactivos: metanol, colorante Giemsa, buffer de Giemsa pH 7.2, agua destilada en caso de dilución de buffer.
4. Insumos de laboratorio: algodón, lancetas alcohol 70 %, portaobjetos (con porción esmerilada nuevos, bien lavados, sin grasa), recipientes de descarte de material punzocortante y otros materiales, lámina extensora, puntas para micropipeta y micropipeta de 0 a 10 uL, plantilla para la elaboración de la gota gruesa y frotis sanguíneo, procedimiento operativo estándar para el diagnóstico microscópico de malaria CNRP-LM-PE05 (considerar la última revisión publicada).
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible, incubadora.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Revisa la identificación del tubo conteniendo la muestra de sangre con la documentación y condición de ésta (formulario de solicitud o lista de trabajo).
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Rotula con lápiz de grafito el portaobjetos en la parte esmerilada con el número de muestra (se sugiere rotular al menos 6 portaobjetos).
6. Coloca el portaobjetos sobre la plantilla, y una vez homogenizada la muestra realiza la

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 32 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

gota gruesa (cerca de la porción esmerilada) y el extendido sanguíneo de la siguiente manera:

6.1. Gota gruesa:

- 6.1.1. Coloca 6 μ L a 8 μ L de muestra en la zona destinada para gota gruesa según muestra la plantilla (zona redondeada) (Figura 4).
- 6.1.2. Con la esquina de la lámina extensora distribuya la sangre iniciando del centro y de manera circular hacia afuera, ocupando el espacio circular según la plantilla, cuando se llega al borde del círculo, con la misma extensora y sin levantar la extensora se realiza movimiento circular rápida hacia el centro.
- 6.1.3. Mueve la lámina realizando movimientos circulares con el fin que la sangre quede homogéneamente distribuida.

6.2. Extendido sanguíneo:

- 6.2.1. Coloca de 2 μ L - 5 μ L de sangre y la coloca en la base del espacio destinado para el frotis, según está demarcado en la plantilla (Figura 4).
- 6.2.2. Coloca la lámina extensora en un ángulo de 45° y desliza sobre el portaobjetos hacia el extremo sin esmeril para realizar el extendido fino.

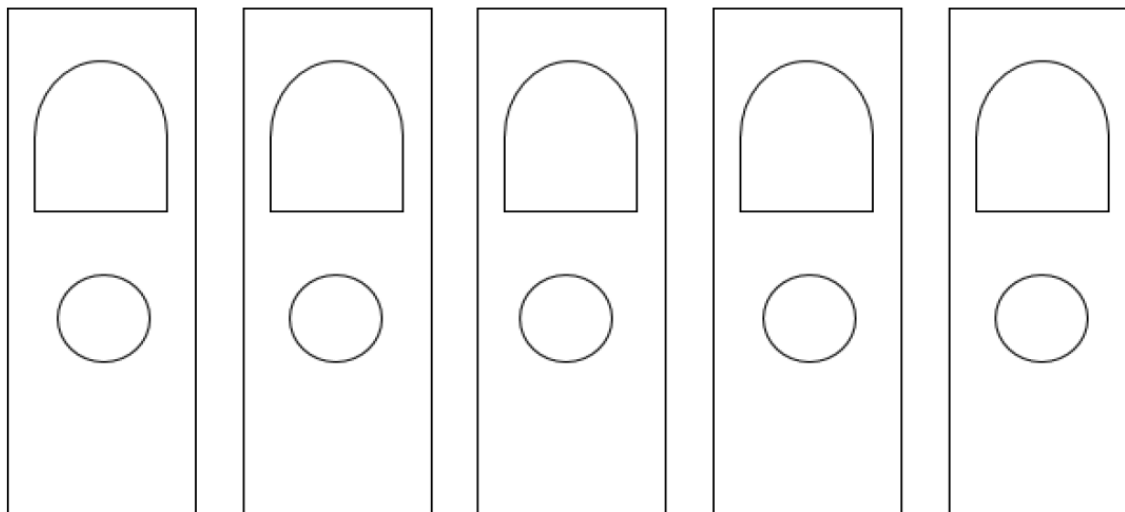




Figura 4. Plantilla para confección de gota gruesa y frotis en portaobjetos esmerilado. Tomado de: INCIENSA, Procedimiento Operativo Estándar para el diagnóstico microscópico de malaria CNRP-LM-PE05, Versión 4.

- 7. Deja secar las láminas en posición horizontal protegidas de la luz, insectos y polvo (en caso de urgencia se puede acelerar el secado utilizando incubadora a 37°C por una hora. Cada laboratorio dependiendo de las condiciones climatológicas debe estandarizar el tiempo de secado de las láminas).
- 8. Fija únicamente el extendido sanguíneo (frotis), sumergiendo la porción de la lámina

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 33 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

que lo incluya en metanol contenido en recipiente de boca ancha, de manera que el frotis quede completamente impregnado y sacarlo de inmediato. Debe dejar la distancia adecuada entre el frotis y gota gruesa para que el metanol no ascienda por capilaridad y fije la gota gruesa.

9. Deja secar la lámina en posición horizontal a temperatura ambiente por 2 a 5 minutos (Si se colocara de manera vertical los vapores del metanol podrían ascender y fijar la gota gruesa).
10. Coloca la lámina en la bandeja para tinción o placa Petri, de manera invertida e inclinada (frotis sanguíneo y gota gruesa para abajo), se recomienda poner un relieve para crear un desnivel y que la gota gruesa esté del lado opuesto (en la parte más baja), de manera que tenga contacto con el colorante.
11. Realiza la tinción de Giemsa según procedimiento en este manual, con el cuidado que no queden burbujas.
12. Una vez finalizado el tiempo de tinción (tiempo de tinción lo estandariza cada laboratorio), levanta la lámina despacio de tal manera que no se desprenda la gota gruesa.
13. En un frasco de boca ancha conteniendo agua de tubo, sumerge y saca cuidadosamente una sola vez la lámina, para retirar el exceso de colorante (nunca lavar directo bajo el chorro de agua porque se desprende la gota gruesa).
14. Limpia por debajo de la lámina y deja secar.
15. Examina las láminas al microscopio con objetivo de inmersión (100 X) para evaluar la calidad de la tinción, verifica la correcta deshemoglobinización y coloración de las estructuras celulares.
16. Procede a realizar el recorrido sistemático de toda la gota gruesa para determinar si hay presencia o ausencia de los diferentes estadios de *Plasmodium* sp. (en caso de presencia de estados evolutivos la identificación de especie de *Plasmodium* se realiza en la gota gruesa y si se desea utilice el frotis para confirmar).
17. ¿Se encontraron formas parasitarias de *Plasmodium* sp.? En caso negativo continua con la actividad 20, en caso afirmativo continua con la actividad 18.
18. Calcula la densidad parasitaria (conteo parasitario) en gota gruesa:
 - 18.1. Inicia el conteo en la parte superior izquierda de la gota gruesa, debe ubicar un campo donde se observe un adecuado número de leucocitos y alguna forma parasitaria para el recuento.
 - 18.2. Utiliza el contador de células para contar la cantidad de parásitos y/o leucocitos observados en cada campo, debe pulsar una tecla del contador para registrar los leucocitos y otra tecla para registrar los parásitos observados.
 - 18.3. Continua el recuento de otros campos microscópicos de manera sistemática, evita repetir campos ópticos. Debe de tener en cuenta las siguientes observaciones:
 - i. Es posible encontrar campos con solo glóbulos blancos o parásitos los cuales deben incluirse en el recuento.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 34 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

- ii. Los estadios asexuados son los trofozoítos y esquizontes, mientras que los estadios sexuados son los gametocitos.
- iii. En infecciones por *Plasmodium falciparum* se cuenta solo los estadios asexuados, y en el caso de las formas sexuadas se notifican, pero no se cuentan.

Criterios para saber el momento en que finaliza el conteo:

- Si al contar 200 leucocitos se han observado 100 o más parásitos deja de contabilizar, y aplica la fórmula para determinar la densidad parasitaria.
 - Si al contar 200 leucocitos se han observado de 0 a 99 parásitos, continúa contabilizando parásitos y leucocitos hasta llegar a 500 leucocitos, y aplica la fórmula para determinar la densidad parasitaria.
 - Cuando la cantidad de leucocitos es mucho menor que los parásitos (cantidad de parásitos duplica la cantidad de leucocitos), contabiliza leucocitos y parásitos hasta llegar a 500 parásitos, y aplica la fórmula para determinar la densidad parasitaria.
- 18.4. Aplica la fórmula para determinar la parasitemia
- Para aplicar la fórmula de densidad parasitaria si no se tiene la cantidad de leucocitos obtenido del hemograma de la persona usuaria este valor se sustituye por 6000.

Fórmula: $\frac{\# \text{ parásitos} \times \# \text{ leucocitos de la persona usuaria (o 6000)}}{\# \text{ leucocitos contados}} = \# \text{ parásitos} / \mu\text{L}$

19. Calcula el porcentaje de parasitemia en el extendido sanguíneo (conteo parasitario en frotis sanguíneo):

19.1. En la parte inferior del frotis (cola) localiza un campo con eritrocitos separados.

19.2. Promedia el conteo de eritrocitos en tres campos con adecuada distribución de células para obtener 10000 eritrocitos.

19.3. Calcula el número de campos que se deben observar para contar 10000 eritrocitos, ejemplo campo 1 con 300 eritrocitos + campo 2 con 310 eritrocitos y campo 3 con 290 eritrocitos, el promedio es de 300 eritrocitos


1 campo → 300 eritrocitos

X campos → 10000 eritrocitos

X = 33 campos microscópicos

19.3.1. En la cantidad de campos microscópicos obtenidos (33 campos en este ejemplo), proceda a contabilizar la cantidad de eritrocitos infectados, mediante recorrido sistemático del extendido.

19.4. Al final del conteo, aplica la siguiente fórmula:

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 35 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

$$\text{Porcentaje de parasitemia} = \frac{\text{Cantidad de eritrocitos parasitados}}{10000} \times 100$$

20. Reporta el resultado de la observación de la gota gruesa y el frotis sanguíneo:
- 20.1. Para una muestra en la que no se observan estadios evolutivos de *Plasmodium* sp se reporta: **No se observa *Plasmodium* sp.**
- 20.2. Para muestras en las que se observan estados evolutivos de *Plasmodium* sp se determina la especie infectante y se reporta la densidad parasitaria como línea base al momento del diagnóstico, posteriormente, se realizan sucesivos conteos de densidad parasitaria en los controles postratamiento, según lo estipulado en el Norma de malaria: **Gota gruesa positiva por (especie identificada) y densidad parasitaria (cantidad de parásitos/ μ L).**
- 20.3. Para infecciones por *Plasmodium falciparum* se agrega el comentario: **Se observaron gametocitos / No se observaron gametocitos**, según corresponda a presencia o ausencia de estos estadios sexuales (la presencia de gametocitos tiene relevancia clínica y epidemiológica, pues indica que la infección tiene más de una semana de evolución). En infecciones por otras especies distintas de *Plasmodium falciparum* no se agrega ningún comentario.

Ejemplo:

Gota gruesa positiva por *Plasmodium falciparum*.


Densidad parasitaria: 4500 parásitos/ μ L.

Se observan gametocitos / No se observan gametocitos.

21. Registra los resultados en el sistema de información.
22. Valida y refrenda los resultados.
23. Envía los resultados a quien corresponda.
24. Notifica todo caso positivo por malaria siguiendo lo establecido en el reglamento de Vigilancia de la Salud vigente. La notificación incluye el resultado obtenido por el laboratorio que realizó el diagnóstico, incluidas la especie y densidad parasitaria.
25. Guarda la lámina para su posterior envío al Centro Nacional de Referencia en Parasitología en INCIENSA, según lo establecido en el procedimiento operativo estándar para el diagnóstico microscópico de malaria CNRP-LM-PE05.
26. Final del procedimiento.

Controles

1. Tubos conteniendo muestras sanguíneas con EDTA adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 36 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

5. Según procedimiento operativo estándar para el diagnóstico microscópico de malaria CNRP-LM-PE05):
 - 5.1. Extendido sanguíneo (frotis):
 - Cola del extendido esté dentro del portaobjetos.
 - 5.2. Gota gruesa:
 - Cantidad de muestra indicada.
 - Distribución de las células de manera regular.
 - 5.3. Tinción:
 - Ver procedimiento de tinción de Giemsa.
 - Realizar la tinción la más rápido posible para que la deshemoglobinización sea más completa.
 - Entre más tiempo se tarde en realizar la tinción, ésta será menos clara.
 - 5.4. Conteo:
 - Realizar de manera sistemática.
 - Evitar sobreposición de campos de conteo.
 - 5.5. Control de calidad indirecto:
 - Enviar el 100% de láminas con observación de *Plasmodium* sp y el 10% de las láminas en las que no se observó *Plasmodium* sp.

9.11. Técnica de Baermann


Objetivo: Separar larvas de helmintos encontradas en materia fecal, para su posterior identificación.

Insumos, equipos y reactivos.


1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, instrucciones para la recolección de la materia fecal, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: agua de tubo o solución salina 0,85% a temperatura de 35°C a 37°C.
4. Insumos de laboratorio: espátula o bajalenguas de madera, palillos de madera limpios (sin torunda), papel absorbente, embudo, gasa, cedazo o malla de alambre fino, pipetas tipo Pasteur, beaker o recipiente de boca ancha.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible, centrífuga, pie universal con anillo.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con la documentación (formulario de solicitud o lista de trabajo).

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 37 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Prepara los materiales necesarios para el análisis correspondiente (embudo, pie universal, cedazo o malla, agua o solución salina 0,85% a temperatura de 35°C a 37°C, recipiente recolector).
6. Coloca el embudo en el pie universal y el cedazo sobre el embudo. En caso de no contar con estos insumos se sugiere utilizar un frasco de orina o botella de plástico limpia y cortada en la parte superior con colador pequeño de cocina.
7. Llena poco a poco el embudo con agua o solución salina 0,85% a temperatura de 35°C a 37°C.
8. Coloca suficiente cantidad de muestra (tamaño de una semilla de durazno) sobre la gasa y ésta sobre el cedazo. También se puede realizar sin el cedazo en caso de no contar con éste.
9. Deja reposar la preparación por al menos una hora.
10. Recoge el líquido del embudo en un beaker o recipiente de boca ancha.
11. Trasvasa el líquido obtenido en tubos de ensayo o cónicos para posterior centrifugación.
12. Centrifuga a 1500 rpm por 5 minutos.
13. Decanta y descarta el sobrenadante.
14. Con pipeta tipo Pasteur toma una gota del sedimento y lo coloca entre portaobjetos y cubreobjetos.
15. Examina la preparación con el lente objetivo de 10 X en busca de larvas de helmintos.
16. ¿Se observan larvas? Si la respuesta es afirmativa continua con la actividad 17, si es negativa continua con la actividad 18.
17. Realiza la identificación de la larva con base en esófago (rabditiforme o filariforme), vestíbulo bucal (corto o largo), primordio genital (evidente o no evidente) y cauda (aguzada o tetrafurcada) (Anexo 2).
18. Reporta de la siguiente manera:
 - No se observan larvas de helmintos: **No se observan larvas de *Strongyloides stercoralis* o de Uncinarias (*Necator americanus* / *Ancylostoma duodenale*).**
 - Si observa larvas de helmintos: **Se observan larvas de *Strongyloides stercoralis* o de Uncinarias (*Necator americanus* / *Ancylostoma duodenale*).**
19. Registra los resultados en el sistema de información
20. Valida y refrenda los resultados.
21. Envía los resultados a quien corresponda.
22. Final del procedimiento.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 38 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

Controles

1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.12. Técnica de Knott (para la búsqueda de microfilarias de *Wuchereria bancrofti*).


Objetivo: Realizar el procedimiento para la detección de microfilarias en sangre periférica.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: sangre total recolectado en tubo con EDTA (se puede utilizar sangre con citrato o heparina).
3. Reactivos: aceite de inmersión, formalina al 2%, colorante Giemsa, buffer, azul de metileno o azul cresil brillante.
4. Insumos de laboratorio: portaobjetos, cubreobjetos, recipientes para descarte de material punzocortante, pipetas tipo Pasteur.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con la documentación (formulario de solicitud o lista de trabajo).
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Coloca 1 mL de sangre más 10 mL de solución acuosa de formalina al 2 % en un tubo de ensayo para iniciar la hemólisis y mezcla por inversión.
6. Centrifuga a 1500 rpm por 5 minutos.
7. Decanta el sobrenadante sin perturbar el sedimento.
8. Transfiere con pipeta tipo Pasteur una porción del sedimento y la coloca en un portaobjetos con cubreobjetos y puede seguir uno de los siguientes procedimientos:
 - 8.1. Observa directamente una gota del sedimento al microscopio entre portaobjetos y

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 39 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

cubreobjetos, además realiza extendido sanguíneo con 10 μ L y tiña con Giemsa, si hay presencia de microfilarias se puede identificar género y especie de la microfilaria.

- 8.2. Observa directamente una gota del sedimento al microscopio entre portaobjetos y cubreobjetos con alguno de los colorantes intraviales como azul de metileno o azul cresil brillante (1:10000 en solución salina al 0,85 %), además realiza extendido sanguíneo con 10 μ L y tiñe según la técnica de Giemsa, si hay presencia de microfilarias identifica por género y especie de la microfilaria.
9. Registra los resultados en el sistema de información.
10. Valida y refrenda los resultados.
11. Envía los resultados a quien corresponda.
12. Final del procedimiento.

