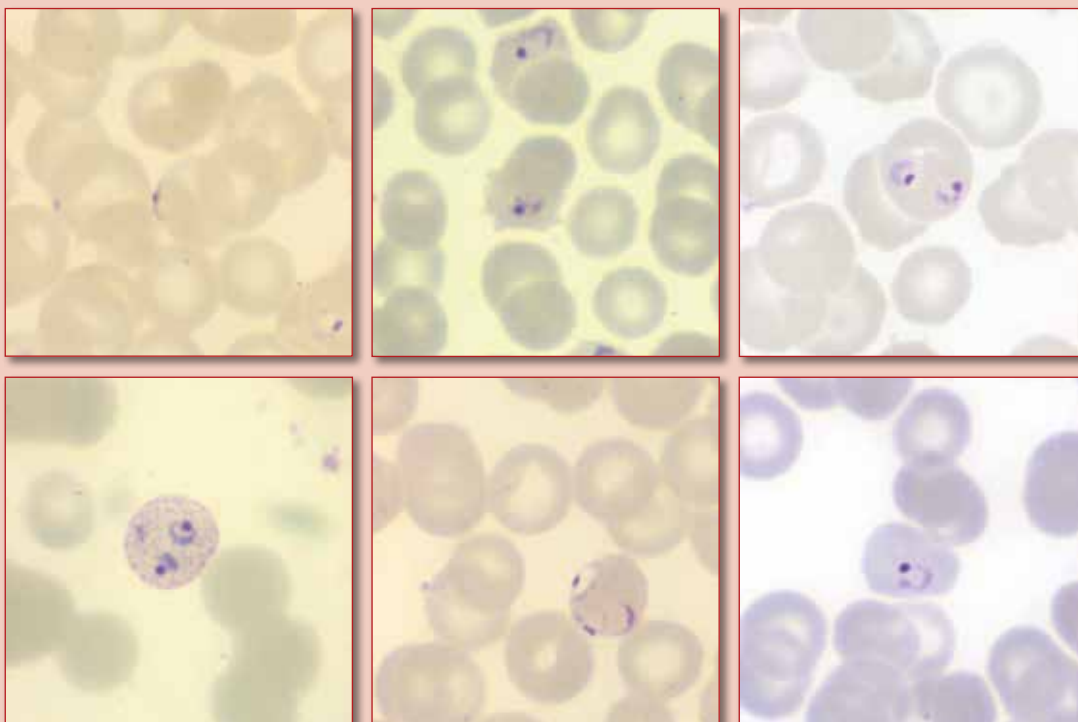


Bases del
DIAGNÓSTICO
MICROSCÓPICO
DEL PALUDISMO
Parte I. Guía del alumno



Segunda edición



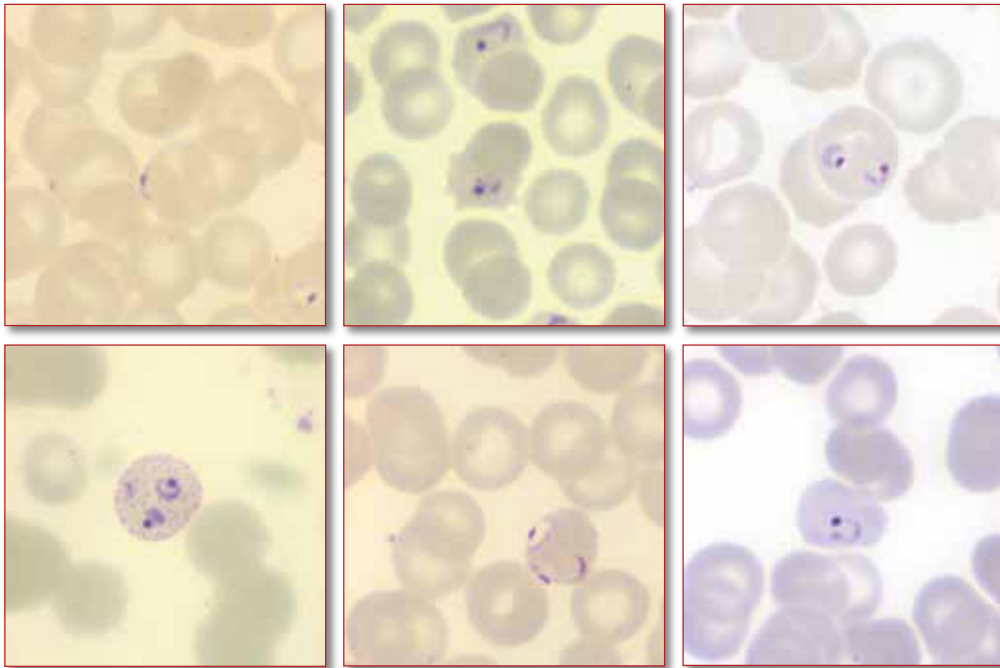
**Organización
Mundial de la Salud**

Esta segunda edición de *Bases del diagnóstico microscópico del paludismo* es un producto autónomo que contiene todo lo necesario para llevar a cabo un curso completo. Ha sido compilada por John Storey, teniendo en cuenta las aportaciones de muy diversos profesionales y expertos que han utilizado la primera edición de la obra, publicada por la OMS en 1991.

Sigue estando ilustrada con las bellas y fieles acuarelas hechas para la primera edición del manual por el difunto *Yap Loy Fong*. La experiencia ha demostrado que los dibujos en color son mejores para enseñar a los alumnos a reconocer los estadios y las especies del parásito porque las ilustraciones bidimensionales los ayudan a extrapolar lo que ven al microscopio, en varios planos focales, para obtener una visión completa del parásito. Posteriormente podrán pasar de los dibujos a las microfotografías, que también harán su aportación didáctica. El curso se verá reforzado si también se le ofrecen a los alumnos copias de la publicación de la OMS titulada *Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo*.

Portada: microfotografías de extensiones finas teñidas con Giemsa que muestran (en el sentido de las agujas del reloj, empezando por el extremo superior izquierdo): trofozoítos inmaduros (fase de anillo) de 1) *Plasmodium falciparum*, 2) *Plasmodium vivax*, 3) *Plasmodium malariae* y 4) *Plasmodium ovale*, y trofozoítos maduros de 5) *Plasmodium falciparum* y 6) *Plasmodium vivax*.

Bases del
DIAGNÓSTICO
MICROSCÓPICO
DEL PALUDISMO
Parte I. Guía del alumno



Segunda edición



**Organización
Mundial de la Salud**

Catalogación por la Biblioteca de la OMS:

Bases del diagnóstico microscópico del paludismo – 2ª ed.

Contenido: Parte 1: Guía del alumno – Parte 2: Guía del instructor.

1. Malaria - diagnóstico. 2. Manuales de Laboratorio. 3. Microscopía. 4. Materiales de Enseñanza.
I. Organización Mundial de la Salud.

ISBN 978 92 4 354782 4 (Parte 1)

(Clasificación NLM: WC 25)

© Organización Mundial de la Salud 2014

Se reservan todos los derechos. Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud están disponibles en el sitio web de la OMS (www.who.int) o pueden comprarse a Ediciones de la OMS, Organización Mundial de la Salud, 20 Avenue Appia, 1211 Ginebra 27, Suiza (tel.: +41 22 791 3264; fax: +41 22 791 4857; correo electrónico: bookorders@who.int). Las solicitudes de autorización para reproducir o traducir las publicaciones de la OMS – ya sea para la venta o para la distribución sin fines comerciales – deben dirigirse a Ediciones de la OMS a través del sitio web de la OMS (http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html).

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Mundial de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

La Organización Mundial de la Salud ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la Organización Mundial de la Salud podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.

Diseño y diagramación: WHO Graphics
Printed in Switzerland

Índice

Prefacio	1
Introducción	3
<hr/>	
Unidad didáctica 1	
La enfermedad: el paludismo	7
<hr/>	
Unidad didáctica 2	
Cómo limpiar y guardar los portaobjetos	13
<hr/>	
Unidad didáctica 3	
Mantenimiento de registros exactos	19
<hr/>	
Unidad didáctica 4	
Preparación de las extensiones de sangre	21
<hr/>	
Unidad didáctica 5	
Tinción de las extensiones de sangre con colorante de Giemsa	29
<hr/>	
Unidad didáctica 6	
El microscopio	37
<hr/>	
Unidad didáctica 7	
Examen de las extensiones	47
<hr/>	
Unidad didáctica 8	
Examen de las extensiones en busca de plasmodios	53
<hr/>	
Unidad didáctica 9	
Examen sistemático de las preparaciones	71
<hr/>	
Unidad didáctica 10	
La supervisión en el diagnóstico microscópico del paludismo	79



Prefacio a la segunda edición

En una reunión consultiva oficiosa de la OMS sobre la garantía de la calidad del diagnóstico microscópico del paludismo que se celebró en Kuala Lumpur (Malasia) en 2004 se recomendó que se revisara la edición de 1991 de la publicación de la OMS sobre las bases del diagnóstico microscópico del paludismo.¹ El resultado de esa recomendación es esta segunda edición.

Desde 1991 ha habido pocos cambios en la microscopía del paludismo, pero muchos en la forma de diagnosticar y tratar la enfermedad. Las comunidades remotas entienden mejor que el paludismo es una emergencia médica que requiere rapidez en el diagnóstico y el tratamiento. Los servicios de microscopía se están renovando y mejorando en muchos países como parte de los intentos de ampliar el acceso al tratamiento. La confirmación parasitológica del diagnóstico del paludismo fortalecerá la vigilancia de la enfermedad y mejorará su control.

Los microscopistas son fundamentales para los programas de lucha contra el paludismo, y de sus aptitudes diagnósticas y técnicas dependen los servicios tanto curativos como de vigilancia de la enfermedad. Por consiguiente, la formación en materia de diagnóstico microscópico del paludismo debe ser sólida y estar adaptada al alto grado de exigencia actual. Cuando los microscopistas están bien formados y pueden establecer diagnósticos de paludismo de calidad garantizada, las comunidades en riesgo tienen mayor confianza en sus servicios y hay beneficios tanto para los pacientes como para los prescriptores.

El presente módulo de formación se ha adaptado al cambio de condiciones. El manual se divide en dos partes: una *Guía del alumno* (Parte I) y una *Guía del instructor* (Parte II). El módulo incluye también un CD-ROM, preparado por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos de América, que contiene microfotografías de diferentes especies de parásitos causantes del paludismo (plasmidios), así como información técnica en formato PowerPoint que se puede mostrar durante las sesiones de formación y a la que pueden remitirse los participantes. Se presta especial atención a la enseñanza y el aprendizaje, y en particular a la monitorización y evaluación de las personas y los grupos durante el curso.

El programa sobre las bases del diagnóstico microscópico del paludismo sigue fundamentándose en la consecución de metas de competencia preestablecidas. Se ha procurado establecer los criterios apropiados que cualifican al participante para graduarse y los progresos que debe hacer entre una unidad didáctica y la siguiente. El grado de competencia que hay que alcanzar al final de este curso es el nivel mínimo definido en el manual de la OMS sobre garantía de la calidad del

¹ OMS. *Basic malaria microscopy: Part I Learner's guide; Part II Tutor's guide*. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1991.

diagnóstico microscópico del paludismo.¹ Por ejemplo, se considera que todos los participantes pueden «alcanzar una exactitud del 80% en el diagnóstico de los plasmodios» (evaluada con una serie normalizada de preparaciones microscópicas). No obstante, se reconoce la posibilidad de que algunos programas todavía no puedan alcanzar ese nivel y deban fijar inicialmente sus propios objetivos. Los organizadores del curso deben establecer el nivel que esperan que alcancen sus alumnos. Una vez que estos se hayan graduado, tendrán que tomar decisiones que determinan la conducta clínica ante una enfermedad potencialmente mortal, por lo que hay que garantizar un alto nivel de competencia.

Esta segunda edición de *Bases del diagnóstico microscópico del paludismo* es un producto autónomo que contiene todo lo necesario para llevar a cabo un curso completo. Sigue estando ilustrada con las bellas y fieles acuarelas hechas para la primera edición del manual por el difunto Yap Loy Fong. La experiencia ha demostrado que los dibujos en color son mejores para enseñar a los alumnos a reconocer los estadios y las especies del parásito porque las ilustraciones bidimensionales los ayudan a extrapolar lo que ven al microscopio, en varios planos focales, para obtener una visión completa del parásito. Posteriormente podrán pasar de los dibujos a las microfotografías, que también harán su aportación didáctica. El curso se verá reforzado si también se les ofrecen a los alumnos copias de la publicación de la OMS titulada *Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo*.²

El texto de la presente edición ha sido revisado de forma exhaustiva por John Storey, teniendo en cuenta las observaciones de las personas siguientes: Profesor Ahmed A. Abdel-Hameed Adeel, Dr. Majed Al Zedjali, Dr. Hoda Atta, Dr. A. Beljaev, Dr. David Bell, Dr. Andrea Bosman, Sra. Leigh Dini, Dr. John Frean, Dr. M.A. Khalifa, Dr. D. Klarkowski, Dr. Ken Lilley, Dr. Earl Long y Dr. R. Velayudhan. Además, Donato Esparar, Ronald Espina, Sherwin Galit, Zenaida Grad, Felisa Guballa, John Fiel Porto y Arlene Leah Santiago probaron las nuevas claves de las extensiones gruesas y finas que figuran en la *Guía del alumno*, e hicieron valiosos comentarios al respecto.

Este proyecto del Programa Mundial sobre Malaria de la OMS ha sido coordinado por la Oficina Regional de la OMS para el Pacífico Occidental y ha recibido apoyo financiero de AusAid y de la Federación de Rusia, a quienes se agradece cumplidamente.

1 OMS. *Malaria microscopy quality assurance manual*. Manila, Oficina Regional de la OMS para el Pacífico Occidental, 2009.

2 OMS. *Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo*. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2009.

Introducción

Guía del alumno

El presente manual (Parte I del módulo de formación sobre Bases del diagnóstico microscópico del paludismo) será una ayuda para los participantes durante su formación en materia de diagnóstico microscópico del paludismo humano. Ideada como base de un curso de 4 a 5 semanas de duración, la guía está destinada a participantes que solo tienen conocimientos científicos elementales.

Una vez completada su formación, estas personas serán las encargadas de diagnosticar el paludismo en las extensiones de sangre de los casos sospechosos que se presenten en sus comunidades, y de su competencia para garantizar un diagnóstico sin supervisión dependerán importantes decisiones terapéuticas. Para ganar la confianza del público y del sistema de salud, la calidad de la formación de este personal tendrá que ser lo más alta posible, y habrá que poder demostrar que lo es.

El curso tiene una estructura basada en la adquisición de competencias que expone de forma fácilmente comprensible las instrucciones sobre los procedimientos y la información técnica esencial para adquirir las aptitudes. La formación es en su mayor parte de carácter práctico. Al final del curso los alumnos tienen que demostrar haber adquirido un alto nivel de competencia. La formación basada en la adquisición de competencias es una forma eficaz y comprobada de adquirir aptitudes esenciales para los servicios de salud pública y de atención de salud.