Controles

1. Tubo con muestra sanguínea con EDTA, adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.13. Técnica de Ritchie.


Objetivo: Analizar mediante concentración de la muestra fecal la búsqueda de quistes y ooquistes de protozoarios y huevecillos de helmintos para el diagnóstico y tratamiento.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: solución salina 0.85 % o agua, formalina 10%, éter.
4. Insumos de laboratorio: palillos de madera limpios (sin torunda), portaobjetos, cubreobjetos, recipiente para descarte de palillos de madera utilizados y/o portaobjetos, gasa, beaker o recipiente de boca ancha, tubos de vidrio 13 X 100 mm con tapón.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades


1. Inicio del procedimiento.
2. Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con la documentación (formulario de solicitud o lista de trabajo).

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 40 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Coloca aproximadamente 1 g de muestra fecal en un beaker pequeño o frasco de boca ancha (capacidad de 50 mL a 100 mL).
6. Desmenuza la muestra fecal con la ayuda de aplicadores.
7. Realiza una suspensión de la muestra fecal con agua o solución salina 0.85%.
8. Filtra a través de la gasa y el filtrado se recolecta en un tubo de vidrio 13 mm x 100 mm con tapón.
9. Centrifuga el filtrado obtenido a 2000 rpm durante 2 minutos.
10. Decanta el sobrenadante.
11. Realiza una suspensión de la muestra fecal con agua o solución salina 0.85%.
12. Centrifuga el filtrado obtenido a 2000 rpm durante 2 minutos.
13. ¿El sobrenadante obtenido es claro? En caso negativo repite desde la actividad 10, en caso afirmativo continua con la actividad 14.
14. Decanta el sobrenadante.
15. Agrega al sedimento obtenido 4 mL de formalina al 10 %, homogeniza y deja reposar por 5 minutos.
16. Agrega 3 mL de éter, tapa el tubo y agita vigorosamente (manualmente o con ayuda de agitador eléctrico).
17. Destapa el tubo y centrifuga a 3000 rpm durante 3 minutos.
18. Rompe el tapón de detritos con la ayuda de un aplicador.
19. Decanta el sobrenadante.
20. Coloca una gota del sedimento entre portaobjetos y cubreobjetos.
21. Realiza la observación al microscopio en busca de quistes y/u ooquistes de protozoarios o huevecillos de helmintos.
22. Reporta de la siguiente manera:
 - Si se observa parásitos: **Se observa la presencia de quistes, ooquistes y/o huevecillos (género y especie del protozooario o helminto).**
 - No se observan parásitos: **No se observan parásitos.**
23. Registra los resultados en el sistema de información.
24. Valida y refrenda los resultados en el sistema de información.
25. Envía los resultados a quien corresponda.
26. Final del procedimiento.

Controles

1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 41 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.14. Técnica de Strout.


Objetivo: Concentrar parásitos de *Trypanosoma cruzi* en sangre periférica, para diagnóstico de Enfermedad de Chagas.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: sangre venosa recolectada en tubo sin aditamentos (tubo de tapa roja sin gel).
3. Insumos de laboratorio: pipetas desechables tipo Pasteur, portaobjetos, cubreobjetos, palillos de madera, recipientes de descarte de material punzocortante y biopeligroso.
4. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible y centrífuga.
5. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Revisa la identificación de la muestra con la solicitud de análisis clínico, y la hora de toma de muestra.
3. ¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación? En caso negativo continua con la actividad 4, en caso afirmativo continua con la actividad 5.
4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Deja coagular la muestra de sangre extraída, de 45 minutos a 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Extrae el coágulo con ayuda de palillos de madera, lo deposita en recipiente de material biopeligroso.
7. Centrifuga la primera vez el suero de 800 rpm a 1000 rpm, durante 2 a 5 minutos para sedimentar los glóbulos rojos que pudieran quedar e interferir con el análisis.
8. Con pipeta tipo Pasteur o micropipeta separa el sobrenadante en otro tubo de ensayo limpio.
9. Centrifuga por segunda vez el sobrenadante entre 2000 rpm – 2500 rpm durante 10 minutos.
10. Separa el sobrenadante.
11. Utiliza el sedimento para examinar al fresco entre portaobjetos y cubreobjetos (se recomienda hacer de 6 a 8 preparaciones y mantenerlas en cámara húmeda para evitar desecación).

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 42 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

12. Observa el sedimento con lente objetivo de 10 X en busca de tripomastigotos activos de *Trypanosoma cruzi* y confirmar en lente de 40 X.
13. Reporta la presencia o ausencia de tripomastigotos de *Trypanosoma cruzi* activos en la preparación al fresco de la siguiente manera:
 - En caso afirmativo: **Se observan tripomastigotos de *Trypanosoma cruzi*.**
 - En caso negativo: **No se observan tripomastigotos de *Trypanosoma cruzi*.**
14. Registra los resultados en el sistema de información.
15. Valida y refrenda el informe de resultados.
16. Envía los resultados a quien corresponda.
17. Final del procedimiento.

Controles

1. Tubo con muestra sanguínea sin anticoagulante ni gel (tubo tapón rojo) adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.15. Técnica sedimentación con agua.


Objetivo: Concentrar quistes u ooquistes de protozoarios y huevecillos de helmintos en muestras de heces para el diagnóstico y tratamiento.

Insumos, equipos y reactivos.

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: agua destilada.
4. Insumos de laboratorio: palillos de madera limpios (sin torunda), portaobjetos, cubreobjetos, recipiente para descarte de palillos de madera utilizados y/o portaobjetos, tubos de vidrio 13 X 100 mm con tapón, pipetas desechables tipo Pasteur.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible y centrifuga.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Coloca 1 g de muestra fecal (tamaño de una semilla nuez) si la muestra es sólida o 7 mL si la muestra es líquida, en un tubo de ensayo o cónico.
3. Desmenuza la muestra con la ayuda de palillos de madera.
4. Realiza una suspensión de la muestra de heces con agua destilada.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 43 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</i></p>

5. Filtra a través de una gasa en otro tubo cónico o en un recipiente adecuado.
6. Coloca 1 mL del filtrado fecal en otro tubo de ensayo o cónico.
7. Agrega 3 mL de agua destilada.
8. Centrifuga a 2500 rpm durante 5 minutos.
9. ¿El sobrenadante obtenido es claro? En caso negativo continua con la actividad 10, en caso afirmativo continua con la actividad 11.
10. Decanta el sobrenadante y repite desde la actividad 7.
11. Coloca una gota del sedimento entre portaobjetos y cubreobjetos.
12. Realiza el análisis microscópico para la búsqueda de quistes u ooquistes de protozoarios, huevecillos y/o larvas de helmintos.
13. Reporta de la siguiente manera:
 - En caso de presencia de parásitos: **Se observa la presencia de quistes u ooquistes de protozoarios, huevecillos y/o larvas de (género y especie).**
 - En ausencia de parásitos: **No se observan parásitos.**
14. Registra los resultados en el sistema de información.
15. Valida y refrenda los resultados del estudio realizado en el sistema de información.
16. Envía los resultados a quien corresponda.
17. Final del procedimiento.

Controles


1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.16. Tinción de Koster modificado para detección de *Cryptosporidium* sp.

Objetivo: Diagnosticar *Cryptosporidium* sp. en muestras de heces a partir de la observación de ooquistes.

Insumos, equipos y reactivos.

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: verde malaquita 5%, alcohol sulfúrico 0.1% y alcohol metílico, solución saturada de safranina, solución de KOH al 5,6%.
4. Insumos de laboratorio: palillos de madera limpios (sin torunda), portaobjetos, recipiente para descarte de palillos de madera utilizados y/o portaobjetos.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 44 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>


Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Realiza un frotis con un palillo de madera sobre un portaobjetos limpio y lo deja secar bien. Se sugiere realizar de tres (3) a cuatro (4) extendidos para aumentar la posibilidad de observar los ooquistes.
3. Descarta el palillo de madera en recipiente destinado para tal efecto.
4. Fija los frotis con alcohol metílico por 5 minutos.
5. Deja secar hasta que se elimine el alcohol metílico.
6. Tiñe por 5 minutos con solución saturada de safranina (una mezcla de 2 partes de una solución acuosa saturada de safranina más 5 partes de solución de KOH al 5,6%).
7. Lava el extendido con agua destilada.
8. Decolora con H₂SO₄ al 0,1% por 10 segundos.
9. Lava la preparación con agua destilada.
10. Contrasta con solución acuosa de verde de malaquita al 5% por 15 segundos.
11. Lava el frotis con agua destilada y deja secar la preparación al aire.
12. Realiza el análisis microscópico para la búsqueda de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. los cuales se observan de color rojo pálido contra fondo verde, visualizando los esporozoitos dentro del ooquiste.
13. Reporta de la siguiente manera:
 - En caso de presencia se reporta: **Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* sp.**
 - En ausencia se reporta: **No se observan ooquistes de *Cryptosporidium* sp.**
14. Valida y refrenda el informe de resultados.
15. Envía los resultados a quien corresponda.
16. Final del procedimiento

Observación: El uso de esta tinción aplica para otros coccidios como *Cyclospora cayetanensis* y *Cystoisospora belli*.

Controles

1. Grosor del frotis, delgado, homogéneo y de la parte mucosa de la muestra fecal.
2. Informe de resultados.
3. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
4. Informes de criterios de rechazo.
5. Informes de resultados emitidos.
6. Listas de trabajo.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 45 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

9.17. Tinción de Giemsa.

Objetivo: Observar la morfológica de elementos celulares y/o parásitos presentes en muestras sanguíneas, materia fecal, raspado de piel, y fluidos biológicos.


Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: aceite de inmersión, colorante de Giemsa, buffer pH 7.2, metanol.
4. Insumos de laboratorio: portaobjetos, recipientes de descarte de material punzocortante.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio de procedimiento.
2. Rotular el portaobjetos.
3. Realiza el frotis de la muestra analizada.
4. Deja secar.
5. Fija por 5 minutos en metanol.
6. Deja secar hasta eliminación de metanol.
7. Realiza dilución 1/10 del colorante (1 porción de colorante + 9 porciones de buffer 1X pH 7.2).
8. Coloca sobre la muestra a teñir.
9. Deja teñir (se sugieren los siguientes tiempos) por:
 - 9.1. 5 minutos para frotis de materia fecal.
 - 9.2. 30 minutos para frotis por *Leishmania* y fluidos biológicos.
 - 9.3. El tiempo requerido según la estandarización para cada laboratorio en el caso de gota gruesa.

Nota: cada laboratorio debe estandarizar sus tiempos de tinción según el lote de reactivo.
10. Lavar con agua de tubo.
11. Deja secar al aire.
12. El Microbiólogo valora la calidad de la tinción.
13. ¿Los elementos celulares y patógenos observados cumplen el control de calidad? En caso negativo reinicia con la actividad 2. En caso afirmativo continuar con la actividad 14.
14. Observa el frotis en busca de elementos celulares, protozoarios o helmintos presentes en la muestra.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 46 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

15. Registra los resultados en el sistema de información.
16. Valida y refrenda el informe de resultados.
17. Envía los resultados a quien corresponda.
18. Final del procedimiento.

Controles


1. Tubo con muestra sanguínea con EDTA (tubo tapón morado) adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.
5. Para la verificación de calidad del colorante se pueden utilizar frotis sanguíneos para evaluar macroscópicamente el frotis será de color púrpura y microscópicamente la tinción de las células.
6. Las diferentes células o estructuras celulares deben teñirse de la siguiente manera:
 - Eritrocitos de color rosado.
 - Leucocitos con núcleo de color violeta o morado.
 - Citoplasma de:
 - Linfocitos de color azul-celeste.
 - Monocitos de color violeta.
 - Granulocitos de color rosado.
 - Plaquetas de color rosado oscuro.
 - Bacterias de color azul.
 - Parásitos
 - Citoplasma de color azul.
 - Núcleo de color rojo.

9.18. Tinción de Ziehl Neelsen.

Objetivo: Observar organismos alcohol ácido resistente en heces, como ooquistes de coccidios de *Cyclospora cayetanensis*, *Cystoisospora belli* y *Cryptosporidium* sp.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, etcétera.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: aceite de inmersión, fucsina fenicada o carbolfucsina, alcohol ácido al 3%, azul de metileno.
4. Insumos de laboratorio: portaobjetos, recipientes de descarte de material punzocortante.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 47 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Rotula portaobjetos.
3. Realiza el frotis de la muestra de heces que no quede muy grueso.
4. Deja secar al aire.
5. Fija en metanol por 5 minutos.
6. Deja secar al aire.
7. Coloca carbolfucsina o fucsina fenicada sobre el frotis y calienta por 5 minutos con ayuda de mechero (debe haber emisión de vapor sin llegar a hervir).
8. Lava con agua de tubo y escurre.
9. Decolora con alcohol ácido por 1 minuto.
10. Lava con agua de tubo y escurre.
11. Realiza contratinción con azul de metileno por dos minutos.
12. Lava con agua de tubo y deja secar al aire.
13. Observa el frotis en busca de organismos alcohol ácido resistentes (en este caso ooquistes de *Cryptosporidium sp*, *Cyclospora cayetanensis* o *Cystoisospora belli*).
14. Registra los resultados en el sistema de información.
15. Valida y refrenda el informe de resultados.
16. Envía el informe de resultados a quién corresponda.
17. Final del procedimiento.

Controles


1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.19. Tinción modificada de Ziehl Neelsen.

Objetivo: Observar organismos alcohol ácido resistente en heces, como ooquistes de coccidios de *Cyclospora cayetanensis*, *Cystoisospora belli* y *Cryptosporidium sp*.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, etcétera.
2. Muestra: materia fecal.
3. Reactivos: aceite de inmersión, fucsina fenicada o carbolfucsina, alcohol ácido al 3%, azul de metileno.
4. Insumos de laboratorio: portaobjetos, recipientes de descarte de material

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 48 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

punzocortante.

5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Rotula portaobjetos.
3. Realiza el frotis de la muestra de heces que no quede muy grueso.
4. Deja secar al aire.
5. Fija en metanol por 5 minutos.
6. Deja secar al aire.
7. Coloca carbolfucsina o fucsina fenicada sobre el frotis por 5 minutos.
8. Lava con agua de tubo y escurre.
9. Decolora con alcohol ácido por 1 minuto.
10. Lava con agua de tubo y escurre.
11. Realiza contratinción con azul de metileno por dos minutos.
12. Lava con agua de tubo y deja secar al aire.
13. Observa el frotis en busca de organismos alcohol ácido resistentes (en este caso ooquistes de *Cryptosporidium* sp, *Cyclospora cayetanensis* o *Cystoisospora belli*).
14. Registra los resultados en el sistema de información.
15. Valida y refrenda el informe de resultados.
16. Envía el informe de resultados a quién corresponda.
17. Final del procedimiento.

Controles


1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.20. Detección de amebas de vida libre en fluidos biológicos.

Objetivo: Buscar amebas de vida libre (*Naegleria fowleri* o *Acanthamoeba* sp) en las muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR), úlcera o raspado corneales.

Insumos, equipos y reactivos


1. Suministros de oficina: formulario institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: LCR, úlcera corneal, raspado corneal.
3. Reactivos: solución salina, agua estéril, colorante de Giemsa.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 49 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

4. Insumos de laboratorio: portaobjetos, cubreobjetos, recipientes de descarte de material punzocortante, papel Tipo Parafilm, tubos de ensayo.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible, centrífuga, incubadora, cámara cuenta células (cámara de Neubauer).
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Revisa la identificación de la muestra con la solicitud de análisis clínico.
3. Revisa ¿cuál es la muestra enviada? Si es LCR continua con actividad 4, si es tejido corneal (úlceras o raspado) continua con actividad 14.
4. Determina la cantidad total de LCR enviado, se recomienda al menos 1 mL de muestra de LCR para el análisis (la muestra no debe refrigerarse, permaneciendo a temperatura ambiente antes, durante y después del análisis y se procede a reservar entre 200 uL - 300 uL para cultivo y/o realizar pruebas moleculares (PCR).
5. Coloca 30 µL de LCR en cámara de Neubauer cuenta y reporta la celularidad.
6. Revisa si hay presencia de trofozoítos con movimiento por medio de pseudópodos.
7. Centrifuga la muestra 5 minutos a 1000 rpm.
8. Descarta el sobrenadante.
9. Coloca una gota del sedimento entre portaobjetos y cubreobjetos.
10. Observa al microscopio en 10 X y 40 X, en busca de amebas de vida libre. Los trofozoítos, se pueden presentar con movimiento por medio de lobópodos (pseudópodos anchos) o acantopodios (pseudópodos finos).
11. ¿Observa trofozoítos de amebas en el sedimento?
 - En caso negativo reporta “No se observan amebas de vida libre”. Continúa con reporte. Continúa con la actividad 19.
 - En caso positivo, el Microbiólogo informa inmediatamente al médico, y continúa con la actividad 12.
12. Realiza la prueba de exflagelación para determinar el posible género:
 - 12.1. Coloca una gota del sedimento que contiene las amebas.
 - 12.2. Añada 1 mL de agua destilada estéril.
 - 12.3. Agita suavemente el tubo.
 - 12.4. Sella el tubo con papel tipo Parafilm.
 - 12.5. Incuba a 37°C - 42°C por 3 horas.
 - 12.6. Examina periódicamente cada 40 minutos para buscar formas flageladas.
 - 12.7. ¿Se encuentran formas flageladas? En caso afirmativo informa y reporta: **Presencia de posible *Naegleria fowleri***. En caso negativo reporta: Presencia de posible ameba de vida libre.
13. Coordina con la Cátedra de Protozoología de la Facultad de Microbiología, UCR, el envío de la muestra para realización de técnicas moleculares y/o cultiva en medio Page.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 50 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

Continúa con actividad 19.

14. El Microbiólogo corta con bisturí de manera estéril el tejido recibido y lo coloca en un tubo de ensayo con 0.5 mL a 1 mL de PBS o solución salina estéril.
15. Agita para facilitar la dispersión de la muestra por 1 minuto hasta homogenizar bien (puede utilizarse un vortex).
16. Centrifuga por 10 minutos a 5000 rpm.
17. Descarta sobrenadante.
18. Realiza con el sedimento obtenido:
 - 18.1. Frotis al fresco: se pueden observar trofozoítos y/o quistes. Los quistes se observan con pared quística doble, sugiriendo *Acanthamoeba* sp.
 - 18.2. Frotis para teñir con Giemsa u otros colorantes disponibles se pueden observar trofozoítos y/o quistes. Los quistes se observan con pared quística doble, cuyo endocisto (capa interna) puede tener variedad de formas (estrellada, hexagonal, redondeada), sugiriendo *Acanthamoeba* sp.
 - 18.3. Cultivo en medio Page y/o envía a UCR para realizar PCR.
19. Registra los resultados en el sistema de información.
20. Valida y refrenda los resultados.
21. Envía los resultados a quien corresponda.
22. Fin de procedimiento.

Observaciones


1. Todo LCR debe analizarse por amebas de vida libre, en especial si existen antecedentes epidemiológicos relacionados.
2. El MQC puede coordinar y enviar la muestra a la Cátedra de Protozoología de la UCR para realizar PCR. La muestra puede mantenerse 37°C y el envío debe hacerse lo antes posible dentro de las primeras 24 horas a temperatura ambiente (nunca enviar en frío).
 Contactos UCR: teléfonos: 25118586 / 25114779, correo electrónico: elizabeth.abrahams@ucr.ac.cr o lissette.retanamoreira@ucr.ac.cr

Controles

1. Tubo con muestra de LCR o muestras oculares (úlceras o raspados corneales) adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.21. Cultivo por amebas de vida libre.

Objetivo: Aislar amebas de vida libre (*Naegleria fowleri* o *Acanthamoeba* sp) en las muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) o raspado corneal, para diagnóstico.

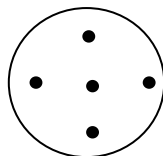
	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 51 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

Insumos, equipos y reactivos


1. Suministros de oficina: rotuladores, etiquetas adhesivas, impresora, etcétera.
2. Muestra: sedimento de LCR o raspado de córnea.
3. Reactivos: medio Page o agar agar, cultivo de *Escherichia coli*.
4. Insumos de laboratorio: placas de Petri, recipientes de descarte de material punzocortante, estándar de turbidez de 0.5 McFarland.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio de procedimiento.
2. Recibe sedimento obtenido del procedimiento Detección de amebas de vida libre en fluidos biológicos.
3. Pone a atemperar 2 o más placas con medio Page o agar agar por 30 minutos.
4. Rotula las placas con marcador indeleble en la base de ésta, no debe rotularse en la tapa, y se señala en la base de la placa 5 puntos equidistantes según el bosquejo siguiente:



5. Realiza una suspensión de *Escherichia coli* semejante al 0.5 McFarland, en 0.5 mL es solución salina estéril.
6. Realiza rayado confluyente con ayuda torunda estéril impregnada con la suspensión de *Escherichia coli*, en 3 direcciones sobre la superficie del medio Page (sin romper el medio de cultivo)
7. Coloca en las zonas marcadas 1 gota del sedimento del LCR.
8. Sella la placa con papel tipo Parafilm para que no se seque.
9. Incuba a temperatura ambiente por 7 días.
10. Revisa cada 24 horas con ayuda del lente de 4 X o 10 X. del microscopio de luz, buscando trofozoítos y/o quistes.
11. ¿Observa trofozoítos y/o quistes de amebas de vida libre? En caso negativo a los 7 días se reporta “No se cultivaron amebas de vida libre”. En caso positivo se reporta “Presencia de amebas de vida libre” y se envía a la UCR para la identificación.
12. Registra los resultados en el sistema de información.
13. Valida y refrenda los resultados.
14. Envía los resultados a quien corresponda.
15. Fin de procedimiento.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 52 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

Observaciones

1. El MQC puede coordinar y enviar la muestra a la Cátedra de Protozoología de la UCR para realizar PCR (reacción en cadena de polimerasa). La muestra puede mantenerse a 37°C y el envío debe hacerse lo antes posible dentro de las primeras 24 horas a temperatura ambiente (nunca enviar en frío). Contactos UCR: Teléfonos: 25118586 / 25114779, correo electrónico: elizabeth.abrahams@ucr.ac.cr o lissette.retanamoreira@ucr.ac.cr.

Controles

1. Tubo con muestra de LCR o muestras oculares (úlceras o raspados corneales) adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo

9.22. Diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*.


Objetivo: Determinar la presencia de *Trichomonas vaginalis* en secreción vaginal o secreción prostática.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etcétera.
2. Muestra: secreción vaginal, o secreción prostática recolectada con hisopo de alginato en un volumen de 0.5 mL – 1 mL de solución salina estéril y entregada de forma inmediata.
3. Reactivos: solución salina estéril.
4. Insumos de laboratorio: hisopo estéril de alginato, portaobjetos, cubreobjetos, recipiente para descarte de palillos de madera utilizados y/o portaobjetos.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Recibe el formulario de solicitud y muestra.
3. Revisa la identificación de la muestra con la documentación (formulario de solicitud o lista de trabajo).
4. ¿Concuerda la solicitud de análisis con la identificación de la persona usuaria? En caso negativo continuar con la actividad 5, en caso afirmativo continuar con la actividad 6.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 53 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

5. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
6. Transfiere una gota de la muestra a un portaobjetos, le coloca un cubreobjetos y lo observa en el microscopio de luz visible con el lente de 10 X o 40 X.
7. ¿Observa trofozoítos de *Trichomonas vaginalis*? En caso negativo reporta: No se observan trofozoítos de *Trichomonas vaginalis*. En caso afirmativo reporta: Se observan trofozoítos de *Trichomonas vaginalis*.
8. Registra los resultados en el sistema de información.
9. Valida y refrenda el informe de resultados.
10. Envía los resultados a quien corresponda.
11. Final del procedimiento.

Controles

1. Tubo con muestra secreción prostática o vaginal, adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.23. Técnica de Graham.


Objetivo: Diagnosticar infecciones por *Enterobius vermicularis* a partir de la observación de huevecillos en la región perianal.

Insumos, equipos y reactivos.


1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, cinta adhesiva transparente incolora, tijeras, impresora, etc.
2. Muestra: zona perianal.
3. Reactivos: no aplica.
4. Insumos de laboratorio: bajalenguas, portaobjetos, recipiente de descarte de bajalenguas, instrucción para la toma de muestra, glicerina.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Recibir a la persona usuaria y se verifica la solicitud de análisis y la identificación de la persona usuaria.
3. ¿Concuerdan la solicitud de análisis con la identificación de la persona usuaria? En caso negativo continuar con la actividad 4 y en caso afirmativo continuar con la actividad 5.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 54 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</i></p>

4. Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología. Final del procedimiento.
5. Explica el procedimiento a seguir y valida si la persona usuaria y/o tutor en el caso de un menor de edad comprende y acepta el procedimiento.
6. ¿La persona usuaria y/o tutor en el caso de un menor de edad comprende y acepta el procedimiento? En caso negativo no se realiza el procedimiento y se continua con la actividad 20, en caso afirmativo continua con actividad 7.
7. ¿La persona usuaria acude con las condiciones solicitadas previamente (sin bañar, sin defecar y sin uso de crema o talco en la región perianal)? En caso negativo continuar con la actividad 8 y en caso afirmativo continuar con la a actividad 9.
8. Explica a la persona usuaria nuevamente la instrucción y lo devuelve a la ventanilla para asignación de cita nuevamente. Final del procedimiento.
9. Traslada a la persona usuaria al área de toma de muestras especiales. Idealmente durante la toma de la muestra debe estar presente otro funcionario del laboratorio que tenga la función de testigo.
10. Prepara los materiales para la toma de la muestra (cinta adhesiva, bajalenguas y/o portaobjetos).
11. Con las manos limpias coloca cinta adhesiva en el extremo de un bajalenguas y/o portaobjetos con la parte adhesiva expuesta (goma hacia afuera).
12. Le indica a la persona usuaria que se ponga en posición de decúbito (4 puntos) exponiendo la región glútea.
13. Coloca los guantes.
14. Separa los glúteos de la persona usuaria con una mano y con la otra toca repetidamente alrededor de la región perianal y anal con la superficie adhesiva según indicado en el punto 11.
15. Coloca la cinta adhesiva sobre un portaobjetos con la goma hacia el portaobjetos evitando la formación de burbujas de aire para su posterior análisis (toma al menos 3 muestras para cubrir la mayor superficie perianal y anal).
16. Indica a la persona usuaria la finalización de la toma de la muestra y traslada la muestra a la División de Parasitología.
17. Si es necesario en uno de los portaobjetos ya con muestra coloca glicerina para que difunda por capilaridad y clarificar la muestra.
18. Revisa el portaobjetos con la cinta adhesiva en el microscopio en lente de 10X de forma sistemática en sentido direccional toda la cinta adhesiva adherida al portaobjetos para la búsqueda de huevecillos de *Enterobius vermicularis* y confirma en 40X
19. ¿Observa huevecillos de *Enterobius vermicularis*? En caso negativo se reporta: **No se observan huevecillos de *Enterobius vermicularis***. En caso afirmativo reporta: **Se observan huevecillos de *Enterobius vermicularis***.
20. Registra los resultados en el sistema de información.
21. Valida y refrenda los resultados.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 55 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

22. Envía los resultados a quien corresponda.
23. Final del procedimiento.

Controles

1. Informes de criterios de rechazo.
2. Informes de resultados emitidos.
3. Listas de trabajo.
4. Cinta adhesiva de buena calidad y adherencia.

9.24. Toma de muestra para diagnóstico de leishmaniosis cutánea.


Objetivo: Obtener material adecuado para la búsqueda de amastigotos de *Leishmania* sp.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: lesión de piel.
3. Reactivos: solución salina estéril 0,85 %, colorante Giemsa, colorante Wright.
4. Insumos de laboratorio: hojas de bisturí # 10 (idealmente de punta redonda), gasa, jabón líquido antiséptico, alcohol 70 %, portaobjetos, recipientes de descarte de material punzocortante.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Recibe el formulario de solicitud, se coloca el equipo de protección personal, se atiende a la persona usuaria y se inspecciona las lesiones.
3. Entrevista a la persona usuaria para valorar epidemiología de *Leishmania* sp: el tiempo de inicio de la lesión, si es primera vez, cantidad de lesiones, si hubo alguna picadura de insecto, lugares de residencia, trabajo y visitados recientemente.
4. Consulta si está usando antibiótico o tratamiento tópico. En caso negativo continua con la actividad 5, en caso positivo se vuelve a citar a la persona usuaria 1 semana después de finalizado el tratamiento.
5. Se realiza limpieza de la lesión de la siguiente manera:
 - Primero: con gasa, limpia con agua y jabón
 - Segundo: limpia con alcohol yodado (opcional)
 - Tercero: limpia con alcohol de 70°
 - Cuarto: limpia con agua destilada estéril y se quita la costra (grano).
6. Procede a la toma de la muestra, con la ayuda de una hoja de bisturí raspa la parte

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 56 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

- interna del borde activo de la úlcera, si sangra, limpia con gasa y presiona para hacer estasis sanguínea (interrupción del sangrado).
7. Realiza, por cada lesión, tres improntas en cada portaobjetos (al menos 3 portaobjetos), cada una de ellas debe ser un frotis de manera circular.
 8. Deja secar a temperatura ambiente por 10 minutos y luego 15 minutos sobre secador de láminas (si no tiene secador de láminas secar 1 hora a temperatura ambiente)
 9. Fija con metanol por 5 minutos.
 10. Realiza la tinción con colorante de Giemsa.
 11. Realiza la observación de los frotis con el objetivo de 100X.
 12. Reporta el resultado:
 - 12.1. No observa amastigotos: **No se observan amastigotos de *Leishmania sp.***
 - 12.2. Sí observa amastigotos: **Se observan amastigotos de *Leishmania sp.***
 13. Registra el resultado del análisis realizado en el sistema de información.
 14. Valida y refrenda el informe de resultados.
 15. Envía los resultados a quien corresponda.
 16. Final del procedimiento.

Observación:

Para cultivo o determinación por PCR para *Leishmania sp*, seguir las indicaciones según “Protocolo para la vigilancia de Leishmaniosis en Costa Rica” vigente.

Controles


1. Tinción: ver procedimiento de tinción de Giemsa
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.25. Toma de muestra y diagnóstico de demodicosis.

Objetivo: Obtener material adecuado para la búsqueda de *Demodex sp.*

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: lesión de piel.
3. Reactivos: aceite de inmersión, aceite mineral.
4. Insumos de laboratorio: hojas de bisturí # 10 (idealmente de punta redonda), portaobjetos, cubreobjetos, recipientes de descarte de material punzocortante, saca comedones.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 57 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>


6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Recibe el formulario de solicitud y atiende a la persona usuaria.
3. ¿La persona usuaria se presenta con la cara limpia (sin maquillaje, sin protector solar o crema tópica)? En caso negativo solicita a la persona usuaria que se lave la cara y la seque con papel toalla y continúa con la 4. En caso positivo revisa la(s) lesión(es) según el punto 4.
4. Revisa la(s) lesión(es) según corresponda:
5. Colecta la muestra, según corresponda y deposita en el portaobjetos:
 - a. Glándulas sebáceas: obtener secreciones frescas de las glándulas sebáceas mecánicamente con los dedos índice y pulgar o con un saca-comedones.
 - b. Piel: raspado intenso de la piel con una hoja de bisturí #10 abarcando 1 cm².
 - c. Pestañas: extrae con una pinza 10 pestañas, 5 de cada ojo alternando entre párpado inferior y párpado superior.
6. Añade una gota de aceite de inmersión o aceite vegetal y coloca el cubreobjetos encima.
7. Realiza la observación de los frotis con el microscopio de luz visible con el lente de 10 X y confirma con lente de 40 X.
8. ¿Observa ectoparásitos? En caso afirmativo continúa con la actividad 9, en caso negativo continúa con la actividad 10.
9. Calcula la cantidad de parásitos utilizando el índice de infestación según el sitio anatómico (pestañas o piel). El índice de infestación se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de infestación piel} = \frac{\text{Número de } \textit{Demodex sp}}{\text{Raspado de piel de 1 cm}^2} = \text{Parásitos por cm}^2$$

$$\text{Índice de infestación pestañas} = \frac{\text{Número de } \textit{Demodex sp}}{\text{Número de pestañas}} = \text{Parásitos por pestaña}$$
10. Reporta los resultados según la observación del ectoparásito:
 - a. No se observa reporta: No se observan *Demodex sp*.
 - b. Sí se observa reporta: Se observa *Demodex folliculorum* (estado evolutivo) y/o *Demodex brevis* (estado evolutivo), e índice de infestación según corresponda
11. Registra los resultados en el sistema de información.
12. Valida y refrenda el informe de resultados.
13. Envía los resultados a quien corresponda.
14. Final del procedimiento.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 58 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

Controles

1. Informes de criterios de rechazo.
2. Informes de resultados emitidos.
3. Listas de trabajo.

9.26. Toma de muestra y diagnóstico (técnica cianoacrilato) de demodicosis.


Objetivo: Obtener material adecuado para la búsqueda de *Demodex sp.*

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: lesión de piel.
3. Reactivos: aceite de inmersión, aceite mineral, adhesivo con cianoacrilato (goma loca).
4. Insumos de laboratorio: portaobjetos, cubreobjetos, recipientes de descarte de material punzocortante.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Recibe el formulario de solicitud y atiende a la persona usuaria.
3. ¿La persona usuaria se presenta con la cara limpia (sin maquillaje, sin protector solar o crema tópica)? En caso negativo solicita a la persona usuaria que se lave la cara y la seque con papel toalla. En caso positivo revisa la(s) lesión(es) a nivel de estrato córneo de piel.
4. Delimita un área de 1 cm² con un marcador indeleble en un portaobjetos.
5. Aplica una gota del cianoacrilato en la cara opuesta de la marca colocada en el portaobjetos.
6. Presiona la cara adhesiva del portaobjeto con el cianoacrilato, sobre la piel por 1 minuto o hasta que el adhesivo se seque.
7. Retira de forma suave el portaobjetos con la muestra obtenida.
8. Coloca aceite de inmersión en la zona del portaobjetos con la muestra y luego coloca el cubreobjetos.
9. Realiza la observación de (los) frotis con el microscopio de luz visible con el lente de 10 X y confirma con lente de 40 X.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 59 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</i></p>

10. ¿Observa ectopárasitos? En caso negativo reporta: **No se observan *Demodex sp.*** En caso afirmativo reporta: **Se observa *Demodex folliculorum* (estado evolutivo) y/o *Demodex brevis* (estado evolutivo)**, y realiza conteo de *Demodex sp* en la zona delimitada en 40 X.
11. Registra el resultado del análisis realizado en el sistema de información.
12. Valida y refrenda el informe de resultados.
13. Envía los resultados a quien corresponda.
14. Final del procedimiento.