Los módulos se pueden utilizar no solo para capacitar a los trabajadores sanitarios en materia de diagnóstico microscópico del paludismo, sino también para actualizar los conocimientos del personal que ya esté realizando el diagnóstico microscópico convencional del paludismo, basado en la tinción de Giemsa. Como este personal ya tiene unos conocimientos y una experiencia laboral sólida, podría alcanzar los objetivos del curso en tan solo 11 o 12 días de trabajo. Los técnicos de laboratorio de los hospitales distritales y provinciales familiarizados con los procedimientos de laboratorio pueden beneficiarse de un curso abreviado; aunque el diagnóstico microscópico del paludismo forma parte de sus tareas cotidianas, los cursos de actualización de conocimientos son beneficiosos para garantizar la exactitud del diagnóstico.

La presente guía está dividida en unidades didácticas. Las notas e instrucciones que hay en cada unidad son suficientes para reducir al mínimo la necesidad de que los participantes tomen apuntes, con lo que pueden participar plenamente en las exposiciones y debates. Al final de cada unidad hay una página para notas.

Como se describen y siguen procedimientos operativos normalizados, la guía seguirá sirviendo de referencia una vez finalizado el curso. Esto es especialmente útil para quienes trabajan en zonas aisladas, donde, pese a ello, hay que seguir garantizando un alto nivel.

Antes de pasar de una unidad didáctica a la siguiente, los alumnos deben alcanzar un determinado nivel de competencia en cada una de las aptitudes. Si no lo hacen, eso indica que sus aptitudes son insuficientes y tendrán que repetir la unidad hasta que se demuestre que dominan el tema.

Nota: Los niveles de exactitud diagnóstica se basan en grados mínimos de competencia, tal como se definen en el manual de la OMS sobre la garantía de la calidad del diagnóstico microscópico del paludismo.¹ Generalmente se fijan en el 80–95%. Por ejemplo, un microscopista que trabaje en un centro periférico debe ser capaz de detectar con exactitud la presencia del parásito en el 90% de las preparaciones y de identificar correctamente las especies de Plasmodium en el 80% de ellas tras el examen de una serie normalizada de preparaciones necesario para obtener la acreditación. Estas cifras pueden parecerles demasiado altas a algunos, y demasiado bajas a otros; los niveles finales los decidirán los organizadores de los cursos. Cuando está en riesgo la vida de los pacientes se debe alcanzar el máximo nivel de exactitud. Con este tipo de formación y el tiempo de prácticas que se ofrece, los participantes deberían ser capaces de alcanzar el nivel de exactitud elegido para el curso. Esta estrategia mantiene los errores del diagnóstico microscópico en el nivel más bajo posible, y ayuda a reducir la morbilidad y la mortalidad del paludismo grave en las comunidades.

El último renglón del siguiente proverbio chino describe bien la formación basada en la adquisición de competencias. Los facilitadores y los alumnos seguirán esta estrategia a lo largo del curso.

**Oye y olvidarás.
Ve y recordarás.
Haz y comprenderás.**

Objetivos del curso

Objetivos generales

Los objetivos generales describen a grandes rasgos lo que los alumnos estarán capacitados para hacer al final del curso:

- organizar y dirigir un pequeño laboratorio de diagnóstico microscópico del paludismo, y
- diagnosticar con exactitud las infecciones palúdicas utilizando para ello la tinción de Giemsa y procedimientos operativos normalizados reconocidos internacionalmente.

Objetivos específicos

Los objetivos específicos abarcan una serie de conocimientos, aptitudes y actitudes que los participantes han de adquirir, así como su capacidad para utilizarlos. Asimismo, ilustran el método progresivo que se utiliza para alcanzar cada objetivo. Los participantes deben ser conscientes de lo que se espera de ellos desde el principio mismo del curso.

¹ OMS. *Malaria microscopy quality assurance manual*. Manila, Oficina Regional para el Pacífico Occidental, 2009.

Una vez finalizado el curso, los alumnos tienen que haber adquirido las aptitudes y competencias necesarias para:

- describir la importancia del paludismo como enfermedad potencialmente mortal, cuyo diagnóstico y tratamiento precoces y exactos son esenciales para la recuperación y la supervivencia de los pacientes;
- describir cuatro signos y síntomas clínicos frecuentes en pacientes con paludismo;
- registrar en los formularios pertinentes del laboratorio o del estudio los datos que sean necesarios para la posterior obtención de información sobre los pacientes y su seguimiento;
- demostrar su capacidad para preparar correctamente los portaobjetos en los que realizarán las extensiones de sangre;
- preparar adecuadamente un número determinado de extensiones gruesas y finas;
- demostrar que adoptan las prácticas y las precauciones correctas para evitar la transmisión de patógenos de origen sanguíneo durante la manipulación de la sangre;
- demostrar que realizan correctamente los procedimientos de la tinción de Giemsa de las extensiones gruesas y finas para el diagnóstico microscópico del paludismo;
- ejecutar y describir los métodos utilizados para mantener los microscopios en estado de funcionamiento;
- ejecutar y utilizar los procedimientos correctos para examinar las extensiones gruesas y finas en busca de plasmodios;
- demostrar que son capaces de identificar correctamente los componentes normales de la sangre;
- reconocer e identificar los plasmodios presentes en las extensiones de sangre; identificar su estadio, las especies presentes (*Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* o *P. ovale*) y las infecciones mixtas; y determinar la densidad de parásitos presentes en la extensión;
- registrar los resultados del examen microscópico en el formulario correcto;
- comunicar los resultados a los responsables a su debido tiempo;
- demostrar que entienden las cuestiones éticas y la obligación de mantener la confidencialidad de los datos del paciente;
- seguir correctamente los procedimientos del programa nacional, presentar informes, guardar las preparaciones para que se puedan realizar auditorías y preparar las solicitudes de suministros para garantizar el buen funcionamiento del centro de microscopía;
- utilizar el manual como recurso para enseñar a los trabajadores sanitarios cómo preparar extensiones finas y gruesas, como parte de la transferencia de conocimientos y del desarrollo de los equipos, y
- organizar la colaboración necesaria para la supervisión periódica del trabajo del laboratorio de acuerdo con las políticas y las exigencias del programa nacional de control del paludismo.

Nota: Excepto cuando se indique lo contrario, por «tinción» se entenderá la tinción de Giemsa.

El programa de formación

El curso será dirigido por un tutor, con la ayuda de un equipo de facilitadores. La clase se dividirá en pequeños grupos de tres a cinco participantes, y a cada grupo se le asignará un facilitador que, con la ayuda de la *Guía del alumno*, orientará a los participantes en cada unidad didáctica. El facilitador velará por que cada alumno reciba orientación apropiada y alcance los niveles exigidos. De este modo, los alumnos recibirán atención individualizada de un facilitador experimentado que seguirá sus progresos para garantizar que todos alcancen el nivel exigido antes de pasar a la unidad siguiente, y que les proporcionará asesoramiento adicional en caso de que sea necesario.

Las clases consistirán en exposiciones de 15 a 20 minutos, seguidas de actividades tales como demostraciones, debates en pequeños grupos y representaciones. La mayor parte del curso consistirá en sesiones prácticas. Las prácticas regulares ayudarán a los alumnos a adquirir las aptitudes y los conocimientos necesarios para realizar con eficacia el diagnóstico microscópico del paludismo en muestras teñidas con el método de Giemsa. El horario del curso ofrecerá el máximo tiempo posible de prácticas, para que los alumnos puedan adquirir experiencia práctica en todos los aspectos del diagnóstico microscópico del paludismo. El trabajo sobre el terreno forma parte de las prácticas y tiene el objetivo adicional de ofrecer experiencia en las relaciones interpersonales de trabajo con pacientes sospechosos de paludismo en la vida real, lo cual puede poner de manifiesto otros problemas que pueden surgir en situaciones cotidianas.

Periódicamente se realizarán evaluaciones oficiales para determinar los progresos realizados y obtener información individual y colectiva.

Evaluación del alumno: esas evaluaciones pueden consistir en preguntas con múltiples opciones, exámenes sobre cuestiones clave, exposiciones de los participantes o exámenes de preparaciones microscópicas seleccionadas previamente. Estos últimos se convertirán en un ejercicio regular a medida que los alumnos vayan avanzando en el curso, ayudarán a los facilitadores a juzgar los progresos de cada uno, y serán útiles para identificar las áreas en las que un alumno pueda tener problemas, dándole la oportunidad de plantearlos y corregirlos.

Evaluación del curso por el alumno: Mediante un cuestionario, el tutor pedirá a los alumnos que opinen sobre el curso y la forma de mejorarlo. Estas sesiones de evaluación periódicas también permitirán que los participantes opinen sobre la enseñanza, su nivel, la calidad de los materiales utilizados y otros aspectos del curso. Los alumnos harán sus comentarios desde el anonimato, lo cual permite introducir modificaciones beneficiosas.

El tutor y los facilitadores harán una presentación del curso y de los materiales que se utilizarán, entre ellos el presente manual. Si tuviera alguna dificultad durante cualquier parte del curso no dude en ponerse en contacto con el facilitador para pedirle ayuda.

**Lea la unidad didáctica 1 como preparación
para el inicio del curso.**

Unidad didáctica 1

La enfermedad: el paludismo

Objetivos didácticos

Cuando haya terminado esta unidad, podrá:

- **explicar** por qué el paludismo es un problema importante de salud pública en muchas partes del mundo;
- **describir** cuatro síntomas frecuentes de la enfermedad;
- **explicar** por qué algunas personas tienen parásitos causantes del paludismo en la sangre pero no presentan síntomas;
- **explicar** cómo producen los parásitos la enfermedad humana;
- **explicar** cómo las hembras de algunas especies del mosquito *Anopheles* transmiten el paludismo, y
- **explicar** por qué el diagnóstico exacto del paludismo depende de una correcta identificación microscópica.

La importancia del paludismo

El paludismo es un problema grave de salud pública en muchas partes del mundo. Los ataques pueden ser graves y producir la muerte rápidamente si no se tratan. Las comunidades con mucho paludismo tienen muchos de sus miembros con enfermedad crónica, lo cual produce absentismo laboral y escolar. Además de generar un elevado gasto en tratamientos, los ataques repetidos también afectan a la educación, a la cantidad de alimentos que las familias pueden cultivar y a sus ingresos. El paludismo supone un grave riesgo para las embarazadas y los lactantes, y es una causa frecuente de aborto espontáneo. En zonas donde la transmisión es elevada, el paludismo es causa de bajo peso al nacer y de anemia materna (el riesgo es especialmente elevado en el primer embarazo). La falta de conocimientos sobre el paludismo, la pobreza y la enfermedad crónica se combinan para crear un círculo vicioso del que es difícil salir.

La causa del paludismo es un parásito (un pequeño organismo vivo) denominado plasmodio que infecta los glóbulos rojos del paciente y se transmite de persona a persona por la picadura de mosquitos *Anopheles* hembra. El parásito debe completar un ciclo biológico complejo en el mosquito y en el ser humano antes de que se pueda producir su transmisión. En el vector (el mosquito) el ciclo dura entre 1 y 3 semanas, dependiendo de varios factores, tales como la especie del parásito, la temperatura ambiente y la humedad relativa.

En años recientes se ha intentado controlar la enfermedad mediante el uso de mosquiteros tratados con insecticida, el diagnóstico rápido y el tratamiento apropiado, medidas que en algunos países han producido reducciones importantes de la mortalidad y la morbilidad. Sin embargo, en otros lugares el paludismo sigue siendo la principal causa de enfermedad y muerte.

Signos y síntomas del paludismo

La enfermedad es relativamente fácil de reconocer en personas que no la han padecido antes o que han tenido pocos ataques. Los síntomas habituales del paludismo son: fiebre elevada, dolor de cabeza, escalofríos más o menos intensos, sudoración profusa y dolores generalizados. Algunos pacientes pueden tener vómitos, tos o diarrea. En caso de infección persistente y recurrente puede haber anemia.

Como hay otras enfermedades frecuentes que presentan las mismas manifestaciones clínicas, son necesarios otros estudios antes de que se pueda establecer un diagnóstico fiable de paludismo. La presentación clínica del paludismo es aún menos clara en pacientes que han tenido múltiples ataques, pues generalmente no muestran signos ni síntomas obvios. Asimismo, hay que establecer si el paciente ha tomado antipalúdicos antes de acudir al hospital, pues eso puede modificar la presentación clínica. Al reducir la densidad de parásitos a niveles muy bajos, el tratamiento antipalúdico previo puede dificultar el diagnóstico microscópico. Es importante conocer el tratamiento recibido para evitar la sobredosis de antipalúdicos, que puede ser peligrosa, sobre todo en pacientes que ingresan inconscientes.

¿Cuál es la mejor forma de diagnosticar el paludismo?

En los laboratorios de paludismo de pueblo, distrito o provincia el método más fiable para diagnosticar el paludismo consiste en el examen microscópico de una extensión de sangre teñida, realizado por un microscopista experimentado. El diagnóstico microscópico del paludismo es un ejercicio especializado que requiere aptitudes visuales y diferenciales precisas, además de mucho cuidado en todas las etapas de los procedimientos operativos normalizados.

Nota: El tutor o el facilitador le explicarán el significado de 'aptitudes visuales' y 'aptitudes diferenciales'; así como de otras palabras que figuran en este texto con las que es posible que no esté familiarizado. La mayoría de ellas las entenderá fácilmente después de esas explicaciones.

El paludismo es causado por un parásito presente en la sangre; los parásitos son muy pequeños (microscópicos), y solo pueden verse al microscopio con muchos aumentos. Sin embargo, para poder verlos, antes hay que hacer una extensión de la sangre, secarla y teñirla; solo entonces podrá examinarse al microscopio. Cuando el microscopista ve los parásitos teñidos se confirma el diagnóstico del paludismo. Con las aptitudes adquiridas durante este curso los microscopistas podrán

identificar las fases, las especies y la densidad de los plasmodios. Con esta información, el médico u otro profesional sanitario puede tratar al paciente de la mejor forma posible y con los antipalúdicos más apropiados.

La sospecha de paludismo es una emergencia, y el paciente debe consultar rápidamente a un profesional sanitario. El examen de las extensiones de sangre del paciente garantiza un diagnóstico rápido y contribuye a que reciba el tratamiento correcto precozmente. Si no se hace esto, el paciente corre un gran riesgo.

Cuando lea las descripciones de los diferentes pasos del diagnóstico microscópico del paludismo probablemente le parezcan muy difíciles de aprender, pero no es así. Con las unidades didácticas 2 a 10 y la ayuda del facilitador aprenderá todos esos pasos y lo que tiene que hacer para ejecutar ese trabajo. Cuando haya llegado al final de la unidad 10 habrá logrado las aptitudes más importantes para el diagnóstico microscópico del paludismo y en reconocimiento de ello se le entregará un certificado o acreditación de competencia, según las políticas vigentes en su país. A lo largo del curso también se le explicará esto.

Es posible que los pacientes diagnosticados equivocadamente de paludismo no sean sometidos a más estudios, y ello puede hacer que pase inadvertida otra enfermedad grave.

El ciclo biológico de los plasmodios

A título informativo, en la figura 1 se presenta el ciclo biológico de los plasmodios, para que vea lo complejo que es y lo difícil que puede resultar el control del paludismo. Si el facilitador no se lo exige, no necesita memorizar las diferentes fases del ciclo, y siempre podrá consultar este texto y el diagrama que figura al final de esta unidad.

El paludismo en el mosquito vector

El ciclo sexual. El ciclo sexual de los plasmodios empieza cuando una hembra de determinadas especies de mosquitos *Anopheles* pica a una persona infectada. Los parásitos macho (*microgametocitos*) presentes en la sangre de la persona infectada producen en el estómago del mosquito entre cuatro y ocho flagelos. Cada flagelo se separa del organismo progenitor y «nada» por la sangre que se está coagulando en el estómago del mosquito; cuando encuentra un parásito hembra (*macrogametocito*) se introduce en él y lo fertiliza. Tras la fertilización se forma un cigoto que atraviesa la pared del estómago del mosquito, metiéndose entre sus células, y se

enquista bajo su capa más externa. En este oocisto los parásitos se multiplican hasta que el oocisto contiene muchos miles de nuevos parásitos. El oocisto acaba rompiéndose y liberando los parásitos fusiformes denominados esporozoítos, que migran hacia las glándulas salivares del mosquito. El tiempo necesario para que se complete el ciclo biológico del parásito en el mosquito, es decir, desde que el mosquito hembra ingiere la sangre infectada hasta que puede transmitir el paludismo, varía dependiendo de la especie y de la temperatura y la humedad del ambiente, pero es generalmente de 7 a 21 días.

El paludismo en el ser humano

La fase hepática

Cuando la hembra de *Anopheles* infectada pica a una persona, los *esporozoítos* se introducen junto con la saliva que el mosquito utiliza como anticoagulante. Este anticoagulante evita que la sangre se coagule en la estructura tubular muy estrecha denominada proboscis (la boca del mosquito). Una vez dentro del ser humano, los esporozoítos se dirigen rápidamente al hígado, donde intentan invadir las células hepáticas.

En las células hepáticas infectadas, cada parásito se divide y genera muchos miles de nuevos parásitos en un periodo de 7 a 21 días. La célula hepática aumentada de tamaño, denominada *esquizonte hepático*, acaba rompiéndose y liberando hacia el torrente sanguíneo miles de *merozoítos* que rápidamente se adhieren a los glóbulos rojos y penetran en ellos. Después de entrar en los glóbulos rojos, los parásitos empiezan a alimentarse del contenido de estas células y van creciendo, convirtiéndose en *trofozoítos*.

Esta breve descripción de lo que ocurre en la fase hepática se aplica a dos de las especies de plasmodios que afectan al ser humano: *P. falciparum* y *P. malariae*. Las otras dos, *P. vivax* y *P. ovale*, tienen un ciclo ligeramente diferente, porque algunos de los parásitos que inicialmente entran en el hígado no se convierten inmediatamente en esquizontes hepáticos, sino que entran en una especie de fase durmiente. Estos parásitos durmientes, denominados hipnozoítos, son los responsables de las recidivas que se producen de tiempo en tiempo tras el primer ataque de paludismo.

La fase sanguínea

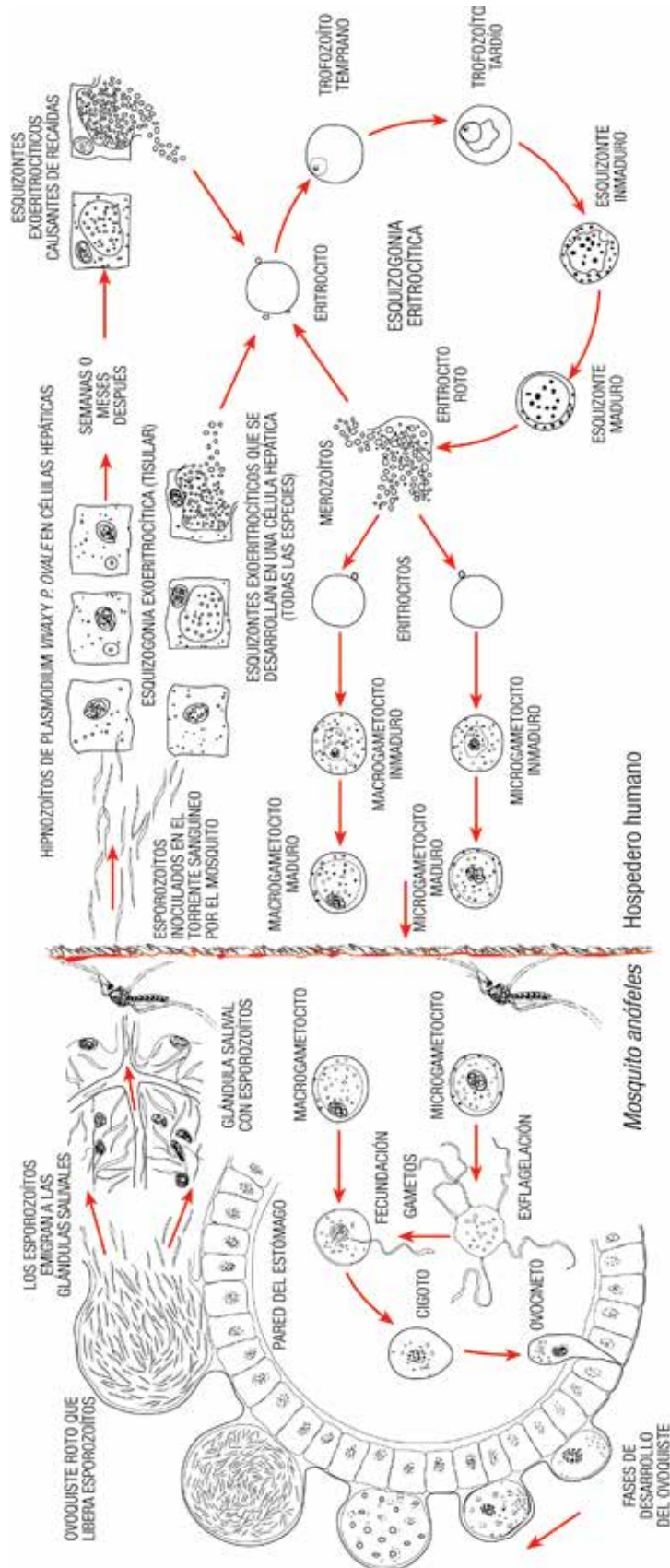
La fase sanguínea constituye el centro de atención de este curso, al final del cual estará usted familiarizado con todos los aspectos de ella.

Por ahora esto es todo lo que necesita saber sobre los plasmodios y su ciclo biológico. El tutor le irá describiendo otros aspectos a medida que el curso vaya avanzando. El diagrama de la figura 1 muestra el ciclo biológico del parásito y su transmisión. En las unidades didácticas 7 y 8 adquirirá más conocimientos sobre el aspecto de los parásitos en las extensiones finas y gruesas.

Para asentar las ideas, lea nuevamente la introducción y la unidad didáctica 1, y después lea la unidad didáctica 2 como preparación para la próxima sesión.

Figura 1. El ciclo biológico de los plasmodios

Figura reproducida, con ligeras modificaciones, de *Bruce-Chwatt's essential malariaology*, Londres: Arnold, 1993. Con el permiso de H.M. Gilles y D.A. Warrell, editores.



Notas

Unidad didáctica 2

Cómo limpiar y guardar los portaobjetos

Objetivos didácticos

Cuando haya terminado esta unidad, podrá:

- **describir** un procedimiento operativo normalizado y explicar su importancia para el diagnóstico microscópico del paludismo;
- **seleccionar** entre portaobjetos que ya se hayan utilizado antes los que son aptos para realizar extensiones de sangre, y explicar por qué los otros no lo son;
- **ejecutar** las dos formas correctas de lavar, secar, envolver y guardar los portaobjetos para realizar extensiones de sangre.

El trabajo en el laboratorio

Si es la primera vez que trabaja en un laboratorio, es posible que se sienta extraño o nervioso. **No se preocupe**. Una vez que se haya familiarizado con el funcionamiento de los laboratorios se sentirá como si hubiera trabajado en ellos toda la vida. Algunas reglas básicas que hay que seguir en el laboratorio le ayudarán a adaptarse rápidamente.

Reglas básicas en el laboratorio

- No toque, abra ni huela frascos, botes o envases ni productos químicos, a no ser que se le haya dicho que lo haga o que sepa lo que está haciendo y qué contiene el frasco.
- Cuando termine su trabajo límpielo todo. No deje objetos de cristal ni portaobjetos sucios para que otros los laven.
- No beba ni coma en el laboratorio, sino en las zonas habilitadas para ello.
- No fume.
- Utilice las precauciones debidas al manipular muestras biológicas, productos químicos y objetos cortopunzantes, como agujas o lancetas.
- Tome las medidas apropiadas al manipular líquidos que puedan ser corrosivos o ácidos o que desprendan vapores fuertes.
- Use guantes protectores cuando manipule materiales que contengan sangre o estén contaminados por ella.

- Tire los materiales contaminados en recipientes apropiados; si no está seguro, pregúntele a alguien que lo sepa.
- En cuanto acabe el trabajo, lávese las manos con agua y jabón.

Procedimientos operativos normalizados

En la clínica y en los laboratorios se utilizan muchos procedimientos operativos normalizados, que pueden definirse como «una serie de instrucciones por escrito que documentan la forma correcta de llevar a cabo una actividad rutinaria o repetitiva.» Esta es una definición simplista, pero el facilitador le explicará cómo se aplican esos procedimientos a su trabajo. Recuerde que, a medida que vaya avanzando en una unidad didáctica, cada actividad tiene una serie de etapas, y cada una de ellas tiene unas normas. Cuando la etapa se realiza correctamente y se alcanza el nivel deseado, el producto de su trabajo (en esta unidad didáctica los portaobjetos limpios y envueltos) será satisfactorio. Si se aparta de las instrucciones de un procedimiento operativo normalizado, el producto de su trabajo será de peor calidad o menos fiable.

La base de este programa de formación es la observancia de los pasos recomendados. Si lo hace, logrará los niveles de competencia que lo cualificarán para efectuar el diagnóstico microscópico del paludismo.

Lo primero que tiene que aprender es que debe seguir las instrucciones que le dé el facilitador, quien utilizará los procedimientos operativos normalizados que permiten realizar un diagnóstico microscópico fiable del paludismo.

Limpieza de los portaobjetos

Su primera actividad será limpiar correctamente los portaobjetos. Como la mayoría de las actividades de todas estas unidades didácticas, es muy simple, pero si se aparta de los procedimientos estipulados obtendrá malos resultados.

Los portaobjetos que no se hayan limpiado bien reducirán la calidad de las extensiones de sangre y de la tinción, con la consiguiente imprecisión del examen microscópico y del diagnóstico. Esto supone un riesgo para los pacientes. Para evitarlo, asegúrese de que los portaobjetos se hayan seleccionado, limpiado, envuelto y guardado adecuadamente.

Portaobjetos para el diagnóstico microscópico del paludismo

Los portaobjetos de cristal utilizados en la microscopía suelen suministrarse en cajas de 50 o 72. La etiqueta puede decir «lavados» o «limpios».

Para el diagnóstico microscópico del paludismo se prefieren los portaobjetos de vidrio de calidad «superior», con cantos pulidos y una banda mate para etiquetarlos. El cristal de calidad «superior» hace que los portaobjetos no se vuelvan opacos en las condiciones existentes en los climas tropicales. Los portaobjetos de cristal de peor calidad son más baratos, pero se deterioran rápidamente en climas húmedos y calientes; el lavado no elimina las manchas opacas, y los portaobjetos se vuelven inutilizables para un examen microscópico preciso. Aunque las etiquetas digan que los portaobjetos están «lavados» o «limpios», eso no significa que se puedan utilizar directamente nada más sacarlos de la caja. ***Los portaobjetos deben lavarse, secarse y envolverse antes de utilizarlos para realizar extensiones de sangre.***

Los portaobjetos que tengan ligeros arañazos y no se consideren aptos para las extensiones de sangre pueden utilizarse en otras secciones del servicio de laboratorio.

Lavado y preparación de los portaobjetos

A continuación se describen dos formas de lavar y preparar los portaobjetos que se vayan a utilizar en las extensiones de sangre. El facilitador le enseñará todos los pasos necesarios para estos dos métodos, los describirá y le mostrará cómo se ejecutan.

En laboratorios de hospitales

En los hospitales los pacientes suelen llegar de uno en uno y hay tiempo para limpiar los portaobjetos a medida que se vayan necesitando. En tal caso basta abrir una caja nueva de cada vez.

Necesitará:

- una caja de portaobjetos de calidad «superior»;
- un cuenco o barreño de plástico de tamaño mediano;
- un buen detergente líquido o en polvo;
- un trapo de lavar o esponja suave;
- paños de algodón limpios y que no dejen pelusas (de los utilizados para secar la vajilla o la cristalería);
- alcohol metílico;¹
- un bote de boca ancha con tapa de rosca para meter el alcohol y los portaobjetos;
- una fuente de agua limpia.

¹ El metanol (alcohol metílico) es muy tóxico e inflamable; su ingestión, aún en pequeñas cantidades, puede causar ceguera, e incluso la muerte. Mientras no se esté utilizando debe guardarse en un armario bajo llave.

El método:

1. Separe los nuevos portaobjetos unos de otros e introdúzcalos en la solución de detergente durante 4 a 8 horas (toda la noche para mayor comodidad).
2. Después límpielos por ambos lados frotando ambas superficies con el trapo o la esponja sujetos entre el pulgar y el índice.
3. Enjuague los portaobjetos uno por uno en agua limpia para eliminar el detergente.
4. Elimine el agua de los portaobjetos antes de meterlos en el bote con alcohol y enroscar bien la tapa. Manténgalo alejado de la luz solar directa.
5. Cuando lo necesite, saque un portaobjetos y séquelo muy bien con un paño de algodón limpio que no deje pelusas. Sostenga el portaobjetos siempre por los cantos.
6. El portaobjetos está listo para ser usado; no hay que envolverlo.

En los programas nacionales de control del paludismo

En estos programas las actividades relacionadas con el diagnóstico microscópico son muy variables, pudiendo encontrarnos desde el microscopista aislado que trabaja en un laboratorio muy apartado, con escasos medios, hasta los grandes estudios epidemiológicos para monitorizar la farmacorresistencia y otras actividades sobre el terreno. Para que el personal disponga de los materiales necesarios, la preparación y el suministro de portaobjetos limpios y envueltos, tinciones y otros productos suelen estar centralizados. Sin embargo, en algunas zonas rurales el personal de laboratorio debe limpiar sus propios portaobjetos, o incluso reciclarlos, debido a la escasez de suministros.¹ En estas situaciones es necesario un buen suministro de portaobjetos, que deben estar listos para usar, limpios y envueltos de antemano. Esto aumenta significativamente la eficiencia, pues garantiza la disponibilidad del gran número de portaobjetos necesarios para las actividades realizadas lejos del laboratorio. La mejor forma de hacer la limpieza es en pequeños grupos.

Necesitará:

- portaobjetos de calidad «superior» nuevos o ya utilizados y reciclados;
- dos cuencos o barreños de plástico de tamaño mediano;
- un buen detergente líquido o en polvo;
- un trapo de lavar o esponja suave;
- paños de algodón limpios y que no dejen pelusas (de los utilizados para secar la vajilla o cristalería);
- una fuente de agua limpia;
- hojas de papel limpio cortadas en rectángulos de 11 cm x 15 cm;
- cajas de portaobjetos vacías, como las de los portaobjetos nuevos;
- elásticos o cinta adhesiva transparente, y
- un armario con aire caliente o desecante con gel de sílice activado.

¹ Se recomienda la utilización de portaobjetos nuevos, pero muchos programas no se lo pueden permitir y tienen que reciclarlos y seleccionarlos.