Controles

1. Informes de criterios de rechazo.
2. Informes de resultados emitidos.
3. Listas de trabajo.

9.27. Toma de muestra y diagnóstico de escabiosis.


Alcance: Tomar la muestra, realizar el análisis y emitir el informe de resultados.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario Institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: lesión de piel.
3. Reactivos: aceite de inmersión, aceite mineral, KOH 10 %.
4. Insumos de laboratorio: hojas de bisturí #10 (idealmente de punta redonda), portaobjetos, cubreobjetos, recipientes de descarte de material punzocortante.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Se recibe el formulario de solicitud y se atiende a la persona usuaria con el equipo de protección personal e inspecciona las lesiones, surcos, placas dérmicas.
3. Hace un raspado intenso de la(s) lesión(es), surcos, placas dérmicas con un bisturí.
4. Transfiere el contenido a un portaobjetos, lo mezcla con aceite de inmersión, aceite vegetal o KOH 10 %, le coloca un cubreobjetos.
5. Realiza la observación de los frotis en el microscopio de luz visible con el lente de 10 X y 40 X
6. Reporta el resultado según la observación del ectoparásito
 - a. En caso negativo reporta: **No se observan *Sarcoptes scabiei*.**
 - b. En caso positivo reporta **Se observan *Sarcoptes scabiei* y el estado**

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 60 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

evolutivo.

7. Registra el resultado del análisis realizado en el sistema de información.
8. Valida y refrenda el informe de resultados.
9. Envía los resultados a quien corresponda.
10. Final del procedimiento.

Controles

1. Informes de criterios de rechazo.
2. Informes de resultados emitidos.
3. Listas de trabajo.

9.28. Análisis directo por parásitos en muestras de esputo, esputo inducido, aspirado bronquial o lavado bronqueo alveolar.


Objetivo: Analizar la muestra enviada para la búsqueda de parásitos.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, lápiz de cera, lápiz de grafito, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: esputo, esputo inducido, aspirado bronquial o lavado bronqueoalveolar.
3. Reactivo: solución salina 0.85%.
4. Insumos de laboratorio: portaobjetos, cubreobjetos, recipientes de descarte de material punzocortante.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Revisa la identificación de la muestra con la solicitud de análisis clínico.
3. Revisa macroscópicamente si la muestra posee porciones viscosas y/o sanguinolentas.
4. ¿A nivel macroscópico, la muestra tiene porciones viscosas y/o sanguinolentas? En caso positivo continuar con actividad 5. En caso negativo continuar con actividad 12.
5. Coloca 1,0 mL de la muestra en un tubo de 13 X 100 (plástico o vidrio).
6. Agrega a la muestra 1,0 mL del agente mucolítico (NaOH al 2 %, NaOH al 4 % u otro agente mucolítico).
7. Incuba la muestra a temperatura ambiente por 15 minutos.
8. Agrega a la muestra 2,0 mL de buffer de fosfatos (pH 6,8).
9. Centrifuga la muestra a 1 000 rpm por 5 minutos.
10. Decanta el sobrenadante en recipiente que contenga cloro, y el sedimento lo utiliza para realizar el montaje directo.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 61 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

11. Resuspende el sedimento obtenido con 100 µL de solución salina al 0,85 %.
12. Coloca 50 µL de la preparación entre portaobjetos y cubreobjetos.
13. Examina el montaje directo por campo con el lente de 10 X y confirma con el de 40 X para detectar huevecillos o larvas de helmintos (larvas de helmintos tales como: *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis* y huevecillos de *Paragonimus* sp.)
14. Reporta el resultado según la observación larvas y/o huevecillos de helmintos:
 - a. No se observan larvas ni huevecillos reporta: **No se observan larvas ni huevecillos de helmintos.**
 - b. Sí se observa larvas: **Presencia de larvas de helmintos.**
 - c. Sí se observa huevecillos: **Se observan huevecillos de (indicar el nombre del helminto).**
15. Registra el resultado del análisis realizado en el sistema de información.
16. Valida y refrenda el informe de resultados.
17. Envía los resultados a quien corresponda.
18. Final del procedimiento.

Controles

1. Recipientes conteniendo muestras fecales adecuadamente identificadas.
2. Informes de criterios de rechazo.
3. Informes de resultados emitidos.
4. Listas de trabajo.

9.29. Análisis de lesiones furunculares con sospecha de infestación por larvas de moscas de *Dermatobia hominis*.


Objetivo: Buscar larvas de mosca de *Dermatobia hominis*.

Insumos, equipos y reactivos

1. Suministros de oficina: formulario institucional de solicitud de exámenes, rotuladores, etiquetas adhesivas, impresora, etc.
2. Muestra: lesión furuncular en la persona usuaria.
3. Reactivos: solución salina 0.85%, alcohol incoloro de 70.
4. Insumos de laboratorio: portaobjetos, cubreobjetos, recipientes de descarte de material punzocortante, hojas de bisturí, pinzas, vaselina, gasa.
5. Equipo de laboratorio: microscopio de luz visible.
6. Equipo de protección personal: anteojos de seguridad, cubrebocas, gabacha, guantes.

Descripción de las actividades

1. Inicio del procedimiento.
2. Verificar la identificación de la persona usuaria o del recipiente conteniendo el ejemplar

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 62 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

- (larva) enviado con el formulario de solicitud de análisis.
3. ¿Recibe a la persona usuaria o el ejemplar? En caso de recibir a la persona usuaria continuar con la actividad 4. En caso de recibir un ejemplar de larva continuar con la actividad 10.
 4. Traslada a la persona usuaria al área de toma de muestras.
 5. Prepara los materiales para la toma de extracción de la larva (pinza, placa de Petri, vaselina, gasa estéril, alcohol, solución salina).
 6. Coloca gasa impregnada con bastante vaselina sobre el orificio foruncular para sofocar a la larva.
 7. Captura la larva cuando ésta intenta salir a respirar, utilizando pinzas (de ser necesario este procedimiento se realiza en todas las lesiones presentes). Se debe tener cuidado que en el proceso de extracción que la larva no sea fragmentada, además así se facilitar la curación e impide infecciones bacterianas secundarias.
 8. Limpia la lesión con gasa impregnada con alcohol de 70°.
 9. Indica a la persona usuaria la finalización de la toma de la muestra y traslada el ejemplar a la División de Parasitología.
 10. Lava la larva con alcohol de 70° incoloro.
 11. ¿Puede identificar de la larva? En caso negativo continúa con la actividad 12. En caso afirmativo, continúa con actividad 13.
 12. Coordina con la sección de Entomología Médica de la Facultad de Microbiología de la UCR al 2511 5430, para solicitar apoyo en la identificación del artrópodo. Una vez que obtiene respuesta pasa a la actividad 16.
 13. Realiza la identificación de la larva.
 14. Registra los resultados en el sistema de información.
 15. Valida y refrenda los resultados.
 16. Envía los resultados a quien corresponda.
 17. Final del procedimiento.

Controles


1. Informes de criterios de rechazo.
2. Informes de resultados emitidos.
3. Listas de trabajo.

9.30. Examen de heces de triatominos.

En el Capítulo IV “Vigilancia vectorial” de la Norma de atención integral de la Enfermedad de Chagas CIE-10: B57 del Ministerio de Salud se indica que:

“4.2 Denuncia al nivel local de Salud.

Las realizan personas de la comunidad que encuentran insectos en la vivienda. Es

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 63 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

importante que se realice la captura (comunidad o personal) del insecto para su respectiva identificación, y para determinar si está infectado. El insecto debe ser llevado al EBAIS más cercano y estos a su vez enviarlo a INCIENSA, acompañado de la boleta respectiva para ser examinado (Anexo 8).”

9.31. Sospecha de miasis por *Cochliomyia hominivorax* (gusano barrenador).

Según el Lineamiento Nacional para la Vigilancia de Miasis por Gusano Barrenador en Humanos, versión 001, en los casos sospechosos de infección por *Cochliomyia hominivorax*:

“La detección se realiza en la atención en salud (sector privado y público), en los diversos escenarios de consulta directa en los servicios de salud, consulta externa, urgencias o atención comunitaria. El diagnóstico se efectúa con base a los hallazgos clínicos y se confirma con estudios entomológicos.

Los profesionales de salud en los establecimientos públicos y privados que detectan un caso sospechoso deberán completar la ficha de investigación (Apéndice A) e indicar todos los exámenes de laboratorio que amerite, así como, la toma de muestra de los huevecillos y/o larvas en la consulta inicial”.

Al mismo tiempo, Lineamiento Técnico para estandarizar el manejo las personas usuarias con miasis causadas por las larvas del gusano barrenador en la Caja Costarricense de Seguro Social, LT.GM.DDSS.AAIP.210624, sobre la atención y abordaje de casos en la consulta inicial se debe realizar la recepción y evaluación inicial, anamnesis completa, fecha y lugar de aparición de la lesión, síntomas actuales: dolor, secreción, inflamación, fiebre; antecedentes de viajes recientes (especialmente a zonas endémicas), condiciones médicas preexistentes, examen físico.

A la vez que queda a consideración del médico tratante prescribir los siguientes análisis de Laboratorio Clínico:

- “Hemoleucograma completo
- Cultivo de secreciones y tejidos o biopsias según la extensión
- De acuerdo con la extensión o presencia de manifestaciones sistémicas valorar toma de marcadores inflamatorios, hemocultivos, pruebas de coagulación, pruebas de función renal, pruebas de función hepática.
- Proteína C Reactiva”

Con base en lo anterior, la participación del Laboratorio Clínico se limita únicamente a proveer los insumos propios del servicio que puedan requerirse durante la toma de muestra por parte del profesional tratante.



10. Diagramas de flujo

10.1. Examen al fresco o examen directo (solución salina y lugol).

9.1. Examen al fresco o examen directo (solución salina y lugol).							
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones	
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.						
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
4	Identifica con el número de muestra con la etiqueta generada por el Laboratorio Clínico los recipientes conteniendo las muestras fecales						Identificar a nivel lateral (nunca en la tapa) sin cubrir la identificación dada por la persona usuaria.
5	Prepara los materiales necesarios para los análisis correspondientes.						Portaobjetos, cubreobjetos, solución salina, lugol, palillos de madera, lápiz de cera o grafito
6	Analiza las características macroscópicas de la muestra						Consistencia (líquida, pastosa, sólida, escibalos), Color (café, acólica, negro, verdusco, amarillento, rojiza), Aspecto (normal, mucoide, disintérico, granuloso), Apariencia (homogéneo y heterogéneo), Otros hallazgos (hematoquecia, melena, lenteria, esteatorrea).
7	Anota las características macroscópicas observadas donde corresponda						Formulario de solicitud o documento dispuesto para tal efecto. Para las muestras sólidas o pastosas se debe realizar de forma simultánea el procedimiento de Kato.
8	Rotula el portaobjetos con lápiz de cera o lápiz de grafito con la numeración respectiva para realizar el análisis directo.						
9	Coloca en un portaobjetos una gota de solución salina y una gota de lugol, a una distancia tal que no permita que se mezclen las soluciones.						
10	Con un palillo de madera "pica" la muestra fecal en varios sitios de tal manera que en el palillo quede aproximadamente 2 mg de heces.						
11	Mezcla las heces que quedan en el palillo con la solución salina primero y luego con el lugol, haciendo una suspensión no muy gruesa ni muy transparente con la muestra fecal.						Si la muestra de heces es diarrea líquida no mezclar con la solución salina, verla directamente entre portaobjetos y cubreobjetos
12	¿La suspensión de la muestra de heces es la adecuada?						
13	Coloca el cubreobjetos evitando la formación de burbujas o derrames.						
14	Realiza análisis microscópico general de la muestra de heces determinando: parásitos (algún estado evolutivo de protozoarios o helmintos), eritrocitos, leucocitos, cristales de Charcot- Leyden y microbiota.						La revisión se realiza primero en 10 X, observando algún elemento sugestivo, luego se confirma en 40 X para ver características específicas del elemento o parásito.



9.1. Examen al fresco o examen directo (solución salina y lugol). (continuación)						
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	
15	Realiza el informe de resultados con los elementos observados o los estados evolutivos de los parásitos encontrados sean protozoarios (trofozoítos, quistes u ooquistes) o helmintos (huevecillos, proglótidos o larvas).	<pre> graph TD B((B)) --> Box1[] Box1 --> Box2[] Box2 --> Box3[] Box3 --> Box4[] </pre>				<p>Parásitos: Ausencia de parásitos: No se observan parásitos. // Presencia de parásitos: Se observa (n) (indicar el estado evolutivo de (nombre científico bien escrito del parásito). Leucocitos: No se observan.// Pocos (1 a 2 campo de 40 X) // Moderados (3 a 9 por campo de 40 X) // Muchos (10 a 25 campo de 40 X) // Abundantes (más de 25 en campo de 40 X). Eritrocitos: No se observan.//Pocos (1 a 2 campo de 40 X) //Moderados (3 a 9 por campo de 40 X)//Muchos (10 a 25 campo de 40 X)//Abundantes (más de 25 en campo de 40 X). Microbiota: Normal//Alterada (bacterias aumentadas, levaduras aumentadas sin pseudomicelio, levaduras aumentadas y pseudomicelio, bacterias disminuidas).//Ausente. Cristales de Charcot-Leyden: Presencia//Ausencia.</p>
16	Registra los resultados en el sistema de información.					
17	Valida y refrenda el informe de resultados.					
18	Envía los resultados a quien corresponda.					



10.2. Técnica de Kato.

#	Descripción de la actividad	9.2. Técnica de Kato					Observaciones
		Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.						
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
4	¿La condición de la muestra fecal es sólida o pastosa?						
5	No se realiza la técnica de Kato solo examen al fresco (solución salina y lugol).						Final del procedimiento.
6	Prepara los materiales necesarios y rotula el portaobjetos.						Papel absorbente, papel celofán inmerso en solución de Kato al menos 24 horas, palillos o bajalenguas de madera, portaobjetos.
7	Coloca con palillo o bajalenguas de madera, de 50 mg - 60 mg de materia fecal en un portaobjetos.						
8	Descarta el palillo o bajalenguas en recipiente destinado para tal efecto.						
9	Cubre la muestra fecal con una tira de celofán (aproximadamente de 40-50 micrómetros de grosor, de textura suave, 22 x 30 mm de largo), que ha permanecido en el medio aclarador de Kato.						
10	Coloca el portaobjetos con la muestra fecal sobre una servilleta de papel, presiona y mueve en sentido longitudinal para extender la muestra, teniendo cuidado de que no se salga del portaobjetos.						
11	Coloca en el portaobjetos posición horizontal y deja a temperatura ambiente de 20 a 30 minutos para el aclaramiento de la muestra fecal.						Tomar en cuenta condiciones ambientales, temperatura y humedad, en caso de tiempo prolongado se pueden aclarar los huevecillos, y no ser observables.
12	¿El tiempo de aclaración fue el adecuado?						
13	Realiza el análisis microscópico para la búsqueda de huevecillos de helmintos.						
14	Reporta los resultados						Si se observa: Se observa la presencia de huevecillos (género y especie del helminto). No se observan: No se observan huevecillos de helmintos.
15	Registra los resultados en el sistema de información.						
16	Valida y refrenda el informe de resultados.						
17	Envía los resultados a quien corresponda.						