El método:

1. Trate los portaobjetos nuevos del mismo modo que en los pasos 1 a 4 descritos con anterioridad, y después séquelos (en vez de meterlos en alcohol).
2. Lave los portaobjetos usados y sucios con agua templada y detergente durante 6 a 8 horas, como mínimo.
3. Después séquelos uno por uno del mismo modo que en el paso 2 descrito con anterioridad, hasta eliminar todos los restos de sangre y aceite de inmersión. Puede ser necesario más de un lavado, dependiendo del estado de los portaobjetos; de ahí la necesidad de dos barreños.
4. Cuando los portaobjetos estén limpios, enjuáguelos en agua limpia para eliminar todos los restos de detergente.
5. Seque los portaobjetos uno a uno con el paño de algodón. Los portaobjetos astillados o arañados no sirven en hematología y deben desecharse, aunque pueden utilizarse en entomología médica.
6. Envuelva los portaobjetos secos, en paquetes de 10, con los trozos de papel. Pliegue los extremos del papel, sujete los paquetes con cinta adhesiva transparente y colóquelos en las cajas de cartón. Están listos para ser utilizados.
7. Como cada caja tiene capacidad para unos 10 paquetes de estos, es fácil calcular el número de portaobjetos listos para ser utilizados o enviados.
8. Guarde los portaobjetos limpios y metidos en sus cajas en un pequeño armario con aire caliente o un desecador para que se mantengan secos hasta que se vayan a utilizar. Los portaobjetos guardados a temperatura ambiente y con gran humedad se pegarán unos a otros al cabo de unas semanas y no podrán utilizarse, a no ser que se laven y sequen nuevamente.
9. Con fines de control de la calidad, etiquete cada caja con la fecha de limpieza y el nombre de la persona que la efectuó.

En climas calientes y húmedos los hongos crecen rápidamente en los portaobjetos y en las lentes y prismas de los microscopios. Si no se evita guardándolos en un medio seco, el gran crecimiento de hongos puede inutilizar un simple portaobjetos, o incluso un microscopio. Su trabajo se verá afectado en ambos casos.

El facilitador describirá los armarios con aire caliente y otras formas de proteger los materiales de cristal y los microscopios del crecimiento de los hongos.

Lea la unidad didáctica 3 como preparación para la próxima sesión.

Notas

Unidad didáctica 3

Mantenimiento de registros exactos

Objetivos didácticos

Cuando haya terminado esta unidad, podrá:

-
- **identificar** los formularios y libros de registro correctos en los que ha de introducir la información sobre los pacientes;
 - **realizar** registros exactos, sin errores, en los formularios apropiados;
 - **seleccionar** la copia correcta de cada formulario o resumen de datos que haya que enviar al supervisor;
 - **dar** ejemplos de las posibles consecuencias de que se mezclen registros de diferentes pacientes, y
 - **explicar** por qué son confidenciales los datos de los pacientes y no deben darse a conocer a personas no autorizadas.
-

A fin de que los datos se puedan rastrear fácilmente, es importante que se registre toda la información pertinente sobre el paciente cuando acude al dispensario o se le visita en su domicilio. La mayor parte de la información se registra en bancos de datos informatizados y requiere formularios especiales que suelen incluir los datos siguientes:

- región, provincia, distrito o zona en la que se realizó el trabajo;
- pueblo, aldea o localidad donde vive el paciente;
- calle y número de la casa en la que se puede contactar al paciente;
- nombre, edad y sexo del paciente;
- número del paciente, que también puede ser el número de la extensión de sangre;
- otros datos, tales como síntomas, temperatura o peso corporal;
- los resultados del examen de la extensión de sangre, tales como ausencia o presencia de plasmodios, las especies y fases observadas, y la observación de gametocitos de *P. falciparum*;
- tratamientos antipalúdicos recibidos antes del examen microscópico, y
- otros comentarios, observaciones o instrucciones para el clínico.

Aunque no disponga de ordenador, tendrá que registrar los datos más importantes, aunque sea en un diario. El facilitador le dará ejemplos de los formularios que se están utilizando y le enseñará cómo rellenarlos correctamente. Asimismo, tendrá la posibilidad de practicar rellenándolos en las condiciones de trabajo existentes en el laboratorio o sobre el terreno.



Recuerde:

**Los datos de los pacientes son confidenciales.
No es ético comentar con personas no autorizadas la información que figure en el historial de un paciente. Los historiales de los pacientes deben guardarse en lugar seguro, al que solo tenga acceso el personal autorizado.**

Lea la unidad didáctica 4 como preparación para la próxima sesión.

Notas

Unidad didáctica 4

Preparación de las extensiones de sangre

Objetivos didácticos

Cuando haya terminado esta unidad, podrá:

- **explicar** por qué hay que partir siempre del principio de que la sangre puede estar contaminada;
- **nombrar** cuatro enfermedades infecciosas transmitidas por la sangre;
- **demostrar** cuáles son las precauciones normales que se deben adoptar al manipular sangre;
- **demostrar** las medidas que hay que tomar cuando la sangre contamine algo accidentalmente;
- **enumerar** los materiales necesarios para realizar extensiones de sangre finas y gruesas;
- **ejecutar** el método correcto para preparar una extensión de sangre fina y otra gruesa en un mismo portaobjetos destinado al diagnóstico microscópico del paludismo*;
- **demostrar** la forma correcta de etiquetar una extensión de sangre;
- **separar** las extensiones de sangre finas y gruesas de calidad aceptable e inaceptable, justificando la selección, y
- **describir** e identificar errores y faltas frecuentes al realizar extensiones de sangre finas y gruesas, y sus causas. .

* Como mínimo el 80% de las extensiones de sangre tendrán que ser satisfactorias o alcanzar el nivel que se haya definido en su curso como satisfactorio.

La contaminación accidental con sangre de un paciente supone para el personal sanitario y los pacientes un riesgo de contraer varias enfermedades. Esos riesgos pueden mantenerse en niveles extremadamente bajos si adopta las precauciones siguientes:

- Use guantes protectores durante la extracción y la manipulación de las muestras de sangre.
- Evite mancharse los dedos o las manos con sangre, aunque sea la sangre seca de las extensiones.
- Cúbrase los cortes o abrasiones que pueda tener en las manos con apósitos impermeables.
- Evite pincharse accidentalmente cuando manipule instrumentos cortopunzantes que hayan estado en contacto con sangre.
- Lávese bien las manos con agua y jabón en cuanto haya acabado su trabajo.

- Si se mancha la piel de sangre, límpiesela rápidamente con un algodón empapado en alcohol y lávese la zona afectada con agua y jabón lo antes posible.
- Los materiales contaminados con sangre, tales como lancetas, portaobjetos rotos o algodones deben tirarse en contenedores especiales para objetos cortopunzantes. Si no los hay, siga las prácticas establecidas por su programa y termine incinerando esos materiales.

Algunas personas aparentemente sanas tienen enfermedades transmisibles por la sangre. Esas enfermedades no se detectan fácilmente, y las pruebas para demostrar su presencia pueden ser complicadas y caras. Las más frecuentes son las hepatitis, el VIH/sida, el paludismo y la sífilis, pero hay otras, como la leptospirosis, que pueden ser estacionales y frecuentes en determinadas zonas.

Asegúrese de que adopta las medidas preventivas correctas al manipular la sangre.

Tipos de extensiones de sangre

En el diagnóstico microscópico del paludismo se utilizan dos tipos de extensiones de sangre: gruesas y finas.

La extensión gruesa

Para detectar los plasmodios se utilizan siempre las extensiones gruesas, que tienen muchas capas de glóbulos rojos (eritrocitos o hematíes) y blancos (leucocitos). Durante la tinción, la hemoglobina de los glóbulos rojos se disuelve (deshemoglobinización), de modo que se pueden examinar rápida y fácilmente grandes cantidades de sangre. Cuando están presentes, los plasmodios están más concentrados que en las extensiones finas y son más fáciles de ver e identificar.

La extensión fina

La extensión fina se usa para confirmar la especie de los plasmodios, cuando eso no se consiga en la extensión gruesa. Para buscar parásitos, la extensión fina solo se utiliza en situaciones excepcionales. Una extensión fina bien preparada consiste en una única capa de glóbulos rojos y blancos extendidos sobre menos de la mitad del portaobjetos. La banda mate del portaobjetos se utiliza para etiquetarlo. Ya no se recomienda el uso de la extensión fina como etiqueta. Si no hay portaobjetos con banda mate, los datos pueden escribirse en la extensión fina con un lápiz de mina blanda. No se meta la punta del lápiz en la boca.

Preparación de una extensión gruesa y otra fina en el mismo portaobjetos

Necesitará:

- Buenos guantes protectores de látex sin polvo de talco (dos o tres pares por persona y ejercicio).
- Portaobjetos limpios y envueltos (más de los que sean necesarios).
- Lancetas estériles (una por paciente y un 10% adicional).

- Etanol al 70%.
- Algodón absorbente.
- Un contenedor de objetos cortopunzantes.
- Una caja o bandeja de portaobjetos para secarlos horizontalmente y protegerlos de las moscas y el polvo.
- Cuatro o cinco paños de algodón limpios y que no dejen pelusas.
- Formularios o libros de registro.
- Bolígrafo para rellenar los formularios o libros.
- Un lápiz HB para escribir en la extensión fina y un pequeño sacapuntas.

El método:

Después de anotar los datos del paciente en el formulario o libro y de haberse puesto los guantes protectores de látex, sostenga la mano izquierda del paciente, con la palma hacia arriba, y seleccione el dedo anular. En los niños puede utilizar el dedo gordo del pie, pero no el talón. No utilice nunca el pulgar, ni en niños ni en adultos.



Limpie el dedo con un algodón empapado en alcohol. Frote vigorosamente la yema del dedo para eliminar la suciedad y la grasa que pueda tener.

Seque el dedo con un paño de algodón seco, frotando vigorosamente para estimular la circulación sanguínea.

Con una lanceta estéril y un rápido movimiento de rotación, puncione la yema del dedo de la mano o del pie.



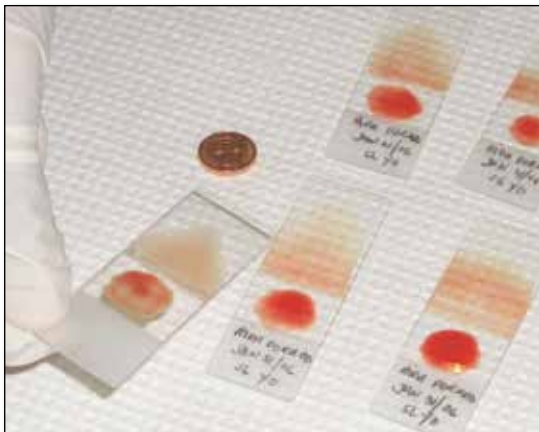
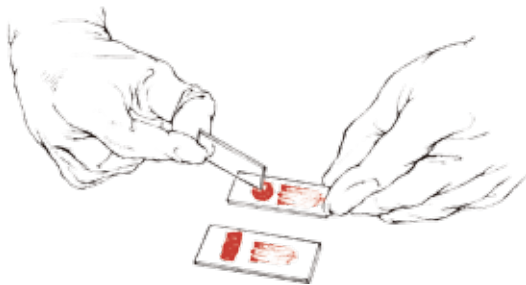
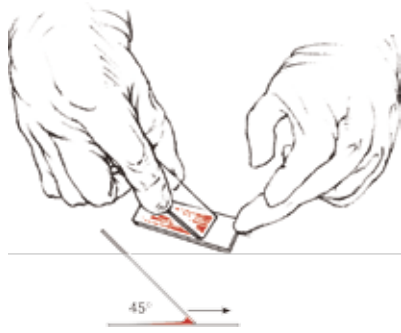
Aplique una presión suave sobre el dedo para exprimir la primera gota de sangre, y límpiela con un algodón seco, cuidando de no dejar hebras de algodón que luego puedan mezclarse con la sangre.

Sosteniendo los portaobjetos únicamente por los cantos, recoja rápidamente la sangre del modo siguiente:

Apriete suavemente el dedo y recoja en el centro del portaobjetos una sola gota de sangre más o menos de este tamaño ●. Esta gota se destinará a la extensión fina.



Vuelva a apretar para extraer más sangre y deposite en el portaobjetos dos o tres gotas de mayor tamaño, aproximadamente a 1 cm de distancia de la gota destinada a la extensión fina. Limpie la sangre que quede en el dedo con un algodón.



La extensión fina: Ponga el portaobjetos que tiene la sangre en una superficie plana y firme, y toque la gota de sangre pequeña con el canto de otro portaobjetos limpio (el portaobjetos «extensor»), haciendo que la sangre se extienda a lo largo de ese canto.

Deslice con firmeza el portaobjetos «extensor» sobre el portaobjetos propiamente dicho, manteniéndolo en un ángulo de 45°. El canto del extensor debe permanecer en contacto uniforme con la superficie del portaobjetos mientras se extiende la sangre.

Le extensión gruesa: Sosteniendo los portaobjetos por los cantos o por una esquina, utilice una esquina del extensor para juntar las gotas de sangre y extiéndalas hasta lograr una extensión gruesa uniforme. No remueva demasiado la sangre. Con tres a seis movimientos rápidos de la esquina del extensor se puede hacer una extensión circular o rectangular.

La extensión gruesa circular debe tener aproximadamente 1 cm de diámetro.

La extensión gruesa debe secarse uniformemente y protegerse del polvo, las moscas, la luz solar y el calor extremo.

En condiciones normales, la extensión fina se seca rápidamente. En el pasado, los datos del paciente, el número de la preparación y la fecha solían registrarse con un lápiz de mina blanda en la parte más gruesa de la extensión fina. Ahora es preferible utilizar portaobjetos con una banda mate que sirve como etiqueta. Ya no se recomienda utilizar la extensión fina como etiqueta.

Evite que los instrumentos de escritura toquen la extensión de sangre. No use bolígrafos ni plumas de gel para rotular las preparaciones, pues la tinta se extenderá cuando se fije la extensión.

Cuando la extensión gruesa esté completamente seca, envuelva la preparación en el formulario de registro del paciente y envíela enseguida al laboratorio. Las preparaciones que no se vayan a procesar inmediatamente se pueden guardar en un desecador antes de teñirlas.

Si la preparación se ha hecho correctamente quedará poca sangre en el portaobjetos extensor, que podrá servir como portaobjetos propiamente dicho para hacer las extensiones fina y gruesa del paciente siguiente, utilizando como extensor un nuevo portaobjetos limpio sacado del envase.

Fallos frecuentes en la preparación de las extensiones de sangre

Los fallos que se observan frecuentemente en las extensiones de sangre pueden afectar al etiquetado, a la tinción o al examen en sí mismo; cualquiera de ellos puede afectar al resultado para el paciente.

Extensiones de sangre mal situadas

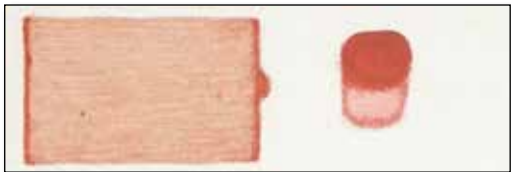
Si las extensiones no están situadas correctamente en el portaobjetos, su examen puede resultar imposible. Algunas partes de la extensión gruesa pueden desprenderse al rozar con los filos de la cubeta de tinción o la gradilla de secado.

Esta extensión fina es demasiado grande. A su vez, la extensión gruesa está mal situada y será difícil examinarla con el objetivo de inmersión en aceite.