10.3. Determinación de calprotectina fecal semicuantitativa.

#	Descripción de la actividad	9.3. Determinación de calprotectina fecal semicuantitativa					Observaciones
		Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.						
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
4	En caso de que la muestra tenga moco y/o sangre, de preferencia utiliza la porción de la muestra fecal que no tenga la condición anterior y si no es así, procesa la muestra de todas maneras.						
5	Rotula el dispositivo con solución de extracción de muestra con la identificación, así como la placa de inmunocromatografía.						
6	Toma aproximadamente 250 mg de heces introduciendo unas 4 veces el palito del dispositivo para diluir la muestra.						
7	Agita para facilitar la dispersión de la muestra por 1 minuto hasta homogenizar bien.						Puede utilizarse un vortex.
8	Corta la punta del tapón del dispositivo.						
9	Coloca 3 gotas de la suspensión, en cada una de las ventanas circulares marcadas con una flecha o una S ("sample") en la placa inmunocromatográfica (evita dispensar partículas con el líquido).						
10	Lee el resultado en 10 minutos exactos (no dejar más de ese tiempo de lectura)						a. Negativo: Solamente se observa la línea de control en ambos canales de la placa de inmunocromatografía. b. Positivo más de 50 µg/g y menos de 200 µg/g de heces: se observan las líneas de los controles, pero solamente da reacción en el canal de 50 µg/g de heces. c. Positivo más de 200 µg/g de heces: se observan las líneas de los controles, y da reacción en ambos canales, de 50 µg/g y 200 µg/g de heces.
11	Registra los resultados en el sistema de información.						
12	Valida y refrenda el informe de resultados.						
13	Envía los resultados a quien corresponda						



10.4. Determinación de calprotectina fecal cuantitativa

#	Descripción de la actividad	9.4.Determinación de calprotectina fecal cuantitativa					Observaciones
		Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.						
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
4	¿La condición de la muestra fecal es totalmente mucuideo o sanguinolenta?						
5	Solicita nueva muestra fecal según lo estipulado en la división de Parasitología.						
6	En caso de que la muestra tenga poco moco y/o sangre, utiliza la porción de la muestra fecal que no tenga la condición anterior.						
7	Rotula el tubo de dilución con etiqueta con código de barras.						
8	Dado que el tubo de dilución tiene dos tapas, retira la primera que tiene el dispositivo de muestreo y desenrosca para la recolección de la muestra.						
9	Introduce el dispositivo de muestreo en la muestra fecal varias veces (en 3 o 5 sitios diferentes), hasta que las ranuras queden totalmente recubiertas.						
10	Inserta y vuelve a colocar el dispositivo de muestreo dentro del tubo de dilución; enrosca adecuadamente para que quede bien sellado. El exceso de heces se retirará del dispositivo por la acción del embudo de goma.						
11	Con la tapa mirando hacia arriba, homogeniza las heces en un agitador tipo vórtex, aplicando el ajuste máximo del agitador durante 30 minutos. Se asegura que no queden restos de heces visibles en las ranuras del dispositivo de muestreo. Continúa agitando en vórtex las veces que sean necesarias hasta que no haya restos de heces en las ranuras.						
12	Centrifuga la muestra a 4500 rpm por 5 minutos, para que se dé adecuada sedimentación de partículas que puedan obstruir las mangueras del equipo de detección.						
13	Desenrosca la segunda tapa y la desecha en un recipiente para residuos biológicamente peligrosos.						
14	Coloca el tubo de dilución en la gradilla de muestras para ser procesada.						
15	Verifica que el equipo se encuentre en condición adecuada para su uso (controles, calibradores e insumos).						
16	Realiza el análisis.						
17	Revisa los resultados en el equipo.						
18	Registra los resultados en el sistema de información.						
19	Valida y refrenda el informe de resultados.						
20	Envía los resultados a quien corresponda.						



10.5. Determinación de elastasa fecal

#	Descripción de la actividad	9.5. Determinación de elastasa fecal.					Observaciones
		Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.						
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
4	¿La condición de la muestra fecal es totalmente mucuideo o sanguinolenta?						
5	Solicita nueva muestra fecal según lo estipulado en la División de Parasitología.						Final del procedimiento.
6	En caso de que la muestra tenga poco moco y/o sangre, utiliza la porción de la muestra fecal que no tenga la condición anterior.						
7	Rotula el tubo de dilución con etiqueta con código de barras.						
8	Dado que el tubo de dilución tiene dos tapas, retira la primera que tiene el dispositivo de muestreo y desenrosca para la recolección de la muestra.						
9	Introduce el dispositivo de muestreo en la muestra fecal varias veces (en 3 o 5 sitios diferentes), hasta que las ranuras queden totalmente recubiertas.						
10	Inserta y vuelve a colocar el dispositivo de muestreo dentro del tubo de dilución; enrosque adecuadamente para que quede bien sellado. El exceso de heces se retirará del dispositivo por la acción del embudo de goma.						
11	Con la tapa mirando hacia arriba, homogeniza las heces en un agitador tipo vórtex, aplicando el ajuste máximo del agitador durante 30 minutos. Se asegura que no queden restos de heces visibles en las ranuras del dispositivo de muestreo. Continúa agitando en vórtex las veces que sean necesarias hasta que no haya restos de heces en las ranuras.						
12	Centrifuga la muestra a 4500 rpm por 5 minutos, para que se dé adecuada sedimentación de partículas que puedan obstruir las mangueras del equipo de detección.						
13	Desenrosca la segunda tapa y la desecha en un recipiente para residuos biológicamente peligrosos.						
14	Coloca el tubo de dilución en la gradilla de muestras para ser procesada.						
15	Verifica que el equipo se encuentre en condición adecuada para su uso (controles, calibradores e insumos).						
16	Realiza el análisis.						
17	Revisa los resultados en el equipo.						
18	Registra los resultados en el sistema de información.						
19	Valida y refrenda el informe de resultados.						
20	Envía los resultados a quien corresponda.						



10.6. Determinación de grasa en heces

#	Descripción de la actividad	9.6. Determinación de grasa en heces					Observaciones
		Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.	<pre> graph TD Start([Inicio]) --> Decision{¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?} Decision -- No --> Box1[] Box1 --> End([Final del procedimiento.]) Decision -- Si --> Box2[] Box2 --> Box3[] Box3 --> Box4[] Box4 --> Box5[] Box5 --> Box6[] Box6 --> Box7[] Box7 --> Box8[] Box8 --> Box9[] Box9 --> Box10[] Box10 --> Box11[] Box11 --> End </pre>					
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
4	Prepara una suspensión en un tubo de ensayo pequeño (o el que se encuentre disponible), de la materia fecal en solución de negro sudán o rojo sudán (suspensión semejante al frotis al fresco).						
5	Coloca en un portaobjetos limpio una gota de la suspensión y sobre ésta coloca un cubreobjetos evitando la formación de burbujas.						
6	Calienta suavemente el portaobjetos sobre una pequeña llama y deja enfriar.						
7	Observa la preparación al microscopio con el lente de 40 X, en busca de gotas de grasa que se identifican de color naranja o ámbar. Importante hacer la revisión en el centro del cubreobjetos y no en la periferia.						
8	Revisa al menos 10 campos con el lente de 40 X, se promedia el número de gotas observadas por campo.						
9	Reporta el resultado						Negativo (menos de 5 gotas por campo de 40 X). Positivo + (6 a 20 gotas por campo de 40 X). Positivo ++ (21 a 59 gotas por campo de 40 X). Positivo +++ (más de 60 gotas por campo de 40 X).
10	Registra los resultados en el sistema de información.						
11	Valida y refrenda el informe de resultados.						
12	Envía los resultados a quien corresponda.						



10.7. Determinación de sustancias reductoras y no reductoras en materia fecal

9.7. Determinación de sustancias reductoras y no reductoras en materia fecal						
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.	<pre> graph TD Start([Inicio]) --> Decision{¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?} Decision -- No --> End([Final del procedimiento.]) Decision -- Sí --> SR[SR] Decision -- Sí --> SNR[SNR] SR --> Box1[] SNR --> Box2[] Box1 --> Box3[] Box2 --> Box3 Box3 --> Box4[] Box4 --> Box5[] Box5 --> Box6[] Box6 --> Box7[] Box7 --> End </pre>				
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?					
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.					
4	Rotula dos tubos de ensayo de vidrio tipo pyrex, uno como SR (sustancias reductoras) y otro como SNR (sustancias no reductoras).					
5	Agrega 0,5 mL de heces líquidas o una porción de heces semisólidas tomada con palillo de madera en cada tubo de ensayo.					
6	Al tubo rotulado como SNR: agregar 5 gotas de HCl 0,1 N., calentar suavemente hasta la salida de vapores con ayuda de mechero o lámpara de alcohol, dejar enfriar; agregar 2,0 mL a 2,5 mL de reactivo de Benedict; calentar a ebullición; dejar enfriar.					
7	Al tubo rotulado como SR: agregar 2,0 mL a 2,5 mL de reactivo de Benedict; calentar a ebullición; dejar enfriar.					
8	Interpreta el cambio de color					
9	Registra los resultados en el sistema de información.					
10	Valida y refrenda el informe de resultados.					
11	Envía los resultados a quien corresponda.					

Sin cambio de color: Negativo.
-Azul verdoso: Positivo trazas.
-Verde: Positivo (+).
-Verde pardo: Positivo (++)
-Amarillo: Positivo (+++).
-Rojo ladrillo: Positivo (++++).



10.9. Prueba rápida para detección de *Cryptosporidium* sp y *Lambli*a intestinalis.

9.9. Prueba rápida para detección de <i>Cryptosporidium</i> sp y <i>Lambli</i> a intestinalis.							
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones	
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.	<pre> graph TD Start([Inicio]) --> Decision{¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?} Decision -- No --> Rechaza[Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.] Rechaza --> Final([Final del procedimiento.]) Decision -- Sí --> Step4[Rotula el dispositivo con la identificación, así como la placa de inmunocromatografía.] Step4 --> Step5[Introduce el palillo del dispositivo en 4 o 5 sitios diferentes, para tener mayor posibilidad de captar los parásitos. Para muestras líquidas toma 125 µL.] Step5 --> Step6[Coloca la muestra tomada en la actividad anterior en el dispositivo de dilución.] Step6 --> Step7[Agita la muestra en vórtex o mezcla vigorosamente por 1 minuto para homogenizar bien. Si la suspensión tiene muchos detritos se puede centrifugar 5 minutos a 4500 rpm.] Step7 --> Step8[Retira la placa inmunocromatográfica de su empaque hasta el momento de su uso.] Step8 --> Step9[Corta la punta del tapón del dispositivo.] Step9 --> Step10[Coloca 3 gotas de la suspensión, en cada una de las ventanas circulares en la placa inmunocromatográfica.] Step10 --> Step11[Lee el resultado en 10 minutos exactos (no dejar más de ese tiempo de lectura)] Step11 --> Step12[Registra los resultados en el sistema de información.] Step12 --> Step13[Valida y refrenda el informe de resultados.] Step13 --> Step14[Envía los resultados a quien corresponda.] Step14 --> End([Fin]) </pre>					
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						
4	Rotula el dispositivo con la identificación, así como la placa de inmunocromatografía.						
5	Introduce el palillo del dispositivo en 4 o 5 sitios diferentes, para tener mayor posibilidad de captar los parásitos. Para muestras líquidas toma 125 µL.						
6	Coloca la muestra tomada en la actividad anterior en el dispositivo de dilución.						
7	Agita la muestra en vórtex o mezcla vigorosamente por 1 minuto para homogenizar bien. Si la suspensión tiene muchos detritos se puede centrifugar 5 minutos a 4500 rpm.						
8	Retira la placa inmunocromatográfica de su empaque hasta el momento de su uso.						
9	Corta la punta del tapón del dispositivo.						
10	Coloca 3 gotas de la suspensión, en cada una de las ventanas circulares en la placa inmunocromatográfica.						
11	Lee el resultado en 10 minutos exactos (no dejar más de ese tiempo de lectura)						<p>Negativo: Solamente se observa la línea de control en ambos canales de la placa de inmunocromatografía.</p> <p>Positivo por <i>Cryptosporidium</i> sp: se observan las líneas de control en ambos canales, pero solamente en el canal de <i>Cryptosporidium</i> aparece la línea respectiva.</p> <p>Positivo por <i>Lambli</i>a intestinalis : se observan las líneas de control en ambos canales, pero solamente en el canal de <i>Lambli</i>a intestinalis aparece la línea respectiva.</p> <p>Positivo por <i>Cryptosporidium</i> sp y <i>Lambli</i>a intestinalis : se observan las líneas de control en ambos canales, así como las líneas de prueba de los dos canales.</p>
12	Registra los resultados en el sistema de información.						
13	Valida y refrenda el informe de resultados.						
14	Envía los resultados a quien corresponda.						



10.10. Gota gruesa, frotis sanguíneo por *Plasmodium* sp., densidad parasitaria y parasitemia.

9.10. Gota gruesa, frotis sanguíneo por <i>Plasmodium</i> sp., densidad parasitaria y parasitemia							
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones	
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra de sangre con el formulario de solicitud.						
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
4	Rotula con lápiz de grafito el portaobjetos en la parte esmerilada con el número de muestra						Se sugiere rotular al menos 6 portaobjetos
5	Coloca el portaobjetos sobre la plantilla, y una vez homogenizada la muestra realiza la gota gruesa (cerca de la porción esmerilada) y el extendido sanguíneo de la siguiente manera:						Ver Plantilla para confección de gota gruesa y frotis (INCIENSA, Procedimiento Operativo Estándar para el diagnóstico microscópico de malaria CNRP-LM-PE05, Versión 4)
6	Coloca 6 µL a 8 µL de muestra en la zona destinada para gota gruesa según muestra la plantilla (zona redondeada).						
7	Con la esquina de la lámina extensora distribuya la sangre iniciando del centro y de manera circular hacia afuera, ocupando el espacio circular según la plantilla, cuando se llega al borde del círculo, con la misma extensora y sin levantar la extensora se realiza movimiento circular rápida hacia el centro.						
8	Mueve la lámina realizando movimientos circulares con el fin que la sangre quede homogéneamente distribuida.						
9	Coloca de 2 µL a 5 µL de sangre y la coloca en la base del espacio destinado para el frotis, según está demarcado en la plantilla.						
10	Coloca la lámina extensora en un ángulo de 45° y desliza sobre el portaobjetos hacia el extremo sin esmeril para realizar el extendido fino.						
11	Deja secar las láminas en posición horizontal protegidas de la luz, insectos y polvo (en caso de urgencia se puede acelerar el secado utilizando incubadora a 37°C por una hora. Cada laboratorio dependiendo de las condiciones climatológicas debe estandarizar el tiempo de secado de las láminas).						
12	Fija únicamente el extendido sanguíneo (frotis), sumergiendo la porción de la lámina que lo incluya en metanol contenido en recipiente de boca ancha, de manera que el frotis quede completamente impregnado y sacarlo de inmediato. Debe dejar la distancia adecuada entre el frotis y gota gruesa para que el metanol no ascienda por capilaridad y fije la gota gruesa.						
13	Deja secar la lámina en posición horizontal a temperatura ambiente por 2 a 5 minutos						Si se colocara de manera vertical los vapores del metanol podrían ascender y fijar la gota gruesa
14	Coloca la lámina en la bandeja para tinción o placa Petri, de manera invertida e inclinada (frotis sanguíneo y gota gruesa para abajo), se recomienda poner un relieve para crear un desnivel y que la gota gruesa esté del lado opuesto (en la parte más baja), de manera que tenga contacto con el colorante.						
15	Realiza la tinción de Giemsa según procedimiento en este manual, con el cuidado que no queden burbujas.						
16	Una vez finalizado el tiempo de tinción (tiempo de tinción lo estandariza cada laboratorio), levanta la lámina despacio de tal manera que no se desprenda la gota gruesa.						
17	En un frasco de boca ancha conteniendo agua de tubo, sumerge y saca cuidadosamente una sola vez la lámina, para retirar el exceso de colorante						Nunca lavar directo bajo el chorro de agua porque se desprende la gota gruesa



9.10. Gota gruesa, frotis sanguíneo por <i>Plasmodium</i> sp., densidad parasitaria y parasitemia (continuación)							
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones	
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo
18	Limpia por debajo de la lámina y deja secar.	<pre> graph TD A((A)) --> B1[] B1 --> B2[] B2 --> D1{ } D1 -- No --> B3((B)) D1 -- Si --> B4[] B4 --> B5[] B5 --> B6[] B6 --> D2{ } D2 --> B7[] B7 --> B8[] B8 --> D3{ } D3 --> B9[] B9 --> C((C)) </pre>					
19	Examina las láminas al microscopio con objetivo de inmersión (100 X) para evaluar la calidad de la tinción, verifica la correcta deshemoglobinización y coloración de las estructuras celulares.						
20	Procede a realizar el recorrido sistemático de toda la gota gruesa para determinar si hay presencia o ausencia de los diferentes estadios de <i>Plasmodium</i> sp.						
21	¿Se encontraron formas parasitarias de <i>Plasmodium</i> sp.?						
22	Calcula la densidad parasitaria (conteo parasitario) en gota gruesa						
23	Inicia el conteo en la parte superior izquierda de la gota gruesa, debe ubicar un campo donde se observe un adecuado número de leucocitos y alguna forma parasitaria para el recuento						
24	Utiliza el contador de células para contar la cantidad de parásitos y/o leucocitos observados en cada campo, debe pulsar una tecla del contador para registrar los leucocitos y otra tecla para registrar los parásitos observados						
25	Continúa el recuento de otros campos microscópicos de manera sistemática, evita repetir campos ópticos						
26	Aplica la fórmula para determinar la parasitemia						
27	Calcula el porcentaje de parasitemia en el extendido sanguíneo (conteo parasitario en frotis sanguíneo)						
28	En la parte inferior del frotis (cola) localiza un campo con eritrocitos separados.						
29	Promedia el conteo de eritrocitos en tres campos con adecuada distribución de células para obtener 10000 eritrocitos.						
30	Calcula el número de campos que se deben observar para contar 10000 eritrocitos						
31	Aplica la fórmula para calcular % de parasitemia						

En caso de presencia de estados evolutivos la identificación de especie de *Plasmodium* se realiza en la gota gruesa y si se desea utilice el frotis para confirmar

i. Es posible encontrar campos con solo glóbulos blancos o parásitos los cuales deben incluirse en el recuento.
 ii. Los estadios asexuados son los trofozoitos y esquizontes, mientras que los estadios sexuados son los gametocitos.
 iii. En infecciones por *Plasmodium falciparum* se cuenta solo los estadios asexuados, y en el caso de las formas sexuadas se notifican, pero no se cuentan.

$$\# \text{ parásitos} \times \# \text{ leucocitos de la persona usuaria (o 6000)} / \# \text{ leucocitos contados} = \# \text{ parásitos} / \mu\text{L} \cdot 10^6$$

$$\text{Porcentaje de parasitemia} = (\text{Cantidad de eritrocitos parasitados} / 10000) \times 100$$



9.10. Gota gruesa, frotis sanguíneo por <i>Plasmodium</i> sp., densidad parasitaria y parasitemia (continuación)						
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	
32	Reporta el resultado de la observación de la gota gruesa y el frotis sanguíneo	<pre> graph TD B((B)) --> Box1[] C((C)) --> Box1 Box1 --> Box2[] Box2 --> Box3[] Box3 --> Box4[] Box4 --> Box5[] Box5 --> Box6[] </pre>				<p>Para una muestra en la que no se observan estadios evolutivos de <i>Plasmodium</i> sp se reporta: No se observa <i>Plasmodium</i> sp.</p> <p>Para muestras en las que se observan estadios evolutivos de <i>Plasmodium</i> sp se determina la especie infectante y se reporta la densidad parasitaria como línea base al momento del diagnóstico, posteriormente, se realizan sucesivos conteos de densidad parasitaria en los controles postratamiento, según lo estipulado en el Norma de malaria: Gota gruesa positiva por (especie identificada) y densidad parasitaria (cantidad de parásitos/μL).</p> <p>Para infecciones por <i>Plasmodium falciparum</i> se agrega el comentario: Se observaron gametocitos / No se observaron gametocitos, según corresponda a presencia o ausencia de estos estadios sexuales.</p>
33	Registra los resultados en el sistema de información.					
34	Valida y refrenda el informe de resultados.					
35	Envía los resultados a quien corresponda.					
36	Notifica todo caso positivo por malaria siguiendo lo establecido en el reglamento de Vigilancia de la Salud vigente.					
37	Guarda la lámina para su posterior envío al Centro Nacional de Referencia en Parasitología en INCIENSA					
						<p>La notificación incluye el resultado obtenido por el laboratorio que realizó el diagnóstico, incluidas la especie y densidad parasitaria.</p> <p>Según lo establecido en el procedimiento operativo estándar para el diagnóstico microscópico de malaria CNRP-LM-PE05.</p>



10.11. Técnica de Baermann

9.11. Técnica de Baermann							Observaciones
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra fecal con el formulario de solicitud.						
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
4	Prepara los materiales necesarios para el análisis correspondiente						Embudo, pie universal, cedazo o malla, agua o solución salina 0,85% a temperatura de 35°C a 37°C, recipiente recolector
5	Coloca el embudo en el pie universal y el cedazo sobre el embudo. En caso de no contar con estos insumos se sugiere utilizar un frasco de orina o botella de plástico limpia y cortada en la parte superior con colador pequeño de cocina.						
6	Llena poco a poco el embudo con agua o solución salina 0,85% a temperatura de 35°C a 37°C.						
7	Coloca suficiente cantidad de muestra (tamaño de una semilla de durazno) sobre la gasa y ésta sobre el cedazo. También se puede realizar sin el cedazo en caso de no contar con éste.						
8	Deja reposar la preparación por al menos una hora.						
9	Recoge el líquido del embudo en un beaker o recipiente de boca ancha.						
10	Trasvasa el líquido obtenido en tubos de ensayo o cónicos para posterior centrifugación.						
11	Centrifuga a 1500 rpm por 5 minutos.						
12	Decanta y descarta el sobrenadante.						
13	Con pipeta tipo Pasteur toma una gota del sedimento y lo coloca entre portaobjetos y cubreobjetos.						
14	Examina la preparación con el lente objetivo de 10 X en busca de larvas de helmintos.						
15	¿Se observan larvas?						
16	Realiza la identificación de la larva						Anexo 2
17	Reporta lo hallado.						No se observan larvas de helmintos: No se observan larvas de Strongyloides stercoralis o de Uncinarias (Necator americanus / Ancylostoma duodenale). Si observa larvas de helmintos: Se observan larvas de Strongyloides stercoralis o de Uncinarias (Necator americanus / Ancylostoma duodenale).
18	Registra los resultados en el sistema de información.						
19	Valida y refrenda el informe de resultados.						
20	Envía los resultados a quien corresponda.						Revisión, verificación, validación, refrendo y liberación del informe de resultados



10.12. Técnica de Knott (para la búsqueda de microfilarias de *Wuchereria bancrofti*).

9.12. Técnica de Knott						
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra con el formulario de solicitud	<pre> graph TD Start([Inicio]) --> Decision{¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?} Decision -- No --> Rechaza[Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.] Decision -- Sí --> Step4[Coloca 1 mL de sangre más 10 mL de solución acuosa de formalina al 2 % en un tubo de ensayo para iniciar la hemólisis y mezcla por inversión.] Step4 --> Step5[Centrifuga a 1500 rpm por 5 minutos] Step5 --> Step6[Decanta el sobrenadante sin perturbar el sedimento.] Step6 --> Step7[Transfiere con pipeta tipo Pasteur una porción del sedimento y la coloca en un portaobjetos con cubreobjetos y puede seguir uno de los siguientes procedimientos: Observa directamente una gota del sedimento al microscopio entre portaobjetos y cubreobjetos, además realiza extendido sanguíneo con 10 µL y tñe con Giemsa, si hay presencia de microfilarias se puede identificar género y especie de la microfilaria. Observa directamente una gota del sedimento al microscopio entre portaobjetos y cubreobjetos con alguno de los colorantes intraviales como azul de metileno o azul cresil brillante (1:10000 en solución salina al 0,85 %), además realiza extendido sanguíneo con 10 µL y tñe según la técnica de Giemsa, si hay presencia de microfilarias identifica por género y especie de la microfilaria.] Step7 --> Step8[Registra los resultados en el sistema de información.] Step8 --> Step9[Valida y refrenda el informe de resultados.] Step9 --> Step10[Envía los resultados a quien corresponda.] </pre>				Se recomienda que la toma de muestra sea entre las 11 pm y 3 am
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?					
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.					
4	Coloca 1 mL de sangre más 10 mL de solución acuosa de formalina al 2 % en un tubo de ensayo para iniciar la hemólisis y mezcla por inversión.					
5	Centrifuga a 1500 rpm por 5 minutos					
6	Decanta el sobrenadante sin perturbar el sedimento.					
7	Transfiere con pipeta tipo Pasteur una porción del sedimento y la coloca en un portaobjetos con cubreobjetos y puede seguir uno de los siguientes procedimientos: Observa directamente una gota del sedimento al microscopio entre portaobjetos y cubreobjetos, además realiza extendido sanguíneo con 10 µL y tñe con Giemsa, si hay presencia de microfilarias se puede identificar género y especie de la microfilaria. Observa directamente una gota del sedimento al microscopio entre portaobjetos y cubreobjetos con alguno de los colorantes intraviales como azul de metileno o azul cresil brillante (1:10000 en solución salina al 0,85 %), además realiza extendido sanguíneo con 10 µL y tñe según la técnica de Giemsa, si hay presencia de microfilarias identifica por género y especie de la microfilaria.					
8	Registra los resultados en el sistema de información.					
9	Valida y refrenda el informe de resultados.					
10	Envía los resultados a quien corresponda.					



10.13. Técnica de Ritchie.

#	Descripción de la actividad	9.13.Técnica de Ritchie. Funcionario responsable					Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra con el formulario de solicitud						
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
4	Coloca aproximadamente 1 g de muestra fecal en un beaker pequeño o frasco de boca ancha (capacidad de 50 mL a 100 mL).						
5	Desmenuza la muestra fecal con la ayuda de aplicadores.						
6	Realiza una suspensión de la muestra fecal con agua o solución salina 0.85%.						
7	Filtra a través de la gasa y el filtrado se recolecta en un tubo de vidrio 13 mm x 100 mm con tapón.						
8	Centrifuga el filtrado obtenido a 2000 rpm durante 2 minutos.						
9	Decanta el sobrenadante.						
10	Realiza una suspensión de la muestra fecal con agua o solución salina 0.85%.						
11	Centrifuga el filtrado obtenido a 2000 rpm durante 2 minutos.						
12	¿El sobrenadante obtenido es claro?						
13	Decanta el sobrenadante y repite						
14	Decanta el sobrenadante						
15	Agrega al sedimento obtenido 4 mL de formalina al 10 %, homogeniza y deja reposar por 5 minutos.						
16	Agrega 3 mL de éter, tapa el tubo y agita vigorosamente (manualmente o con ayuda de agitador eléctrico).						
17	Destapa el tubo y centrifuga a 3000 rpm durante 3 minutos.						
18	Rompe el tapón de detritos con la ayuda de un aplicador.						
19	Decanta el sobrenadante						
20	Coloca una gota del sedimento entre portaobjetos y cubreobjetos						
21	Realiza la observación al microscopio en busca de quistes y/u oquistes de protozoarios o huevecillos de helmintos.						



9.13. Técnica de Ritchie (continuación)						
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	
22	Reporta de lo encontrado					No se observan parásitos: No se observan parásitos. Si se observa parásitos: Se observa la presencia de quistes, ooquistes y/o huevecillos (género y especie del protozooario o helminto).
23	Registra los resultados en el sistema de información.					
24	Valida y refrenda el informe de resultados.					
25	Envía los resultados a quien corresponda.					

10.14. Técnica de Strout.

9.14. Técnica de Strout.						
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra con el formulario de solicitud					Se recomienda hacer de 6 a 8 preparaciones y mantenerlas en cámara húmeda para evitar desecación). En caso afirmativo: Se observan tripomastigotos de <i>Trypanosoma cruzi</i> . En caso negativo: No se observan tripomastigotos de <i>Trypanosoma cruzi</i> .
2	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?					
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.					
4	Deja coagular la muestra de sangre extraída, de 45 minutos a 60 minutos a temperatura ambiente.					
5	Extrae el coágulo con ayuda de palillos de madera, lo deposita en recipiente de material biopeligroso.					
6	Centrifuga la primera vez el suero de 800 rpm a 1000 rpm, durante 2 a 5 minutos para sedimentar los glóbulos rojos que pudieran quedar e interferir con el análisis.					
7	Con pipeta tipo Pasteur o micropipeta separa el sobrenadante en otro tubo de ensayo limpio.					
8	Centrifuga por segunda vez el sobrenadante entre 2000 rpm – 2500 rpm durante 10 minutos.					
9	Separa el sobrenadante.					
10	Utiliza el sedimento para examinar al fresco entre portaobjetos y cubreobjetos					
11	Observa el sedimento con lente objetivo de 10 X en busca de tripomastigotos activos de <i>Trypanosoma cruzi</i> y confirmar en lente de 40 X.					
12	Reporta la presencia o ausencia de tripomastigotos de <i>Trypanosoma cruzi</i> activos en la preparación al fresco					
13	Registra los resultados en el sistema de información.					
14	Valida y refrenda el informe de resultados.					
15	Envía los resultados a quien corresponda.					



10.15. Técnica sedimentación con agua.

#	Descripción de la actividad	9.15. Técnica sedimentación con agua. Funcionario responsable					Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Coloca 1 g de muestra fecal (tamaño de una semilla nuez) si la muestra es sólida o 7 mL si la muestra es líquida, en un tubo de ensayo o cónico.	<pre> graph TD A[Inicio] --> B[Coloca 1 g de muestra fecal... en un tubo de ensayo o cónico.] B --> C[Desmenuza la muestra con la ayuda de palillos de madera.] C --> D[Realiza una suspensión de la muestra de heces con agua destilada.] D --> E[Filtra a través de una gasa en otro tubo cónico... en un recipiente adecuado] E --> F[Coloca 1 mL del filtrado fecal en otro tubo de ensayo o cónico.] F --> G[Agrega 3 mL de agua destilada.] G --> H[Centrifuga a 2500 rpm durante 5 minutos.] H --> I{¿El sobrenadante obtenido es claro?} I -- No --> J[Decanta el sobrenadante y repite] J --> I I -- Sí --> K[Decanta el sobrenadante] K --> L[Coloca una gota del sedimento entre portaobjetos y cubreobjetos.] L --> M[Realiza el análisis microscópico para la búsqueda de quistes u oocistos de protozoarios, huevecillos y/o larvas de helmintos] M --> N[Reporta según lo hallado] N --> O[Registra los resultados en el sistema de información.] O --> P[Valida y refrenda el informe de resultados.] P --> Q[Envía los resultados a quien corresponda.] Q --> R[Fin] </pre>					
2	Desmenuza la muestra con la ayuda de palillos de madera.						
3	Realiza una suspensión de la muestra de heces con agua destilada.						
4	Filtra a través de una gasa en otro tubo cónico o en un recipiente adecuado						
5	Coloca 1 mL del filtrado fecal en otro tubo de ensayo o cónico.						
6	Agrega 3 mL de agua destilada.						
7	Centrifuga a 2500 rpm durante 5 minutos.						
8	¿El sobrenadante obtenido es claro?						
9	Decanta el sobrenadante y repite						
10	Decanta el sobrenadante						
11	Coloca una gota del sedimento entre portaobjetos y cubreobjetos.						
12	Realiza el análisis microscópico para la búsqueda de quistes u oocistos de protozoarios, huevecillos y/o larvas de helmintos						
13	Reporta según lo hallado						En caso de presencia de parásitos: Se observa la presencia de quistes u oocistos de protozoarios, huevecillos y/o larvas de (género y especie). En ausencia de parásitos: No se observan parásitos.
14	Registra los resultados en el sistema de información.						
15	Valida y refrenda el informe de resultados.						
16	Envía los resultados a quien corresponda.						



10.16. Tinción de Koster modificado para detección de *Cryptosporidium* sp.

9.16. Tinción de Koster modificado para detección de <i>Cryptosporidium</i> sp.							
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones	
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo
1	Realiza un frotis con un palillo de madera sobre un portaobjetos limpio y lo deja secar bien.					Se sugiere realizar de tres (3) a cuatro (4) extendidos para aumentar la posibilidad de observar los ooquistes.	
2	Descarta el palillo de madera en recipiente destinado para tal efecto						
3	Fija los frotis con alcohol metílico por 5 minutos.						
4	Deja secar hasta que se elimine el alcohol metílico.						
5	Tiñe por 5 minutos con solución saturada de safranina (una mezcla de 2 partes de una solución acuosa saturada de safranina más 5 partes de solución de KOH al 5,6%).						
6	Lava el extendido con agua destilada.						
7	Decolora con H2SO4 al 0,1% por 10 segundos.						
8	Lava el extendido con agua destilada.						
9	Contrasta con solución acuosa de verde de malaquita al 5% por 15 segundos						
10	Lava el frotis con agua destilada y deja secar la preparación al aire						
11	Realiza el análisis microscópico para la búsqueda de ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> sp						
12	Reporta según lo hallado						En caso de presencia se reporta: Presencia de ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> sp. En ausencia se reporta: No se observan ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> sp.
13	Registra los resultados en el sistema de información.						
14	Valida y refrenda el informe de resultados.						
15	Envía los resultados a quien corresponda.						



10.17. Tinción de Giemsa.

#	Descripción de la actividad	9.17. Tinción de Giemsa.					Observaciones
		Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Rotular el portaobjetos	<pre> graph TD A((A)) --> B[] B --> C[] C --> D[] D --> E[] E --> F[] F --> G[] G --> H[] H --> I[] I --> J[] J --> K{ } K -- No --> A K -- Sí --> L[] L --> M[] M --> N[] N --> O[] O --> P[] </pre>					
2	Realiza el frotis de la muestra analizada						
3	Deja secar.						
4	Fija por 5 minutos en metanol						
5	Deja secar hasta eliminación de metanol						
6	Realiza dilución 1/10 del colorante (1 porción de colorante + 9 porciones de buffer 1X pH 7.2).						
7	Coloca sobre la muestra a teñir.						
8	Lava el extendido con agua destilada.						
9	Deja teñir						
10	Lavar con agua de tubo						
11	Deja secar al aire.						
12	El Microbiólogo valora la calidad de la tinción.						
13	¿Los elementos celulares y patógenos observados cumplen el control de calidad?						
14	Observa el frotis en busca de elementos celulares, protozoarios o helmintos presentes en la muestra.						
15	Registra los resultados en el sistema de información.						
16	Valida y refrenda el informe de resultados.						
17	Envía los resultados a quien corresponda.						

Se sugieren los siguientes tiempos) por:
5 minutos para frotis de materia fecal.
30 minutos para frotis por Leishmania y fluidos biológicos.
El tiempo requerido según la estandarización para cada laboratorio en el caso de gota gruesa.
Nota: cada laboratorio debe estandarizar sus tiempos de tinción según el lote de reactivo.



10.18. Tinción de Ziehl Neelsen.

#	Descripción de la actividad	9.18.Tinción de Ziehl Neelsen. Funcionario responsable					Observaciones			
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo				
1	Rotular el portaobjetos									
2	Realiza el frotis de la muestra analizada									
3	Deja secar									
4	Fija por 5 minutos en metanol									
5	Deja secar hasta eliminación de metanol									
6	Coloca carbolfucsina o fucsina fenicada sobre el frotis y calienta por 5 minutos con ayuda de mechero (debe haber emisión de vapor sin llegar a hervir)									
7	Lava con agua de tubo y escurre.									
8	Decolora con alcohol ácido por 1 minuto									
9	Realiza contratinción con azul de metileno por dos minutos									
10	Lava con agua de tubo y deja secar al aire									
11	Observa el frotis en busca de organismos alcohol ácido resistentes									En este caso ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> sp, <i>Cyclospora cayatanensis</i> o <i>Cystoisospora belli</i> .
12	Registra los resultados en el sistema de información.									
13	Valida y refrenda el informe de resultados.									
14	Envía los resultados a quien corresponda.									