Demasiada sangre

Las extensiones gruesas teñidas que contengan demasiada sangre tendrán un fondo muy azul. Habrá demasiados glóbulos blancos por campo, lo cual puede dificultar la observación de los parásitos. En las extensiones finas demasiado gruesas los glóbulos rojos estarán apilados, imposibilitando la visualización de los parásitos.



Demasiado poca sangre

Cuando hay muy poca sangre en la extensión, no hay glóbulos blancos suficientes en el campo de la extensión gruesa o no hay sangre suficiente para un examen habitual. La extensión fina no suele ser utilizable para diagnosticar la especie.



Portaobjetos grasientos

Las extensiones de sangre hechas sobre portaobjetos grasientos se extenderán irregularmente, y la extensión gruesa se desprenderá parcialmente durante la tinción. El examen de las extensiones gruesa y fina se verá dificultado por la distribución irregular de la sangre.



Portaobjetos extensor con canto astillado

Cuando el canto del portaobjetos extensor está astillado, las extensiones finas son irregulares, estriadas y con muchas «colas». Los extensores astillados también pueden afectar las extensiones gruesas.



Entre otros problemas de la preparación, obtención o almacenamiento de extensiones de sangre no teñidas cabe citar los siguientes:

- Las moscas, hormigas, cucarachas y otros insectos pueden comerse la sangre fresca o que se está secando y dañar así las extensiones. Las preparaciones deben cubrirse durante el secado y después guardarse en una caja hermética o un desecador con gel de sílice.
- La utilización de portaobjetos arañados para preparar las extensiones de sangre dificulta su examen. Para realizar las extensiones de sangre no se deben utilizar portaobjetos arañados ni astillados; hay que desecharlos.
- El secado irregular de las extensiones gruesas produce variaciones de la calidad de la extensión que dificultan el examen microscópico. Las extensiones de sangre deben secarse en una superficie plana y horizontal.
- Cuando las extensiones gruesas se guardan demasiado tiempo sin teñir y a temperatura y humedad ambientales se produce su autofijación. Esto puede ocurrir cuando las preparaciones deben guardarse sin teñir, como sucede con las preparaciones con resultados parasitológicos conocidos utilizadas con fines didácticos o con los bancos de preparaciones durante los estudios prolongados sobre el terreno. Las preparaciones autofijadas se tiñen mal, pero es posible retrasar la autofijación si las preparaciones se guardan en un desecador con gel de sílice. Evite exponer las preparaciones recién recogidas a la luz solar directa y colocarlas en el suelo de un vehículo sobre un tubo de escape caliente durante el transporte. Las extensiones gruesas pueden deshemoglobinizarse sumergiéndolas en agua limpia, preferentemente amortiguada (pH 7,2) durante unos 5 minutos, secándolas bien y guardándolas en un desecador.
- Si las preparaciones se apilan y guardan en las cajas de cartón de los portaobjetos antes de que las extensiones gruesas estén completamente secas, se acabarán pegando unas a otras. Las preparaciones deben secarse completamente antes de envasarlas para guardarlas o transportarlas.

**Lea la unidad didáctica 5 como preparación
para la próxima sesión.**

Notas

Notas

Unidad didáctica 5

Tinción de Giemsa de las extensiones de sangre

Objetivos didácticos

Cuando haya terminado esta unidad, podrá:

- **demostrar** cómo se utiliza correctamente la balanza analítica;*
- **preparar** la solución amortiguadora utilizada para diluir el colorante de Giemsa;
- **demostrar** cómo se utilizan correctamente el comparador de colores o el medidor de pH;*
- **preparar** los líquidos correctores al 2% para ajustar el pH de la solución amortiguadora;
- **explicar** por qué la solución amortiguadora con un pH de 7,2 es mejor para una buena tinción de Giemsa;
- **ejecutar** dos métodos correctos de fijar las extensiones finas;
- **explicar** cuándo se usan los métodos rápido y lento de tinción de Giemsa en el diagnóstico microscópico del paludismo;
- **demostrar** que domina los métodos rápido y lento de tinción de Giemsa;
- **describir** cómo se manipula y guarda correctamente el colorante de Giemsa, y
- **demostrar** cómo se secan y guardan correctamente las preparaciones teñidas. .

* Objetivo que solo se aplica en caso de que se utilice ese aparato.

Solución amortiguadora

Los plasmodios se ven claramente con el microscopio en extensiones de sangre teñidas adecuadamente. Antes de teñir las extensiones prepare la solución amortiguadora que utilizará para diluir el colorante.

El uso de la solución amortiguadora con el pH correcto contribuye a la obtención de una buena tinción.

El pH expresa la acidez o alcalinidad de un líquido en una escala de 0 (muy ácido) a 14 (muy alcalino). Los líquidos que no son ácidos ni alcalinos se llaman neutros y tienen un pH de 7,0. El pH de un líquido puede medirse con un medidor de pH o un indicador de color, como el comparador de Lovibond. También se pueden utilizar tiras de papel indicador, pero se alteran rápidamente y dejan de ser fiables cuando la humedad es elevada.

En esta unidad didáctica utilizará el medidor de pH o el comparador recomendado por el programa nacional de control del paludismo de su país.

El agua se puede acidificar o alcalinizar añadiéndole sales, llamadas amortiguadoras, que se guardan aparte hasta que se combinan en proporciones correctas con un volumen fijo de agua para obtener el pH deseado. Las sales amortiguadoras se pesan con una balanza. Es importante que se guarden de forma correcta para que no absorban la humedad del aire; de lo contrario no servirán.

Hay en el mercado pastillas amortiguadoras que dan un determinado pH cuando se mezclan con una cantidad fija de agua (generalmente 1 litro). Esas pastillas no necesitan pesaje y son útiles en lugares donde hay pocos medios. Sin embargo tienen que guardarse en un lugar seco y hermético; de lo contrario absorben la humedad rápidamente y ya no sirven, por lo que hay que tirarlas. Algunos profesionales creen que los resultados de la tinción son peores cuando se usan pastillas amortiguadoras, aunque no hay pruebas de ello.

Para preparar la solución amortiguadora

Necesitará:

- una balanza analítica con una precisión de 0,01 g (lo ideal es una balanza de brazos con dos platos); también sirven varios tipos de balanzas eléctricas de un plato, que son fáciles de utilizar;
- papel de filtro de 11 cm de diámetro;
- un frasco de vidrio cónico de 1 litro;
- un vaso de precipitado de vidrio de 250 ml;
- espátulas de madera (sirven los depresores linguales, fáciles de conseguir);
- 1 litro de agua destilada o desionizada;
- fosfato de potasio dihidrogenado (anhidro) (KH_2PO_4), y
- fosfato disódico hidrogenado (anhidro) (Na_2HPO_4).

El método:

Si va a utilizar una balanza analítica tradicional de dos platos, siga todos los pasos del 1 al 10. Si va a utilizar una balanza eléctrica, siga las instrucciones del facilitador, que probablemente empiecen en el paso 5.

1. Asegúrese de que el fiel de la balanza está en el cero, ajustando el tornillo correspondiente del brazo derecho.
2. Ponga un papel de filtro en cada plato; coloque el fiel en el cero, esta vez moviendo la pesa de gramos a lo largo del brazo con la escala de gramos.
3. Mueva la pesa de gramos otros 0,7 g, dejando la balanza lista para pesar el fosfato de potasio dihidrogenado.

4. Con una espátula de madera, coloque una pequeña cantidad de KH_2PO_4 en el papel de filtro del plato de la izquierda.
5. Eche el KH_2PO_4 pesado en el vaso de precipitado de vidrio, añada unos 150 ml de agua y remueva con una espátula limpia hasta que la sal se disuelva.
6. Coloque un nuevo papel de filtro en el plato de la izquierda.
7. Reajuste la balanza como antes, pero esta vez ponga la pesa de gramos en 1 g para pesar el Na_2HPO_4 .
8. Con una espátula limpia y seca, eche el Na_2HPO_4 en el plato de la derecha, equilibrando el peso tal como se ha descrito en el paso 3.
9. Añada el Na_2HPO_4 a la solución que hay en el vaso de precipitado y remueva como en el paso 5.
10. Cuando las sales se hayan disuelto, eche la solución en el frasco cónico y rellene con agua hasta llegar a la marca de 1 litro.

La solución amortiguadora está lista para ajustar el pH a 7,2 después de que se haya preparado el líquido corrector.

Para preparar los líquidos correctores al 2%

Necesitará:

- una balanza analítica con una precisión de 0,01 g (lo ideal es una balanza de brazos con dos platos, pero también se puede utilizar una balanza eléctrica de un plato);
- papel de filtro de 11 cm de diámetro;
- dos frascos con tapón de vidrio, de 100 a 150 ml cada uno;
- fosfato de potasio dihidrogenado (anhidro) (KH_2PO_4);
- fosfato disódico hidrogenado (anhidro) (Na_2HPO_4);
- unos 200 ml de agua destilada o desionizada;
- espátulas de madera;
- dos vasos de precipitado de vidrio de 250 ml;
- una probeta graduada de 100 ml, y
- etiquetas.

El método:

1. Siga los pasos 1 y 2 del método de preparación de la solución amortiguadora, y después desplace la pesa de gramos hasta la marca de 2 g de la escala del brazo de la balanza.
2. Pese 2 g de Na_2HPO_4 y añádalos a 100 ml de agua en el vaso de precipitado; remueva con la espátula hasta que la sal se haya disuelto.
3. Eche la solución en uno de los frascos de vidrio y etiquételo como « Na_2HPO_4 al 2%».
4. Repita los pasos 1 a 3, sólo que esta vez use 2 g de KH_2PO_4 ; etiquete el frasco como tal.
5. Guárdese en lugar frío, protegido de la luz solar.

Para comprobar y ajustar el pH de la solución amortiguadora

Compruebe sistemáticamente el pH de la solución amortiguadora antes de utilizarla. Para ajustar el pH añádale pequeñas cantidades de los líquidos correctores: Na_2HPO_4 al 2% si el pH es inferior a 7,2 (demasiado ácido) o KH_2PO_4 al 2% si el pH es superior a 7,2 (demasiado alcalino). Los ajustes se pueden hacer tal como se describe a continuación.

Recuerde:

**Hay muchos tipos de medidores de pH.
Aprenderá a utilizar el tipo que se usa en su país.**

Necesitará:

- solución amortiguadora en un frasco cónico;
- los dos frascos de líquidos correctores;
- un medidor de pH o un indicador de color;
- dos celdas de cristal del indicador de color;
- un frasco de indicador de azul de bromotimol, y
- una pipeta de medición de 1 ml.

El método:

1. Vierta la solución amortiguadora que hay que analizar en cada una de las celdas de cristal del indicador de color hasta que llegue a la marca de los 10 ml.
2. Coloque una celda en el compartimento de la izquierda del indicador de color, como celda de control.
3. Pipetee 0,5 ml de azul de bromotimol en la otra celda, mezcle, y coloque esta celda en el compartimento de la derecha.
4. Sosteniendo el indicador de color y dirigiéndolo hacia un fondo blanco y bien iluminado, gire el disco hasta que el color sea igual al de la celda de la derecha.
5. Ajuste el pH del agua que hay en el frasco cónico añadiendo unas gotas del líquido corrector pertinente: Na_2HPO_4 para alcalinizarla, o KH_2PO_4 para acidificarla.

La tinción de Giemsa

La tinción de Giemsa es una tinción de Romanowsky de base alcohólica. El colorante de Giemsa se compra ya listo para ser utilizado o es preparado en centros regionales por técnicos experimentados y después se distribuye a través de la red de laboratorios del programa de control del paludismo. El colorante de Giemsa es una mezcla de eosina, que tiñe de rojo o rosa la cromatina del parásito y las sombras punteadas, y de azul de metileno, que tiñe de azul el citoplasma del parásito. Los núcleos de los glóbulos blancos se tiñen de un azul que puede llegar a ser casi negro, dependiendo del tipo de glóbulo blanco. Esto se explica en una unidad didáctica posterior.

A continuación figuran algunos puntos importantes que hay que recordar con respecto a la solución madre del colorante de Giemsa:

- Mantenga el frasco bien tapado para evitar la evaporación del colorante y su oxidación por la humedad elevada.
- Guárdelo en un frasco de vidrio oscuro en un lugar frío, seco y sombreado, alejado de la luz solar directa.
- Para las necesidades cotidianas, vierta pequeñas cantidades de colorante en un frasco bien cerrado de aproximadamente 25 ml, a fin de reducir la contaminación de la solución madre.
- No añada agua a la solución madre; incluso una cantidad mínima producirá un deterioro del colorante que lo volverá progresivamente ineficaz.
- No agite el frasco de colorante antes de utilizarlo. La agitación volvería a suspender los precipitados, que se asentarían en las extensiones durante la tinción y ocultarían detalles importantes durante el examen microscópico.
- No devuelva el colorante no utilizado al frasco donde guarda la solución madre ni al frasco destinado al uso diario. Una vez que sale del frasco, el colorante debe usarse rápidamente o tirarse.

Tinción de las extensiones

Hay dos métodos de tinción con el colorante de Giemsa: el rápido (al 10%) y el lento (al 3%). El método rápido se utiliza en los ambulatorios y laboratorios con mucho trabajo donde una parte esencial de la atención al paciente consiste en la realización rápida del diagnóstico. El método lento se utiliza para teñir un mayor número de preparaciones, como las recogidas durante los estudios transversales o epidemiológicos y las investigaciones sobre el terreno.

El método rápido (al 10%)

Es el más utilizado para teñir entre 1 y 15 preparaciones de una vez. Se utiliza en laboratorios donde se necesita un resultado rápido para determinar si el paciente tiene o no paludismo. El método es eficiente, pero requiere más colorante. La necesidad de un resultado rápido justifica el costo adicional.

Necesitará:

- Colorante de Giemsa decantado de la solución madre hacia un frasco de 25 ml;
- metanol;¹
- algodón absorbente;
- tubos de ensayo de 5 ml;
- agua destilada o desionizada tamponada con pH de 7,2;
- una pipeta de Pasteur con perilla de goma;
- una bandeja de plástico curva, una placa o una gradilla para la tinción;
- una gradilla de secado de las extensiones;
- un cronómetro, y
- un pequeño secador eléctrico.

¹ El metanol (alcohol metílico) es muy tóxico e inflamable; su ingestión, aún en pequeñas cantidades, puede causar ceguera, e incluso la muerte. Mientras no se esté utilizando debe guardarse en un armario bajo llave.

Las extensiones gruesas tienen que secarse totalmente antes de teñirlas. Pueden secarse rápidamente con el aire caliente de un pequeño secador o calentándolas con cuidado sobre una lámpara o bombilla. Evite el sobrecalentamiento de la preparación porque puede producir una «fijación por el calor» que impida que se tiña bien.