10.19. Tinción modificada de Ziehl Neelsen.

#	Descripción de la actividad	9.19. Tinción modificada de Ziehl Neelsen.					Observaciones				
		Funcionario responsable									
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo					
1	Rotular el portaobjetos										
2	Realiza el frotis de la muestra analizada										
3	Deja secar										
4	Fija por 5 minutos en metanol										
5	Deja secar hasta eliminación de metanol										
6	Coloca carbolfucsina o fucsina fenicada sobre el frotis por 5 minutos										
7	Lava con agua de tubo y escurre.										
8	Decolora con alcohol ácido por 1 minuto										
9	Realiza contratinción con azul de metileno por dos minutos										
10	Lava con agua de tubo y deja secar al aire										
11	Observa el frotis en busca de organismos alcohol ácido resistentes										En este caso ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> sp, <i>Cyclospora cayatanensis</i> o <i>Cystoisospora belli</i>).
12	Registra los resultados en el sistema de información.										
13	Valida y refrenda el informe de resultados.										
14	Envía los resultados a quien corresponda.										



10.20. Detección de amebas de vida libre en fluidos biológicos.

9.20. Detección de amebas de vida libre en fluidos biológicos.							
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable					Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra con el formulario de solicitud	<pre> graph TD Start([Inicio]) --> D1{Úlcera o raspado corneal?} D1 -- Sí --> A((A)) D1 -- No --> LCR[LCR] LCR --> S2[Coloca 30 µL de LCR en cámara de Neubauer cuenta y reporta la celularidad] S2 --> S3[Revisa si hay presencia de trofozoítos con movimiento por medio de pseudópodos] S3 --> S4[Centrifuga la muestra 5 minutos a 1000 rpm.] S4 --> S5[Descarta el sobrenadante.] S5 --> S6[Coloca una gota del sedimento entre portaobjetos y cubreobjetos.] S6 --> S7[Observa al microscopio en 10 X y 40 X, en busca de amebas de vida libre. Los trofozoítos, se pueden presentar con movimiento por medio de lobópodos (pseudópodos anchos) o acantopodios (pseudópodos finos).] S7 --> D2{¿Observa trofozoítos de amebas en el sedimento?} D2 -- No --> B((B)) D2 -- Sí --> S8[Realiza la prueba de exflagelación para determinar el posible género] S8 --> S9[Coloca una gota del sedimento que contiene las amebas.] S9 --> S10[Añada 1 mL de agua destilada estéril.] S10 --> S11[Agita suavemente el tubo.] S11 --> S12[Sella el tubo con papel tipo Parafilm.] S12 --> S13[Incuba a 37°C - 42°C por 3 horas.] S13 --> S14[Examina periódicamente cada 40 minutos para buscar formas flageladas.] S14 --> D3{¿Se encuentran formas flageladas?} D3 -- No --> B D3 -- Sí --> B B --> End([Fin]) </pre>					
2	Revisa ¿cuál es la muestra enviada?						
3	Determina la cantidad total de LCR enviado						
4	Coloca 30 µL de LCR en cámara de Neubauer cuenta y reporta la celularidad						
5	Revisa si hay presencia de trofozoítos con movimiento por medio de pseudópodos						
6	Centrifuga la muestra 5 minutos a 1000 rpm.						
7	Descarta el sobrenadante.						
8	Coloca una gota del sedimento entre portaobjetos y cubreobjetos.						
9	Observa al microscopio en 10 X y 40 X, en busca de amebas de vida libre. Los trofozoítos, se pueden presentar con movimiento por medio de lobópodos (pseudópodos anchos) o acantopodios (pseudópodos finos).						
10	¿Observa trofozoítos de amebas en el sedimento?						
11	Realiza la prueba de exflagelación para determinar el posible género						
12	Coloca una gota del sedimento que contiene las amebas.						
13	Añada 1 mL de agua destilada estéril.						
14	Agita suavemente el tubo.						
15	Sella el tubo con papel tipo Parafilm.						
16	Incuba a 37°C - 42°C por 3 horas.						
17	Examina periódicamente cada 40 minutos para buscar formas flageladas.						
18	¿Se encuentran formas flageladas?						
19	Coordina con la Cátedra de Protozoología de la Facultad de Microbiología, UCR, el envío de la muestra para realización de técnicas moleculares y/o cultiva en medio Page.						

Se recomienda al menos 1 mL de muestra de LCR para el análisis (la muestra no debe refrigerarse, permaneciendo a temperatura ambiente antes, durante y después del análisis y se procede a reservar entre 200 uL - 300 uL para cultivo y/o realizar pruebas moleculares (PCR).

En caso negativo reporta "No se observan amebas de vida libre". En caso positivo, el Microbiólogo informa inmediatamente al médico

En caso afirmativo informa y reporta: Presencia de posible *Naegleria fowleri*. En caso negativo reporta: Presencia de posible ameba de vida libre.



9.20. Detección de amebas de vida libre en fluidos biológicos (continuación)						
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	
20	Si el Microbiólogo recibe tejido corneal o tejido de úlcera, corta con bisturí de manera estéril con 0.5 mL a 1 mL de PBS o solución salina estéril.			A → []		
21	Agita para facilitar la dispersión de la muestra por 1 minuto hasta homogenizar bien (puede utilizarse un vortex).			↓ []		
22	Centrifuga por 10 minutos a 5000 rpm.			↓ []		
23	Descarta sobrenadante.			↓ []		
24	Realiza con el sedimento obtenido un frotis al fresco y un frotis para teñir con Giemsa, cultiva en medio Page y/o envía a UCR para realizar PCR.			↓ []		Frotis al fresco: se pueden observar trofozoitos y/o quistes. Los quistes se observan con pared quística doble, sugiriendo <i>Acanthamoeba</i> sp. Frotis para teñir con Giemsa u otros colorantes disponibles se pueden observar trofozoitos y/o quistes. Los quistes se observan con pared quística doble, cuyo endocisto (capa interna) puede tener variedad de formas (estrellada, hexagonal, redondeada), sugiriendo <i>Acanthamoeba</i> sp.
25	Registra los resultados en el sistema de información.			↓ [] ← B		
26	Valida y refrenda el informe de resultados.			↓ []		
27	Envía los resultados a quien corresponda.			↓ []		



10.21. Cultivo por amebas de vida libre.

#	Descripción de la actividad	9.21. Cultivo por amebas de vida libre.					Observaciones
		Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Recibe sedimento.			■			Ver procedimiento Detección de amebas de vida libre en fluidos biológicos.
2	Pone a atemperar 2 o más placas con medio Page o agar agar por 30 minutos.			↓			
3	Rotula las placas con marcador indeleble en la base de ésta, no debe rotularse en la tapa, y se señala en la base de la placa 5 puntos equidistantes			↓			
4	Realiza una suspensión de <i>Escherichia coli</i> semejante al 0.5 McFarland, en 0.5 mL es solución salina estéril.			↓			
5	Realiza rayado confluyente con ayuda torunda estéril impregnada con la suspensión de <i>Escherichia coli</i> , en 3 direcciones sobre la superficie del medio Page (sin romper el medio de cultivo)			↓			
6	Coloca en las zonas marcadas 1 gota del sedimento del LCR.			↓			
7	Sella la placa con papel tipo Parafilm para que no se seque.			↓			
8	Incuba a temperatura ambiente por 7 días.			↓			
9	Revisa cada 24 horas con ayuda del lente de 4 X o 10 X. del microscopio de luz, buscando trofozoitos y/o quistes.			↓			
10	¿Observa trofozoitos y/o quistes de amebas de vida libre? En caso negativo a los 7 días se reporta "No se cultivaron amebas de vida libre". En caso positivo se reporta "Presencia de amebas de vida libre" y se envía a la UCR para la identificación.			↓			
11	Registra los resultados en el sistema de información.			↓			
12	Valida y refrenda el informe de resultados.				■		
13	Envía los resultados a quien corresponda.				↓	■	



10.22. Diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*.

#	Descripción de la actividad	9.22. Diagnóstico de <i>Trichomonas vaginalis</i> .					Observaciones
		Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Recibe el formulario de solicitud y muestra.	<pre> graph TD Start([Inicio]) --> P1[] P1 --> D1{¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?} D1 -- Sí --> P2[] D1 -- No --> P3[] P2 --> P4[] P4 --> P5[] P5 --> P6[] P6 --> P7[] P7 --> End([Fin]) </pre>					
2	Revisa la identificación del recipiente conteniendo la muestra con el formulario de solicitud						
3	¿La identificación y condición de la muestra coincide con la solicitud y criterios de aceptación?						
4	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						Final del procedimiento.
5	Transfiere una gota de la muestra a un portaobjetos, le coloca un cubreobjetos y lo observa en el microscopio de luz visible con el lente de 10 X o 40 X.						
6	¿Observa trofozoítos de <i>Trichomonas vaginalis</i> ? En caso negativo reporta: No se observan trofozoítos de <i>Trichomonas vaginalis</i> . En caso afirmativo reporta: Se observan trofozoítos de <i>Trichomonas vaginalis</i> .						
7	Registra los resultados en el sistema de información.						
8	Valida y refrenda el informe de resultados.						
9	Envía los resultados a quien corresponda.						



10.23. Técnica de Graham.

#	Descripción de la actividad	9.23. Técnica de Graham. Funcionario responsable					Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Recibir a la persona usuaria y se verifica la solicitud de análisis y la identificación del usuario.						
2	¿Concuerdan la solicitud de análisis con la identificación de la persona usuaria?						
3	Rechaza según corresponda de acuerdo con lo establecido en la división de Parasitología.						
4	Explica el procedimiento a seguir y valida si la persona usuaria y/o tutor en el caso de un menor de edad comprende el proceso.						
5	¿La persona usuaria y/o tutor en el caso de un menor de edad comprende y acepta el procedimiento?						
6	Se le indica que no se realiza el procedimiento						
7	¿La persona usuaria acude con las condiciones solicitadas previamente (sin bañar, sin defecar y sin uso de crema o talco en la región perianal)?						
8	Explica a la persona usuaria nuevamente la instrucción y lo devuelve a la ventanilla para asignación de cita nuevamente.						
9	Traslada a la persona usuaria al área de toma de muestras especiales. Idealmente durante la toma de la muestra debe estar presente otro funcionario del laboratorio que tenga la función de testigo.						
10	Prepara los materiales para la toma de la muestra (cinta adhesiva, bajalenguas y/o portaobjetos).						
11	Con las manos limpias coloca cinta adhesiva en el extremo de un bajalenguas y/o portaobjetos con la parte adhesiva expuesta (goma hacia afuera).						
12	Le indica a la persona usuaria que se ponga en posición de decúbito (4 puntos) exponiendo la región glútea.						
13	Se coloca los guantes.						
14	Separa los glúteos de la persona usuaria con una mano y con la otra toca repetidamente alrededor de la región perianal y anal con la superficie adhesiva según preparado previamente.						
15	Coloca la cinta adhesiva sobre un portaobjetos con la goma hacia el portaobjetos evitando la formación de burbujas de aire para su posterior análisis (toma al menos 3 muestras para cubrir la mayor superficie perianal y anal).						
16	Indica a la persona usuaria la finalización de la toma de la muestra y traslada la muestra a la División de Parasitología.						
17	Si es necesario en uno de los portaobjetos ya con muestra coloca glicerina para que difunda por capilaridad y clarificar la muestra.						
18	Revisa el portaobjetos con la cinta adhesiva en el microscopio en lente de 10X de forma sistemática en sentido direccional toda la cinta adhesiva adherida al portaobjetos para la búsqueda de huevecillos de <i>Enterobius vermicularis</i> y confirma en 40X						
19	¿Observa huevecillos de <i>Enterobius vermicularis</i> ?						
20	Registra los resultados en el sistema de información.						
21	Valida y refrenda el informe de resultados.						
22	Envía los resultados a quien corresponda.						

En caso negativo se reporta: No se observan huevecillos de *Enterobius vermicularis*. En caso afirmativo reporta: Se observan huevecillos de *Enterobius vermicularis*.



10.25. Toma de muestra y diagnóstico de demodicosis.

#	Descripción de la actividad	9.25.Toma de muestra y diagnóstico de demodicosis					Observaciones
		Funcionario responsable					
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Recibe el formulario de solicitud y atiende a la persona usuaria.						
2	¿La persona usuaria se presenta con la cara limpia (sin maquillaje, sin protector solar o crema tópica)?						
3	Solicita a la persona usuaria que se lave la cara y la seque con papel toalla						
4	Revisa la(s) lesión(es) según corresponda:						
5	Colecta la muestra, deposita en el portaobjetos,						
6	Añade una gota de aceite de inmersión o aceite vegetal y coloca el cubreobjetos encima.						
7	Realiza la observación de los frotis con el microscopio de luz visible con el lente de 10 X y confirma con lente de 40 X.						
8	¿Observa ectoparásitos?						
9	Calcula la cantidad de parásitos utilizando el índice de infestación según el sitio anatómico (pestañas o piel)						
10	Reporta el resultado de la observación del frotis						
11	Registra los resultados en el sistema de información.						
12	Valida y refrenda el informe de resultados.						
13	Envía los resultados a quien corresponda.						
						<p>a. Glándulas sebáceas: obtener secreciones fresca de las glándulas sebáceas mecánicamente con los dedos índice y pulgar o con un saca-comedones.</p> <p>b. Piel: raspado intenso de la piel con una hoja de bisturí #10 abarcando 1 cm².</p> <p>c. Pestañas: extrae con una pinza 10 pestañas, 5 de cada ojo alternando entre párpado inferior y párpado superior.</p> <p>Índice de infestación piel = Número de <i>Demodex</i> sp/Raspado de piel de 1 cm²= Parásitos por cm². Índice de infestación pestañas = Número de <i>Demodex</i> sp/Número de pestañas= Parásitos por pestaña</p> <p>No se observa: No se observan <i>Demodex</i> sp. Si se observa: Se observa <i>Demodex folliculorum</i> (estado evolutivo) y/o <i>Demodex brevis</i> (estado evolutivo), e índice de infestación</p>	



10.26. Toma de muestra y diagnóstico (técnica cianoacrilato) de demodicosis.

9.26. Toma de muestra y diagnóstico (técnica cianoacrilato) de demodicosis.						
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	
1	Recibe el formulario de solicitud y atiende a la persona usuaria.				[Inicio]	
2	¿La persona usuaria se presenta con la cara limpia (sin maquillaje, sin protector solar o crema tóxica)?				{ Sí / No }	
3	En caso negativo solicita a la persona usuaria que se lave la cara y la seque con papel toalla.				[Lavar y secar]	
4	En caso positivo revisa la(s) lesión(es) a nivel de estrato córneo de piel.				[Revisar lesión]	
5	Delimita un área de 1 cm ² con un marcador indeleble en un portaobjetos.				[Delimitar área]	
6	Aplica una gota del cianoacrilato en la cara opuesta de la marca colocada en el portaobjetos.				[Aplicar cianoacrilato]	
7	Presiona la cara adhesiva del portaobjeto con el cianoacrilato, sobre la piel por 1 minuto o hasta que el adhesivo se seque.				[Presionar adhesivo]	
8	Retira de forma suave el portaobjetos con la muestra obtenida.				[Retirar muestra]	
9	Coloca aceite de inmersión en la zona del portaobjetos con la muestra y luego coloca el cubreobjetos.				[Colocar aceite]	
10	Realiza la observación de (los) frotis con el microscopio de luz visible con el lente de 10 X y confirma con lente de 40 X.				[Observar frotis]	
11	Reporta la observación de ectopárasitos				[Reportar]	En caso negativo reporta: No se observan <i>Demodex</i> sp. En caso afirmativo reporta: Se observa <i>Demodex follicularum</i> (estado evolutivo) y/o <i>Demodex brevis</i> (estado evolutivo), y realiza conteo de <i>Demodex</i> sp en la zona delimitada en 40 X.
12	Registra los resultados en el sistema de información.				[Registrar]	
13	Valida y refrenda el informe de resultados.				[Validar]	
14	Envía los resultados a quien corresponda.				[Enviar]	



10.27. Toma de muestra y diagnóstico de escabiosis.

9.27.Toma de muestra y diagnóstico de escabiosis							
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable					Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo	
1	Se recibe el formulario de solicitud y se atiende a la persona usuaria con el equipo de protección personal e inspecciona las lesiones, surcos, placas dérmicas.				□		
2	Hace un raspado intenso de la(s) lesión(es), surcos, placas dérmicas con un bisturí.				↓		
3	Transfiere el contenido a un portaobjetos, lo mezcla con aceite de inmersión, aceite vegetal o KOH 10 %, le coloca un cubreobjetos.				↓		
4	Realiza la observación de los frotis en el microscopio de luz visible con el lente de 10 X y 40 X				↓		
5	Reporta el resultado obtenido				↓		
6	Registra los resultados en el sistema de información.				↓		
7	Valida y refrenda el informe de resultados.				↓		
8	Envía los resultados a quien corresponda.				↓		
					□		

En caso negativo reporta: No se observan *Sarcoptes scabiei*.
 En caso positivo reporta Se observan *Sarcoptes scabiei* y el estado evolutivo.



10.28. Análisis directo por parásitos en muestras de esputo, esputo inducido, aspirado bronquial o lavado bronqueo alveolar.