El método:

1. Fije la extensión fina con unos toques de un algodón empapado en metanol o sumergiéndola brevemente en metanol. Evite el contacto del metanol con la extensión gruesa; el metanol y sus vapores la fijarían rápidamente y no se teñiría bien.
2. En un tubo de ensayo o un envase pequeño, prepare una solución de Giemsa al 10% en solución amortiguadora, mezclando tres gotas de colorante de Giemsa (sacadas de la solución madre con una pipeta de Pasteur) con 1 ml de solución amortiguadora. Para cubrir un portaobjetos se necesitan aproximadamente 3 ml de colorante.
3. Según lo que esté utilizando (bandeja, placa o gradilla de tinción), coloque los portaobjetos que vaya a teñir boca abajo en la bandeja de tinción curva, o boca arriba en la placa o gradilla.
4. Vierta el colorante poco a poco en la bandeja de tinción hasta que cubra todos los portaobjetos o viértalo poco a poco sobre los portaobjetos puestos boca arriba en la placa o gradilla.
5. Tiña las extensiones durante unos 8 a 10 minutos. La experiencia que vaya adquiriendo con el colorante que utilice le ayudará a decidir exactamente cuánto tiempo necesita para una buena tinción.
6. Aclare el colorante del portaobjetos añadiendo agua gota a gota. No elimine el colorante vertiéndolo directamente de los portaobjetos porque la escoria superficial verde metalizado se adheriría a la extensión, dejándola inutilizable para el examen microscópico.
7. Cuando haya eliminado el colorante coloque los portaobjetos en la gradilla de secado, con la extensión hacia abajo, para que se sequen. Tenga cuidado para que las extensiones gruesas no rocen con los bordes de la gradilla.

El método lento (al 3%)

Este método es menos apropiado cuando se necesita un resultado rápido, pero es excelente para teñir un gran número de preparaciones (20 o más), e ideal para teñir las extensiones de sangre de encuestas o trabajos de investigación o de lotes de preparaciones para fines didácticos. El mejor rendimiento se obtiene dejando secar las preparaciones toda una noche. El método es económico porque se utiliza mucho menos colorante (un 3% en vez de un 10%).

Necesitará:

- colorante de Giemsa;
- metanol;¹
- algodón absorbente;

¹ El metanol (alcohol metílico) es muy tóxico e inflamable; su ingestión, aún en pequeñas cantidades, puede causar ceguera, e incluso la muerte. Mientras no se esté utilizando debe guardarse en un armario bajo llave.

- cubetas de tinción para 20 portaobjetos;
- solución amortiguadora con un pH de 7,2;
- una probeta graduada de 100–500 ml;
- una probeta graduada de 10–25 ml;
- un frasco o vaso de precipitado cuya capacidad dependerá de la cantidad de colorante que se vaya a preparar;
- un cronómetro, y
- una gradilla de secado de las extensiones.

El método:

1. Fije las extensiones finas con unos toques de un algodón empapado en metanol o sumergiéndolas en metanol durante unos segundos. Evite el contacto del metanol con la extensión gruesa; el metanol y sus vapores la fijarían rápidamente y no se teñiría bien.
2. Coloque los portaobjetos secuencialmente en una cubeta de tinción, asegurándose de que las extensiones gruesas miran todas hacia uno de los extremos de la cubeta.
3. Prepare una solución de Giemsa al 3% añadiendo 3 ml de la solución madre del colorante a 97 ml de solución amortiguadora con un pH de 7,2 (o múltiplos de esos volúmenes).
4. Vierta el colorante en la cubeta. No lo vierta directamente en las extensiones gruesas, pues podrían desprenderse del portaobjetos.
5. Mantenga el proceso de tinción durante 45 a 60 min.; la experiencia le enseñará cuál es la duración correcta.
6. Vierta suavemente agua en la cubeta haciendo que la escoria iridiscente flote. Para evitar alteraciones de las extensiones gruesas, vierta el agua en el extremo donde se encuentran las extensiones finas. Otra forma menos satisfactoria de enjuagar los portaobjetos consiste en introducir la cubeta en un barreño lleno de agua limpia y después retirarla evitando traer junto con ella la escoria iridiscente.
7. Tire suavemente el colorante restante y enjuague con agua limpia.
8. Retire cuidadosamente las preparaciones, una por una, y colóquelas con la extensión hacia abajo en la gradilla de secado. Tenga cuidado para que las extensiones gruesas no rocen con los bordes de la gradilla.

Durante la tinción de Giemsa (al 3% o al 10%) la superficie se cubre de una escoria de color verde metalizado. Durante el lavado evite que se adhiera a las extensiones de sangre pues puede dificultar el examen.

Mantenimiento del material de vidrio y del equipo de medición

Las probetas graduadas, pipetas, cubetas de tinción y vasos de precipitado deben estar limpios y secos antes de empezar a utilizarlos. La tinción de las extensiones de sangre con utensilios sucios no da resultados satisfactorios.

Para eliminar todo el colorante que sea posible, el equipo utilizado para la tinción de Giemsa debe enjuagarse con agua limpia inmediatamente después de su uso. Después debe dejarse un rato en remojo con detergente antes de lavarlo. Los utensilios pueden lavarse con un detergente suave, siempre que después se enjuaguen bien con agua limpia antes de secarlos. Los restos de detergente que queden en los utensilios de vidrio o plástico pueden alterar el pH del agua y la tinción, produciendo malas tinciones cuando se vuelvan a utilizar.

Lea la unidad didáctica 6 como preparación para la próxima sesión.

Notas

Unidad didáctica 6

El microscopio

Objetivos didácticos

Cuando haya terminado esta unidad, podrá:

- **demostrar** cómo se instala y utiliza correctamente un microscopio binocular con luz artificial y natural;
- **demostrar** cómo se utiliza correctamente la combinación de ocular de 10 aumentos (10x) con el objetivo de inmersión en aceite de 100x;*
- **manipular** correctamente la platina mecánica;
- **nombrar** correctamente 10 partes de un microscopio;
- **describir** la forma correcta de mantener un microscopio en buen estado de funcionamiento;
- **describir** dos formas de guardar correctamente un microscopio, y
- **demostrar** cómo se empaqueta correctamente un microscopio para el transporte a larga distancia.

* U oculares de 7x, si son los que se usan en el programa

Para un diagnóstico microscópico eficiente del paludismo, aprenda a utilizar el microscopio correctamente, conozca sus limitaciones y aprenda cómo mantenerlo en buen estado de funcionamiento.

Como su nombre indica, los microscopios monoculares solo tienen un ocular y son especialmente útiles cuando no se dispone de corriente eléctrica, pues la luz solar permite obtener un campo bien iluminado con estos aparatos. Los microscopios con dos oculares (binoculares) han sustituido a los monoculares porque resultan más cómodos, pero la luz solar proporciona una mala iluminación para estos aparatos.

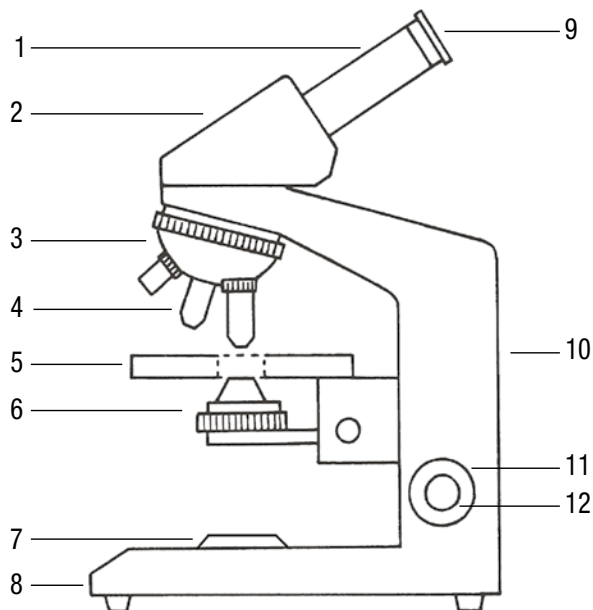
El microscopio que utilizará durante el curso y en su trabajo será un *microscopio binocular* compuesto. Las condiciones óptimas para el diagnóstico microscópico del paludismo se obtienen con microscopios que combinan un par de oculares de 10x con un objetivo de inmersión en aceite de 100x.¹

¹ Algunos programas prefieren un par de oculares de 7x, que no se consiguen fácilmente. Los oculares de 7x abarcan una mayor cantidad de sangre por campo, por lo que algunos los consideran más sensibles.

Para lograr la calidad de iluminación que exige el examen habitual del paludismo con microscopio binocular es imprescindible disponer de una buena fuente de luz artificial que sea fiable. Cuando no se dispone de un suministro constante de energía eléctrica se puede utilizar un generador, pero la distribución de generadores, incluso pequeños, y de combustible a clínicas remotas puede resultar difícil, y los elevados costos de funcionamiento de este método hacen que sea inaceptable. Otras fuentes más simples y baratas de luz artificial para la microscopía son los diodos emisores de luz (LED), una forma de electroluminiscencia que se puede obtener utilizando pequeñas pilas de bajo voltaje. Las pilas se pueden recargar con un pequeño panel solar montado sobre una vara o en el tejado del laboratorio. En el mercado hay múltiples productos de este tipo. La mayoría de ellos tienen un costo asequible, son fáciles de utilizar y necesitan un mantenimiento mínimo. El facilitador le hablará más detalladamente de esta cuestión si resulta que es importante para usted y para el programa.



La luz LED que se ilustra aquí puede funcionar como mínimo durante 200 horas con cuatro pilas normales de 1,5 voltios.



Piezas del microscopio binocular compuesto

El esquema anterior muestra las principales piezas de un microscopio binocular compuesto típico.

1 y 2. Tubo principal y cuerpo

El tubo principal y el cuerpo constituyen la cabeza del microscopio, que está inclinada hacia el observador, por lo que también se le llama cabeza inclinada. Dentro del cuerpo de la cabeza inclinada hay prismas de vidrio pulido que cambian la dirección de la luz, de modo que la imagen llegue a los ojos del usuario a través del par de oculares.

3. Portaobjetivos giratorio (revólver)

Esta pieza giratoria tiene tres o cuatro objetivos con lentes de diferentes aumentos y permite cambiar el objetivo que se sitúa sobre la muestra y se alinea con los oculares, incrementando o reduciendo la ampliación de la muestra.

4. Objetivos

Todas las piezas del microscopio son importantes, pero los objetivos deben ser tratados con especial cuidado. Un objetivo consiste en dos o más lentes que se mantienen en su sitio con un pegamento o cemento especial. Los disolventes, como el alcohol, el xilol o la acetona, pueden disolver ese cemento, por lo que no se deben utilizar para limpiar los objetivos ni ninguna otra pieza del microscopio.

Los objetivos se denominan en función de su aumento, que suele estar marcado en un lado del cuerpo. Los microscopios suelen tener un objetivo de 10×, otro de 40× y otro de 100×. El de 100× es el llamado «objetivo de inmersión en aceite» y se identifica por presentar un anillo distintivo negro, rojo o blanco.

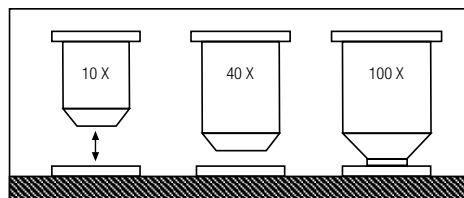
Si examina los objetivos observará que el tamaño de la lente aumenta con su poder de aumento. Por consiguiente, la distancia de trabajo entre la lente y el espécimen enfocado situado en la platina varía en función del aumento. Así, cuanto mayor es el aumento del objetivo, menor es la distancia de trabajo. Esto significa que hay que tener cuidado para no dañar el espécimen con el objetivo.

Aunque puede haber pequeñas variaciones dependientes del fabricante, la distancia de trabajo de cada objetivo es de aproximadamente:

×10 15,98 mm

×40 4,31 mm

×100 1,81 mm (inmersión en aceite)



Objetivos y distancias entre las lentes y el espécimen

El microscopio debe utilizarse con cuidado porque es fácil dañar el espécimen, la preparación o incluso la lente al realizar manipulaciones bruscas o al cambiar de objetivo.

5. Platina mecánica

La platina mecánica mantiene firme el portaobjetos y permite desplazar lentamente el espécimen. Dos de los lados tienen una escala, denominada escala de Vernier, que muestra la posición del espécimen y cómo se va moviendo durante el examen. Usted utilizará esta escala para identificar las zonas de la extensión de sangre que haya que reexaminar o mostrar a otra persona. En los microscopios binoculares modernos, cuando se enfoca el espécimen la que se mueve es la platina, mientras que en los microscopios más antiguos los que se mueven son el cuerpo y el tubo.

6. Condensador, diafragma iris y portafiltros

El condensador que hay debajo de la platina consiste en una serie de lentes que dirigen la luz procedente del espejo o de otra fuente hacia el centro del campo microscópico. El condensador se puede subir o bajar para que dé una iluminación máxima o mínima.

Dentro del condensador se encuentra el diafragma iris, que sirve para controlar la cantidad de luz que pasa por el condensador y consiste en una serie de finas hojas metálicas entrelazadas que se ajustan moviendo una pequeña palanca.

Debajo del diafragma iris se encuentra el portafiltros, en el que, cuando la fuente de luz es eléctrica, se coloca un filtro de vidrio esmerilado azul que da al campo microscópico una coloración blanca, en vez de amarillenta.

El procedimiento para lograr una buena iluminación del microscopio (iluminación de Köhler) es importante para obtener una resolución y un contraste óptimos, lograr una iluminación uniforme del campo, eliminar los resplandores y reducir el calentamiento del espécimen, tal como se describe en el CD-ROM adjunto.

7. Iluminador

Los microscopios modernos tienen un iluminador fijo consistente en un espejo prismático incorporado que ilumina el campo microscópico. Otros tienen iluminadores extraíbles que se pueden sustituir por un espejo cuando no se dispone de electricidad.

El espejo que hay debajo de la platina sirve para dirigir la luz hacia el campo microscópico. El espejo tiene dos caras, una plana que se utiliza junto con el condensador, y la otra cóncava, que se utiliza sin el condensador, puesto que la superficie curva actúa en sí misma como condensador.

8. Base o pie

Para evitar que el microscopio se mueva o tambalee, su base, o pie, debe quedar sobre una superficie plana y firme. La forma del pie es variable. La mayoría de los microscopios tienen en la superficie inferior de la base un orificio de rosca en el que se puede introducir un tornillo que mantenga el microscopio inmóvil en su caja durante el transporte.

9. Ocular

La parte superior del tubo principal de los microscopios modernos tiene una cabeza binocular, es decir con dos oculares, uno para cada ojo. Hoy día los microscopios monoculares apenas se utilizan en los programas nacionales de control del paludismo.

El ocular está ajustado al extremo superior del tubo principal, y es a través de él que el microscopista mira. Cada ocular tiene marcado su aumento. El «aumento» es el número de veces por el que multiplica el tamaño de la imagen producida por el objetivo. Por ejemplo, con oculares de 10× y un objetivo de inmersión en aceite de 100×, la ampliación total de la muestra sería de $10 \times 100 = 1000$ diámetros. En realidad la ampliación es un poco mayor, pero para nosotros es suficientemente exacto hablar de 1000 diámetros.

Hay oculares con diferentes potencias, que van de 5× a 25×, o incluso 30×. En el diagnóstico microscópico del paludismo suelen utilizarse oculares de 6× a 10×. Un programa a gran escala ha utilizado durante muchos años oculares de 5×. Hoy día, los más utilizados probablemente sean los de 10x. Para el diagnóstico microscópico rutinario del paludismo se recomienda vivamente la utilización de oculares de 7× a 10×.

Los oculares de los microscopios binoculares se denominan par de oculares. La marca «×10P» en la montura de un ocular de 10× indica que forma parte de un par de oculares.

10. Brazo

El brazo es un soporte rígido para el tubo principal y la platina del microscopio. Es robusto y puede utilizarse como asa para mover el microscopio. Cuando mueva un microscopio de esta forma, sujete siempre la base con la otra mano.

11 y 12. Ajustes grueso y fino

Para enfocar el espécimen examinado hay dos sistemas de ajuste: grueso y fino. El grueso se utiliza para movimientos de enfoque vertical rápidos y relativamente amplios, mientras que el fino se utiliza para un enfoque más preciso con objetivos de gran potencia. En los microscopios modernos los ajustes grueso y fino suben y bajan la platina mecánica, mientras que en los más antiguos el que se desplaza es el tubo principal.

Generalmente, el espécimen se examina primero con el ajuste grueso, y después más detalladamente con el ajuste fino.

El ajuste grueso se utiliza de forma diferente cuando se utiliza el objetivo de inmersión en aceite, tal como se explicará en una unidad didáctica posterior.

Utilización del microscopio

En las sesiones prácticas utilizará el microscopio y se familiarizará con todas sus características. Primero verá cómo aumenta la imagen a medida que aumenta la ampliación cambiando de objetivo. Después examinará objetos de uso cotidiano y verá lo diferente que es su aspecto al microscopio. Estos ejercicios le enseñarán cómo ajustar la iluminación correctamente y cómo utilizar el condensador y el diafragma iris. También practicará con la platina mecánica y la escala de Vernier.

La fuente de luz

Para examinar bien el espécimen se necesita una buena fuente de luz artificial. Las luces demasiado brillantes o demasiado tenues dificultan el diagnóstico microscópico del paludismo.

Cuando se utilice habitualmente el objetivo de inmersión en aceite de un microscopio binocular se debe utilizar luz eléctrica de la red o de un generador. Las luces LED alimentadas por pilas son una buena alternativa cuando no haya luz eléctrica, y deben dirigirse hacia el espejo. La luz artificial LED seguirá el camino:

fuerza → espejo → condensador y diafragma → espécimen → objetivo → oculares

Cuando se use luz artificial se debe colocar un filtro de vidrio esmerilado azul entre la fuente de luz y el condensador. Se utilizará el lado plano del espejo.

La luz natural solo debe utilizarse en caso de emergencia. Entonces se empleará el espejo cóncavo sin condensador. Es peligroso orientar el espejo directamente hacia el sol para obtener la iluminación, porque se pueden producir lesiones oculares graves.

Obtención de una iluminación uniforme

Utilizando un par de oculares de 10× y un objetivo de 10×:

1. Coloque la preparación en la platina mecánica y sitúe el espécimen encima de la abertura central de la platina.
2. Enfoque el espécimen con el ajuste grueso.
3. Asegúrese de que el diafragma iris está totalmente abierto y suba el condensador hasta que el campo microscópico esté bien claro.
4. Quite los oculares y, mirando por el tubo, ajuste el espejo (en caso de que lo esté utilizando) hasta que el objetivo quede totalmente iluminado.
5. Vuelva a colocar los oculares en su sitio. Utilice el ajuste fino para enfocar mejor el espécimen.
6. Vuelva a quitar los oculares y cierre lentamente el diafragma iris hasta que queden visibles dos tercios de la abertura del objetivo. El espécimen se verá más claro y con la máxima resolución.
7. Vuelva a colocar los oculares y mueva el revólver para seleccionar el objetivo que quiera utilizar. Cada vez que cambie de objetivo tendrá que volver a enfocar.
8. Si la intensidad de la luz de la lámpara es constante, la iluminación se puede ajustar aumentando o reduciendo la abertura del diafragma iris. En algunos microscopios es posible ajustar la intensidad de la luz de la lámpara.

Utilización del objetivo de inmersión en aceite

Al preparar el microscopio para la microscopía de inmersión en aceite:

1. Prepare la iluminación tal como se acaba de describir, y después proceda a los pasos siguientes colocándose al lado del microscopio.
2. Con el ajuste grueso, baje la platina, alejándola del objetivo.
3. Coloque la preparación en la platina, con la extensión de sangre hacia arriba.
4. Después de asegurarse de que habrá espacio suficiente entre la platina y el objetivo de 100×, mueva el revólver hasta colocar el objetivo de 100× sobre el espécimen.
5. Ponga una o dos gotas de aceite de inmersión en la zona de la extensión de sangre que vaya a examinar.
6. Con el ajuste grueso, mueva la platina hasta que el objetivo esté en contacto con el aceite de inmersión. Suba ligeramente la platina, asegurándose de que la lente y el aceite permanecen en contacto.
7. Mirando por los oculares, enfoque el espécimen con el ajuste fino. Asegúrese de que la lente no toca la preparación. Corrija la iluminación ajustando el diafragma iris.

El aceite de inmersión se coloca entre el portaobjetos y el objetivo para reducir la dispersión de la luz transmitida. El aceite debe tener las mismas propiedades ópticas que el cristal de las lentes, y por consiguiente debe tener un índice de refracción de 1,515, es decir, aproximadamente 1,5 veces mayor que el índice de refracción del agua.

Los aceites de inmersión existentes en el mercado pueden limpiarse de la lente del objetivo con un paño de algodón suave. No utilice ese paño para limpiar otras lentes. El aceite de inmersión presente en la preparación puede eliminarse suavemente con los disolventes recomendados por los fabricantes, o colocando las preparaciones boca abajo durante un rato sobre un papel blanco absorbente que eliminará el aceite. Algunos eliminan el aceite pasando el papel absorbente sobre la extensión, pero se trata de un método no recomendado. Otro método consiste en envolver las preparaciones examinadas en papel absorbente blanco (por ejemplo, en papel higiénico), dejando una capa de papel entre cada dos preparaciones. Al cabo de algunos días, cuando el papel haya absorbido el aceite, se pueden quitar las preparaciones y tirar el papel. No se debe utilizar papel de color porque suele ser ácido y desteñirá las extensiones.

Cómo cuidar el microscopio

Con sentido común y unos cuidados normales, su microscopio funcionará bien durante muchos años.

Eliminación de polvo y grasas

Durante el día, mientras no se esté utilizando, el microscopio debe cubrirse con un paño limpio o una funda de plástico para proteger las lentes de la acumulación de polvo. Durante la noche o siempre que vaya a estar mucho tiempo sin ser utilizado, debe guardarse en su caja, con la puerta bien cerrada. Para proteger las lentes de los objetivos, debe alinearse el objetivo de 10× con el ocular.

La grasa de las pestañas y de la piel de la cara y de los dedos se deposita fácilmente en las lentes y los oculares durante el uso del microscopio. Estas partes deben limpiarse cuidadosamente con un pañuelo para lentes o un paño suave de algodón.

Los objetivos de inmersión en aceite deben limpiarse inmediatamente después de haber sido utilizados. De lo contrario, el aceite se irá acumulando y endureciendo con el tiempo, y el objetivo acabará por volverse inservible. Para evitar mancharlos de aceite, no limpie jamás los otros objetivos, los oculares ni el espejo con los paños utilizados para limpiar el objetivo de inmersión en aceite.

Prevención del crecimiento de hongos

En los climas cálidos y húmedos los hongos proliferan fácilmente en las lentes y prismas, lo cual causa problemas y puede llegar a inutilizar el microscopio. En tal caso, las superficies afectadas tienen que limpiarse y volver a pulirse, trabajo que suele ser realizado por el fabricante y puede tardar tiempo, además de ser caro.

- Los hongos no proliferan en las superficies de vidrio en atmósferas secas. Por consiguiente, es importante guardar el microscopio en condiciones secas siempre que no se esté utilizando. Para ello se puede utilizar uno de los métodos siguientes.
- Guarde el microscopio en un armario con aire caliente, con una puerta bien ajustada y, dependiendo de su tamaño, dos o más bombillas de 25 W permanentemente encendidas. La temperatura dentro del armario debe mantenerse constante entre 30 y 35 °C, con escasa humedad.
- Guarde todas las lentes y prismas en una caja hermética o desecador con gel de sílice activado, una sustancia desecante que absorbe el vapor de agua del aire. El gel de sílice con indicador es azul cuando está activo, y se va volviendo rosa a medida que absorbe vapor de agua. Cuando tenga un color rosa intenso puede reactivarse calentándolo y queda listo para volver a utilizarlo (después de enfriado) cuando se vuelve nuevamente azul intenso.
- A ser posible, guarde el microscopio en una sala con aire acondicionado en funcionamiento continuo. Las salas que solo tengan aire acondicionado durante las horas de trabajo diurnas no son adecuadas.

Transporte del microscopio

Cuando traslade el microscopio de un laboratorio a otro o lo desplace sobre el terreno hay que asegurarse de que esté bien fijado dentro de su caja. Para ello, lo mejor es atornillar el dispositivo de seguridad a la base del microscopio, atravesando el agujero que hay en el fondo de la caja protectora. Cuando esta operación se hace correctamente el microscopio permanece inmóvil dentro de su caja, por muy mala que sea la carretera.

**Lea la unidad didáctica 7 como preparación
para la próxima sesión.**

Notas

Notas

Unidad didáctica 7

Examen de las extensiones de sangre

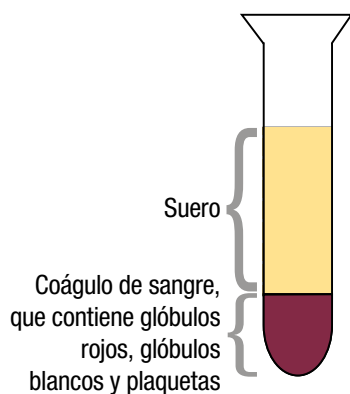
Objetivos didácticos

Una vez que haya completado esta unidad didáctica, podrá:

- **enumerar** los componentes normales de la sangre;
- **ejecutar** cada uno de los métodos utilizados para examinar extensiones de sangre finas y gruesas en busca de plasmodios;
- **reconocer** y clasificar los componentes normales de la sangre;
- **nombrar** correctamente las partes principales de los glóbulos blancos, y
- **reconocer** los contaminantes habituales de las extensiones de sangre.

Nota: Los niveles de exactitud exigidos no figuran entre estos objetivos didácticos. Será el tutor quien establezca los niveles de exactitud que definen la competencia y los métodos de evaluación del curso.

Componentes normales de la sangre



Cuando se extrae sangre directamente de una vena a un tubo de ensayo tiene el aspecto de un líquido rojo. Al cabo de unos 5 a 20 minutos se distinguen dos capas, como muestra el diagrama: la capa de suero, que es un líquido amarillo claro, y el coágulo sanguíneo, que es una sustancia semi-sólida que se vuelve de color rojo oscuro, casi negro. El coágulo contiene los glóbulos rojos, los glóbulos blancos y las plaquetas. Estos componentes son muy pequeños y solo pueden verse con el microscopio en una extensión de sangre fresca seca y teñida antes del examen.

Las cantidades de sangre mayores que las proporcionadas por una punción digital suelen verterse en tubos tratados con anticoagulantes para evitar que la sangre se coagule. La sangre coagulada es inservible en muchos procedimientos de laboratorio. Las extensiones hechas con sangre anticoagulada deben manipularse con mucho cuidado porque se adhieren mal al portaobjetos. Algunos anticoagulantes cambian ligeramente el pH, lo cual puede alterar la calidad de la tinción. Si la sangre anticoagulada se deja sobre la mesa o en el refrigerador durante más de 1 a 2 horas, la morfología de sus componentes, tales como los glóbulos blancos, las plaquetas o los parásitos, puede modificarse y dificultar el diagnóstico.

El aspecto de los componentes normales de la sangre

El aspecto normal de los diversos componentes de la sangre es siempre ligeramente diferente en las extensiones gruesas y finas, y es importante poder reconocerlos.

La sangre en las extensiones finas teñidas con Giemsa

Las extensiones finas examinadas con el objetivo de inmersión en aceite de 100× y el ocular de 10× contienen: glóbulos rojos (también llamados eritrocitos o hematíes), glóbulos blancos (también llamados leucocitos) y plaquetas (también llamadas trombocitos).

Glóbulos rojos

Los glóbulos rojos tienen forma de disco bicóncavo. Son las células más abundantes en las extensiones finas. Hay aproximadamente 5 millones en cada microlitro (μl) de sangre. Con la tinción de Giemsa el glóbulo rojo tiene el aspecto de un disco gris pálido o rosa claro de aproximadamente 7,5 μm de diámetro.

Glóbulo rojo

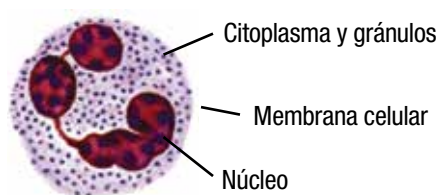


Los glóbulos rojos no tienen núcleo. Algunos pueden tener un tamaño superior al de los glóbulos rojos normales (normocitos) y en algunos casos pueden ser incluso ovalados.

Glóbulos blancos

El número de glóbulos blancos es muy inferior al de glóbulos rojos: unos 6000 a 8000 por microlitro. Esta cifra puede variar mucho en determinadas enfermedades y en algunas personas. Hay varios tipos de glóbulos blancos. Como cada uno de ellos se tiñe de forma diferente, con la práctica resulta fácil distinguirlos. La ilustración muestra las partes de un glóbulo blanco típico.

Glóbulo blanco



Cada glóbulo blanco tiene un núcleo rodeado de citoplasma; a veces el citoplasma es granular. Algunos glóbulos blancos tienen un núcleo multilobulado, como muestra esta ilustración. Los glóbulos blancos se dividen en dos grupos: polimorfonucleares y mononucleares.

Leucocitos polimorfonucleares

Neutrófilos. En personas sanas representan un 65% de la totalidad de los glóbulos blancos. Su citoplasma posee gránulos bien definidos y el núcleo se tiñe de color púrpura oscuro. Cuando hay plasmodios los neutrófilos pueden contener

«pigmento palúdico», que es un subproducto del metabolismo del parásito y es todo lo que queda de él después de que haya sido fagocitado («tragado» o «comido») por el neutrófilo. El pigmento palúdico puede ser de color marrón dorado o casi negro, y no capta el colorante de Giemsa.

Eosinófilos. En personas sanas representan un 1 a 4% de la totalidad de los glóbulos blancos. Sus gránulos son de un color rosado (de «eosina») característico y son un buen indicador de la calidad de la tinción. El número de eosinófilos puede aumentar espectacularmente en enfermedades como el asma, las helmintiasis y otras infecciones y alergias. Cuando el porcentaje de eosinófilos es del 8% o más (eosinofilia), debe dejarse constancia del hecho y comunicárselo al médico.

Basófilos. Son raros, y no llegan al 1% de la totalidad de los glóbulos blancos. Con la tinción de Giemsa el citoplasma muestra grandes gránulos de color azul o malva.

Leucocitos mononucleares

Monocitos. Son los leucocitos más grandes, con un diámetro de 12 a 18 μm . El núcleo es grande y tiene forma de riñón o frijol; el citoplasma puede contener escasos gránulos que se tiñen de rosa o rojo. Los monocitos representan un 2 a 10% de la totalidad de los glóbulos blancos y, al igual que los neutrófilos, fagocitan activamente los plasmodios.

Linfocitos. Existen dos tipos (grandes y pequeños), que en su conjunto representan un 20 a 45% de la totalidad de los glóbulos blancos. El núcleo de los linfocitos grandes es redondo y de color malva oscuro. El abundante citoplasma se tiñe de azul claro y puede contener algunos gránulos de color malva. Los linfocitos pequeños son ligeramente mayores que un glóbulo rojo normal. Alrededor del núcleo hay escaso citoplasma, que se tiñe de azul oscuro, a veces casi negro.