9.28. Análisis directo por parásitos en muestras de esputo, esputo inducido, aspirado bronquial o lavado bronqueo alveolar.						
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC	
1	Revisa la identificación de la muestra con la solicitud de análisis clínico.	<pre> graph TD A[] --> B{¿A nivel macroscópico, la muestra tiene porciones viscosas y/o sanguinolentas?} B -- Sí --> C[] B -- No --> I[] C --> D[] D --> E[] E --> F[] F --> G[] G --> H[] H --> I[] I --> J[] J --> K[] K --> L[] L --> M[] M --> N[] N --> O[] O --> P[] </pre>				
2	Revisa macroscópicamente si la muestra posee porciones viscosas y/o sanguinolentas.					
3	¿A nivel macroscópico, la muestra tiene porciones viscosas y/o sanguinolentas?					
4	Coloca 1,0 mL de la muestra en un tubo de 13 X 100 (plástico o vidrio).					
5	Agrega a la muestra 1,0 mL del agente mucolítico (NaOH al 2 %, NaOH al 4 % u otro agente mucolítico).					
6	Incuba la muestra a temperatura ambiente por 15 minutos.					
7	Agrega a la muestra 2,0 mL de buffer de fosfatos (pH 6,8).					
8	Centrifuga la muestra a 1 000 rpm por 5 minutos.					
9	Decanta el sobrenadante en recipiente que contenga cloro, y el sedimento lo utiliza para realizar el montaje directo.					
10	Resuspende el sedimento obtenido con 100 µL de solución salina al 0,85 %.					
11	Coloca 50 µL de la preparación entre portaobjetos y cubreobjetos.					
12	Examina el montaje directo por campo con el lente de 10 X y confirma con el de 40 X para detectar huevecillos o larvas de helmintos					Larvas de helmintos tales como: <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Strongyloides stercoralis</i> y huevecillos de <i>Paragonimus</i> sp.
13	Reporta el resultado según la observación larvas y/o huevecillos de helmintos					a. No se observan larvas ni huevecillos reporta: No se observan larvas ni huevecillos de helmintos. b. Sí se observa larvas: Presencia de larvas de helmintos. c. Sí se observa huevecillos: Se observan huevecillos de (indicar el nombre del helminto).
14	Registra los resultados en el sistema de información.					
15	Valida y refrenda el informe de resultados.					
16	Envía los resultados a quien corresponda.					



10.29. Análisis de lesiones furunculares con sospecha de infestación por larvas de moscas de *Dermatobia hominis*.


9.29. Análisis de lesiones furunculares con sospecha de infestación por larvas de moscas de <i>Dermatobia hominis</i> .							
#	Descripción de la actividad	Funcionario responsable				Observaciones	
		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	TEC-1, TEC-2, DPL, MQC	DPL, MQC	MQC		AUX, TEC-1, TEC-2, DPL, MQC, Personal administrativo
1	Verificar la identificación de la persona usuaria o del recipiente conteniendo el ejemplar (larva) enviado con el formulario de solicitud de análisis.						
2	¿Recibe a la persona usuaria o el ejemplar?						
3	Traslada a la persona usuaria al área de toma de muestras.						
4	Prepara los materiales para la toma de extracción de la larva						
5	Coloca gasa impregnada con bastante vaselina sobre el orificio furuncular para sofocar a la larva.						
6	Captura la larva cuando ésta intenta salir a respirar, utilizando pinzas (de ser necesario este procedimiento se realiza en todas las lesiones presentes).						
7	Limpia la lesión con gasa impregnada con alcohol de 70°.						
8	Indica a la persona usuaria la finalización de la toma de la muestra y traslada el ejemplar a la División de Parasitología.						
9	Lava la larva con alcohol de 70° incoloro.						
10	¿Realiza la identificación de la larva como larva de <i>Dermatobia hominis</i> ?						
11	Coordina con la sección de Entomología Médica de la Facultad de Microbiología de la UCR al 2511 5430, para solicitar apoyo en la identificación del artrópodo.						
12	Registra los resultados en el sistema de información.						
13	Valida y refrenda el informe de resultados.						
14	Envía los resultados a quien corresponda.						

11. Contacto para consultas

Dra. Ana Lorena Torres Rosales, Coordinadora Nacional, Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos, atorresr@ccss.sa.cr
Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos, labclini@ccss.sa.cr


12. Monitoreo y auditoria del Manual de Procedimientos

El monitoreo y la auditoria del presente Manual se debe realizar de forma constante durante las visitas de supervisión que realizan los Supervisores Regionales en Microbiología y la Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos a los diversos Laboratorios Clínicos de la red Institucional.


	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 97 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

13. Referencias bibliográficas

1. Medical News Today, 2021, disponible en <https://www.medicalnewstoday.com/articles/es/tipos-de-heces>
2. Viresa 2025, disponible en <https://viresa.com.mx/camara-de-neubauer-fondo-claro-3-linea-oscura-hau--do--0100>
3. Centros para el control de enfermedades, 2019, disponible en <https://www.cdc.gov/dpdx/ascariasis/index.html>
4. Nessi Paduani A, Guzmán de Rondón C, Galindo Pérez M, Pérez de Galindo M y Pérez de Suárez E. Aportes del estudio de la materia fecal humana, disponible en https://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_fmed/article/view/16473
5. Manual MSD para profesionales, 2025, disponible en <https://www.msdmanuals.com/es/professional/trastornos-gastrointestinales/s%C3%ADndromes-de-malabsorci%C3%B3n/generalidades-sobre-la-malabsorci%C3%B3n>
6. Laboratorios Sáenz Renault, 2025, disponible en <https://labsaenzrenauld.com/cristalesdecharcot/>
7. Hospital Dr. José Renán Esquivel, 2021, disponible en <https://hn.sld.pa/criterios-de-aceptacion-y-toma-de-muestras/>
8. Radiological Society of North America, Inc. (RSNA), 2025, disponible en <https://www.radiologyinfo.org/es/glossary?modal=1&id=e0i1QzkOMzgzLUFCDMtNDMxRS04RTg4LUFEMEVDNUY3OUQwM30=&i=1&b=1>
9. Apollo Hospitals, 2025, disponible en <https://www.apollohospitals.com/es/symptoms/steatorrhea>
10. Imporcasa, disponible en <https://imporcarsa.com/producto/goma-loca/>
11. Centros para el control de enfermedades, 2024, disponible en <https://www.cdc.gov/cancer-preventing-infections/es/patients/symptoms.html>
12. Cuadros Médicos, 2024, disponible en <https://cuadromedicosalud.es/diccionario-medico/infestacion>
13. Bauçà J y Delgado JA, 2023. EL INFORME DE LABORATORIO. Form. Cont. Lab. Clin 69: 1 – 15, disponible en <https://semedlab.es/wp-content/uploads/2025/10/Tema-1-El-informe-del-Laboratorio.pdf>
14. Norma ISO 9000:2005.
15. Ley General de Salud de Costa Rica
16. Direccionario de la Real Academia Española de la Lengua, disponible en <https://dle.rae.es>
17. Gomes C, 2024, Informe de no conformidad: para qué sirve y cómo hacerlo, disponible en <https://blog.softexpert.com/es/informe-de-no-conformidad/>
18. Norma INTE/ISO 15189:2022
19. Aktaş Karabay, E., & Aksu Çerman, A. (2020). Demodex folliculorum infestations in

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 98 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

- common facial dermatoses: acne vulgaris, rosacea, seborrheic dermatitis. *Anais brasileiros de dermatologia*, 95(2), 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2019.08.023>.
20. BIOTEC (enero 2020) Calprotectin 50+200 versión 2. España.
 21. BIOTEC (enero 2020) *Crypto+Giardia* versión 0. España.
 22. Bruno da Rocha-Azevedo, Herberth B Tanowitz, Francine Marciano Cabral. Diagnosis of Infections Caused by Pathogenic Free-Living Amoebae. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. Volume 2009. Article ID 251406.
 23. Castro A. & Guerrero O. 2006. Técnicas de diagnóstico parasitológico. 2a Ed. Universidad de Costa Rica.
 24. Chouela, E., Abeldaño, A., Pellerano, G. et al. (2002). Diagnosis and Treatment of Scabies. *Am J Clin Dermatol* 3, 9–18. Faust E., Russell P, Jung R. *Parasitología Clínica*. Salvat Editores, S.A. 5 Edición.
 25. Dali Agnoli, T; Poli de Araujo, M; Laino, F; Parmigiano, T; Castello Girão, MJB y MG Ferreira Sartoni. Avaliação do habito intestinal em mulheres atletas e sua relação com nível de hidratação e uso de suplemento. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva*, São Paulo. v. 10. n. 58. p.458-466. Jul./Ago. 2016. ISSN 1981-9927.
 26. Dávila, E., Jáuriguí, Y., Aparicio, A., & Lobo, D. (2012, marzo). Valores normales de la prueba de Sudán III en niños sanos menores de un año. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*. Recuperado el 9 de julio de 2021 de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=06492012000100005
 27. Decreto Ejecutivo Ministerio de Salud 37269 del 13 de julio de 2012.
 28. Faust E., Russell P., Jung R. *Parasitología Clínica*. Salvat Editores.
 29. G.S. Visvesvara, FL. Schuster, Opportunistic Free- Living Amebae. Part II. *Clinical Microbiology Newsletter*. Vol 30, 2008.
 30. García LS & Isenberg HD. 2007. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. AMS Press Vol. 2.
 31. *Handbook of Clinical Neurology*, Vol 114 (3° series) *Neuropathology and Tropical Neurology*. H:H: Garcia, HB Tanowitz and OH: Del Brutto, Editors 2013.
 32. <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia49.pdf>, Página visitada 16 de octubre de 2020.
 33. INCIENSA. Procedimiento operativo estándar para el diagnóstico microscópico de malaria, CNRP-LM-PE05. Versión 4.
 34. LIAISON® Calprotectin (REF] 318960) ES-45939-2016-04.
 35. LIAISON® Elastase-1 ([REF] 319140) ES – 51940 - 2019-03.
 36. Atlas Link Technology Co. FOB-TRF Novatest®
 37. Luna S., Reyes L., Chinchilla M., Catarinella G. 2002. Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* sp en aguas superficiales en Costa Rica. *Parasitol Latinoam* 57: 63 – 65.
 38. Manual de procedimientos para la vigilancia y control de Leishmaniasis en las Américas, 2019.

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: right;">Página 99 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: right;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> Versión 01</p>

39. Martin, R., Cañavete, C., Cuadros, J., Martínez, R., Cercenado, E., Canton, R., (2009), "Procedimientos en Microbiología Clínica", recuperado del (9-102020). <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia49.pdf>.
40. Mínguez Pérez, M. y A Benages Martínez, A. Escala de Bristol: ¿un sistema útil para valorar la forma de las heces? Rev. Esp. Enferm. Dig. [online]. 2009, vol.101, n.5, pp.305-311. ISSN 1130-0108.
41. Ministerio de Salud de Costa Rica. Norma de Malaria.2023. Recuperado el 02/07/25 de <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/biblioteca-de-archivos-left/documentos-ministerio-de-salud/vigilancia-de-la-salud/normas-protocolos-guias-y-lineamientos/enfermedades-de-transmision-vectorial-1/malaria-1/6195-version-2-2023-protocolo-de-vigilancia-para-malaria-y-estrategia-nacional-para-la-eliminacion-y-prevencion-del-restablecimiento-de-la-transmision-de-malaria-en-costa-rica/file>.
42. OPS/OMS www.paho.org. Enfermedad de Chagas.
43. Pereira Aurea, Pérez Mónica. Amebas de Vida Libre. Parasitología. Volumen 22 N°6 2003.
44. Pérez Wilson J, García Ramos V, Norris Squirrell F y D Velásquez Muñoz. Nuevas técnicas diagnósticas para *Demodex* en la rosácea la demodicosis. ELSEVIER. <https://doi.org/10.1016/j.piel.2021.01.003>.
45. Pérez Wilson J, García Ramos V, Norris Squirrell F y D Velásquez Muñoz. Nuevas técnicas diagnósticas para *Demodex* en la rosácea y la demodicosis. ELSEVIER. <https://doi.org/10.1016/j.piel.2021.01.003>.
46. Procedimiento tomado de inserto del kit NOVA TEST One Step FOB-TRF Rapid Test, fabricado por Atlas LinkTechnology Co. Distribuido por Briscar S.A. San José, Costa Rica. Año 2020.
47. Riera, Cristina. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas. SEQC, Ed Cont Lab Crin; 16:82-92, 2012-2013.
48. Rodríguez Cavallini, E. et al. Bacteriología general. Procedimientos y prácticas de laboratorio. 2 ed., Editorial UCR, 2016.
49. Rodríguez R, Méndez O, Molina et al. Infección del Sistema Nervioso Central por Amebas de vida libre: comunicación de tres nuevos casos venezolanos. Revista Neurología 199826 (154):1005-1008.
50. Rokaff H y Rose, N. Química Orgánica fundamental. Editorial Limusa, México, 1974.
51. Schosinsky, K y col. Manual de técnicas de laboratorio en Química Clínica. X edición. Editorial Universidad de Costa Rica. 1997.
52. Siqueira-Batista, Rodrigo; Meneses-Quintas, Luyis Eduardo y Rubén Alberto Storino. Diagnóstico de laboratorio de la Enfermedad de Chagas. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica XLI (527) 69-78: 1994.
53. Ministerio de Salud. 2024. Lineamiento Nacional para la Vigilancia de Miasis por Gusano Barrenador en Humanos, versión 001.


	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 100 de 102</p>
<p><i>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825</i> <i>Versión 01</i></p>

54. Caja Costarricense de Seguro Social. 2024. Lineamiento Técnico para estandarizar el manejo las personas usuarias con miasis causadas por las larvas del gusano barrenador en la Caja Costarricense de Seguro Social, LT.GM.DDSS. AAIP.210624.
55. INCIENSA. Procedimiento Operativo Estándar para el diagnóstico microscópico de malaria CNRP-LM-PE05, Versión 4.
56. Ministerio de Salud. 2010. Norma de atención integral de la Enfermedad de Chagas CIE-10: B57.
57. Beaver Ch, Jung R. & Cupp E. 2003. Parasitología Clínica de Craig. 3a Ed. Masson Doyma México.
58. Fernández, G., Rivaya, B., Romaní, N., Hao, J., Alcaide, M. y Mata, L. 2016. Diagnóstico de las infecciones por geo helmintos. Un problema sin resolver en la era de las ómicas. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 37 (S1).

COORDINACIÓN NACIONAL DE LABORATORIOS CLÍNICOS

Dra. Ana Lorena Torres Rosales
Coordinadora Nacional

14. Anexos

	<p style="text-align: center;">GERENCIA MÉDICA DIRECCIÓN DE DESARROLLO DE SERVICIOS DE SALUD ÁREA DE REGULACIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</p>	<p style="text-align: center;">Página 101 de 102</p>
<p>Coordinación Nacional de Laboratorios Clínicos</p>	<p style="text-align: center;"><i>Manual de Procedimientos de Parasitología</i></p>	<p style="text-align: center;">MP.GM.DDSS.ARSDT.LC.210825 Versión 01</p>

14.1. Anexo 1. Criterio de aceptación de muestras clínicas para procesar en Parasitología

Criterio de aceptación de muestras clínicas para procesar en Parasitología.

Tipo de muestra	Criterio de aceptación
Esputo	Muestra no debe ser salivosa.
Lesión para la búsqueda de ácaros (<i>Demodex</i> o <i>Sarcoptes</i>)	Evitar el uso de cremas, maquillaje, utilización de sustancias antimicrobianas u otros. La piel debe llegar limpia.
Lesión para la búsqueda de <i>Leishmania</i> sp	Persona usuaria no debe haber utilizado ninguna terapia antibacteriana en la última semana.
Materia fecal	La muestra no debe estar derramada. Debe recibirse en el recipiente provisto por la Institución, con la identificación de la persona usuaria (Nombre y número de identificación) en el frasco nunca en la tapa. Muestra de preferencia recién evacuada y recolectada. Cantidad de muestra: si la muestra es sólida debe ser al menos del tamaño de una nuez y si la muestra es líquida al menos 10 mL. Si se requiere la determinación de calprotectina la muestra debe mantenerse en frío desde la recolección y hasta ser entregada en el laboratorio (no congelada). Si se requiere la determinación de elastasa la muestra debe mantenerse en frío desde la recolección y hasta ser entregada en el laboratorio (no congelada).
Secreción vaginal	La muestra de secreción vaginal debe ser recibida en tubo de ensayo con solución salina estéril o medio de transporte.
Técnica de Graham	Persona usuaria debe presentar al Laboratorio Clínico sin haberse aseado el área perianal y en la medida de lo posible que no haya defecado.

14.2. Anexo 2. Características morfológicas de larvas de *Strongyloides stercoralis* y uncinarias (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*)



Cuadro comparativo para la identificación de larvas de *Strongyloides stercoralis* y uncinarias (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*)

Estadio	Característica	<i>Strongyloides stercoralis</i>	Uncinarias
Larva rabbitiforme	Tamaño	180-380 μm x 14-20 μm	250 μm x 20 μm
	Cápsula bucal	Corta	Larga y angosta
	Esófago	Rabbitiforme	Bulboso
	Primordio genital	Prominente	Puntiforme o no visible
Larva filariforme	Tamaño	500-630 μm x 14 μm - 16 μm	560 μm - 630 μm x 14 μm -16 μm
	Esófago	Cilíndrico que ocupa la mitad del cuerpo	Cilíndrico que ocupa un tercio del cuerpo
	Extremo caudal	Romo o bifurcado	Puntiagudo
	Vaina	Ausente	Presente

Fuente: Adaptado de Beaver y otros, 2003; Fernández y otros, 2016