Plaquetas

Las plaquetas son pequeñas, irregulares, sin núcleo, y con una fina granulación roja sobre un fondo azulado. Al igual que los eosinófilos, las plaquetas pueden servir como indicadores sensibles de la calidad de la tinción. Su número es de unas 100 000 por microlitro de sangre y generalmente aparecen en grupos de 5 a 10, aunque forman grupos más numerosos cuando la extensión de sangre es de mala calidad. Los microscopistas inexpertos pueden confundirlas con los plasmodios.

La sangre en las extensiones gruesas teñidas con Giemsa

Al examinar una extensión gruesa con un objetivo de inmersión en aceite de 100 \times y un par de oculares de 10 \times el observador verá restos de glóbulos rojos y glóbulos blancos y plaquetas. Los glóbulos blancos y las plaquetas tienen un aspecto muy parecido al observado en las extensiones finas, con la excepción de que no se ve el citoplasma alrededor del núcleo.

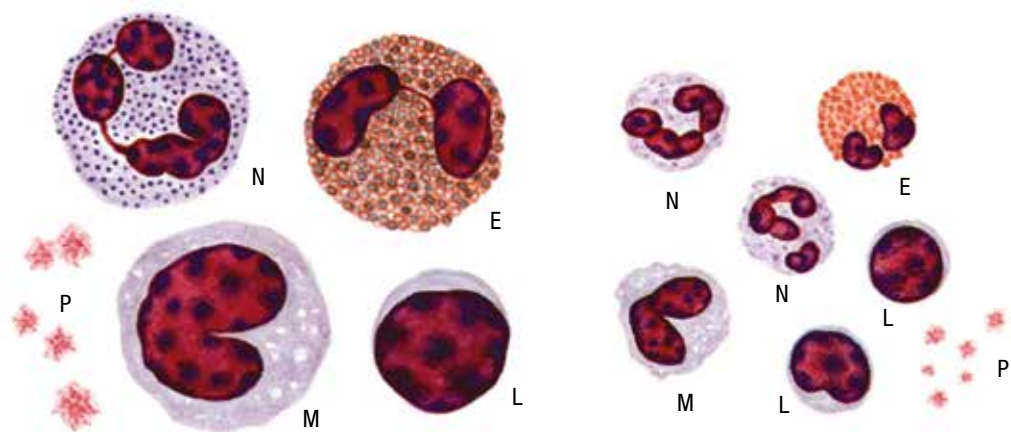
La extensión gruesa consiste en glóbulos rojos deshemoglobinizados, unos sobre otros en una masa gruesa. Cuando se tiñe una extensión gruesa, el agua de la tinción actúa sobre los glóbulos rojos no conservados, cuya hemoglobina se disuelve en el agua. Este proceso se denomina 'deshemoglobinización' y puede observarse cuando se coloca una extensión gruesa no teñida en un disco de Petri con agua. En cuanto la preparación entra en contacto con el agua, la hemoglobina roja empieza a

salir, quedando la extensión pálida y opaca al cabo de unos minutos. Lo mismo ocurre durante la tinción, y una vez que esta se ha completado lo único que queda son los restos de los glóbulos rojos, y los glóbulos blancos y las plaquetas teñidos.

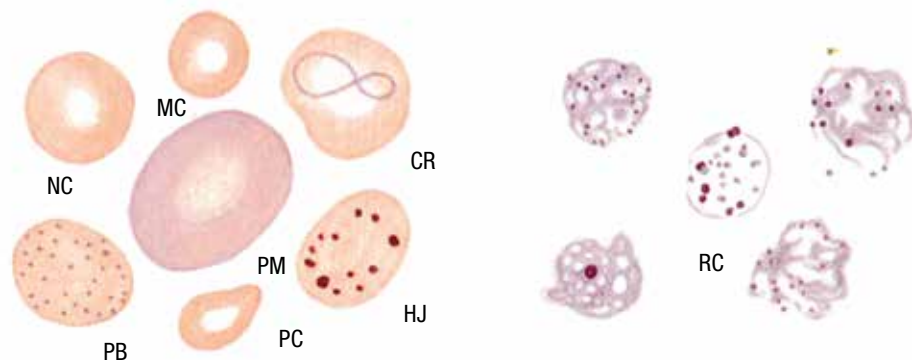
Las ilustraciones que figuran a continuación le ayudarán a identificar los glóbulos rojos, los distintos tipos de glóbulos blancos y las plaquetas. Hasta que adquiera experiencia en su identificación, confirme sus clasificaciones con el facilitador. Verá que estas ilustraciones, como la mayoría de las que contiene este manual, son dibujos en color. Eso es así porque al principio no es fácil reconocer al microscopio los elementos de la sangre teñidos. Los dibujos en color facilitan ese reconocimiento. A medida que vaya adquiriendo experiencia probablemente deje de comparar lo que ve con los dibujos y pase a hacerlo con las microfotografías (fotografías tomadas a través del microscopio) que se muestran en la publicación *Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo*.

En los ejercicios que vienen a continuación también se familiarizará con los artefactos y los contaminantes de la sangre, que pueden dificultar el diagnóstico de los plasmodios. No obstante, todas las dificultades irán disminuyendo a medida que vaya adquiriendo más experiencia. En la unidad didáctica 8 volverán a abordarse los artefactos y los contaminantes de la sangre.

Aspecto de los componentes de la sangre en las extensiones finas y gruesas



Extensión fina GLÓBULOS BLANCOS Extensión gruesa
 N = Neutrófilo, E= Eosinófilo, M = Monocito, L = Linfocito, P = Plaquetas



Extensión fina GLÓBULOS ROJOS Extensión gruesa
 NC = Normocito, MC = Microcito, PM = Macrocito policromático, PC = Poiquilocito,
 PB = Basofilia puntiforme, CR = Anillo de Cabot, HJ = Cuerpos de Howell-Jolly, RC = 'Nubes' reticulares
 y cuerpos cromatoides en la anemia grave

Artefactos y contaminantes que pueden generar confusión



'Nubes' y restos de cromatina derivados de glóbulos rojos inmaduros en la anemia grave



Grupos aislados de gránulos eosinófilos



Plaquetas y un linfocito como término de comparación de su tamaño

ELEMENTOS DE LA SANGRE



BACTERIAS



ESPORAS



CÉLULAS VEGETALES

HONGOS



Partículas de polvo



Cristales del colorante de Giemsa



Arañazos en espiga del cristal del portaobjetos



Hoyos en el cristal de un portaobjetos desvitrificado

FUENTES DIVERSAS

Lea la unidad didáctica 8 como preparación para la próxima sesión.

Notas

Unidad didáctica 8

Examen de las extensiones de sangre en busca de plasmodios

Objetivos didácticos

Una vez que haya seguido todos los pasos de esta unidad didáctica y alcanzado el nivel establecido para su curso, podrá:

- **nombrar** correctamente las partes de los plasmodios;
- **distinguir** los plasmodios en las extensiones finas y gruesas, e identificar los trofozoítos, esquizontes y gametocitos;
- **identificar** en las extensiones finas y gruesas las cuatro especies de plasmodios que afectan al ser humano: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*;
- **describir** y demostrar en las extensiones gruesas y finas las principales diferencias morfológicas entre las cuatro especies mencionadas;
- **demostrar** los contaminantes observados frecuentemente en las extensiones de sangre que se confunden a menudo con los componentes de la sangre o los plasmodios;
- **reconocer** y nombrar otros parásitos sanguíneos del ser humano frecuentes en su zona, y
- **describir** maneras de prevenir la contaminación de las extensiones de sangre por algunos artefactos.

La exactitud sigue siendo un elemento importante de su trabajo. Para alcanzar y mantener los niveles establecidos, tendrá que examinar una serie de extensiones de sangre para adquirir práctica y experiencia. Además del asesoramiento que le prestará el facilitador, esta unidad didáctica contiene numerosos diagramas, y también puede consultar las microfotografías de *Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo*, que le ayudarán a trabajar en solitario antes de confirmar su diagnóstico final con el facilitador.

Aunque los niveles de exactitud que se esperan de los alumnos de este curso se fijan separadamente¹ y no se describen aquí, el nivel será del 90% con respecto a la identificación de los plasmodios en las extensiones finas y gruesas y a la identificación de los trofozoítos, esquizontes y gametocitos, y del 80% con respecto a la identificación de las cuatro especies de plasmodios que afectan al ser humano. El nivel alcanzado por los alumnos se basará en los resultados que obtengan al examinar una serie de preparaciones estándar proporcionadas por el tutor. Aunque pueda parecer

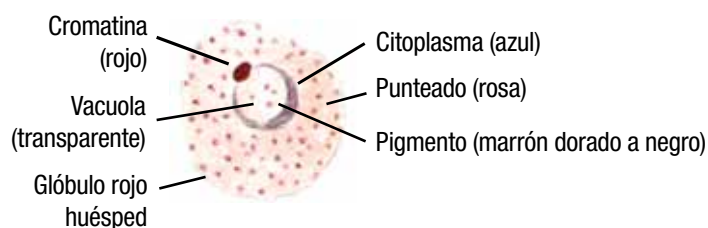
1 OMS. *Malaria microscopy quality assurance manual*. Manila, Oficina Regional para el Pacífico Occidental, 2009.

que estos niveles son muy altos, son lo mínimo que se suele exigir. A medida que su experiencia, conocimientos y capacidades vayan aumentando, su exactitud aumentará de forma significativa. Con este enfoque y una práctica continua verá que no es difícil alcanzar la exactitud del 80% exigida para algunas actividades. Muchos participantes alcanzarán sistemáticamente mayores niveles de competencia.

Reconocimiento de los plasmodios

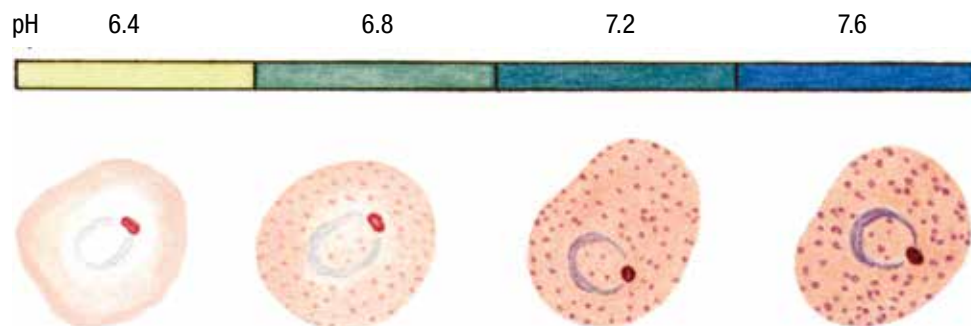
La tinción de Giemsa colorea de forma distinta las diferentes partes de los plasmodios. Con una buena tinción es fácil distinguir las partes que se muestran en el diagrama.

Partes de un plasmodio dentro de un glóbulo rojo



La solución amortiguadora con un pH estable de 7,2 es fundamental para que los parásitos y los glóbulos blancos se tiñan bien. Sin un pH estable, la tinción será muy variable en función del pH, como se muestra en el diagrama siguiente.

Efecto del pH en la morfología del parásito



Los plasmodios pasan por una serie de fases de desarrollo en las que su forma sufre grandes cambios. Sin embargo, los colores de los que se tiñen las diferentes partes del parásito son siempre los mismos en las diferentes fases.

- **Cromatina.** Parte del núcleo del parásito, generalmente redonda, se tiñe de rojo vivo.
- **Citoplasma.** Se tiñe de azul; el tono de azul puede variar según las especies, y es a veces una característica diferencial.
- **Pigmento.** Es un subproducto granular del crecimiento del parásito. No capta el colorante pero su color varía de marrón dorado a negro. El color y el tamaño de los gránulos de pigmento varían según la especie, y el color suele ser característico.

- **Punteado.** «Manchas», «puntos» y «hendiduras» son descripciones del efecto del parásito en la célula huésped, y son puestas en destaque por una buena tinción. La forma mejor conocida y más fácil de demostrar es el «punteado de Schüffner», una masa de puntos rosa que parecen llenar algunos glóbulos rojos parasitados por *P. vivax*. En las infecciones por *P. ovale*, el punteado casi malva que puede llegar a dificultar la visualización del parásito mismo recibe el nombre de «puntos de James», aunque la mayoría de los autores siguen llamándole «punteado de Schüffner». Otros puntos o hendiduras, como las «hendiduras de Maurer» que se observan en las extensiones finas en algunas células parasitadas por *P. falciparum*, son más difíciles de demostrar, dependiendo de la calidad de la tinción.

Fases de los plasmodios

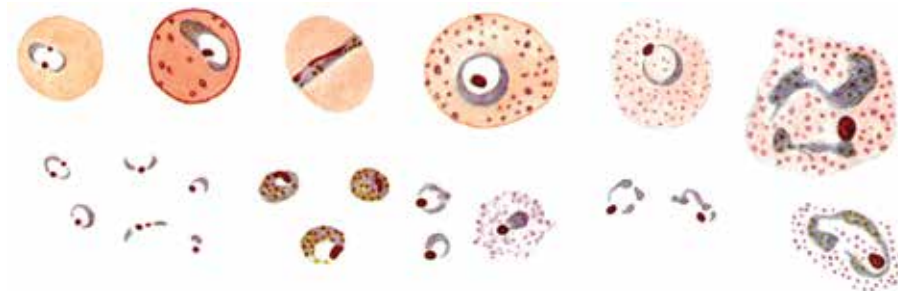
A lo largo de estos ejercicios prácticos, primero aprenderá a reconocer los plasmodios y sus fases en las extensiones finas. Se trata de un trabajo apasionante, y se le alentará a que trabaje y practique solo lo más que pueda.

Como ayuda para estos ejercicios, utilice la clave de identificación en extensiones finas y gruesas que figura en las páginas 55 y 56, así como las ayudas diagnósticas de las Figuras 3, 4 y 5 y las Láminas 4 a 8 de este manual. A medida que se vaya familiarizando con lo que vea, las microfotografías de *Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo* le resultarán cada vez más útiles. Hasta que no haya adquirido más experiencia, siga confirmando sus diagnósticos con el facilitador.

La fase de trofozoíto

Es la fase que más se ve. También se le llama fase de anillo, aunque el «anillo» puede aparecer incompleto en las extensiones gruesas. El trofozoíto en el interior de la célula huésped puede ser pequeño o muy grande. Generalmente hay una mancha de cromatina; cuando se trata de *P. falciparum* es frecuente que haya dos. El citoplasma adopta diferentes formas: desde un fino anillo bien definido hasta formas irregulares o extrañas, a veces llamadas «ameboideas». A medida que el parásito crece aparece el pigmento, que no se tiñe pero tiene un color que va del marrón dorado al marrón oscuro o incluso negro.

Trofozoítos



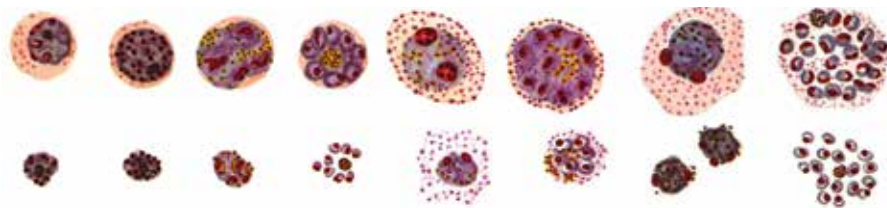
Fila superior: parásitos en la extensión fina.

Fila inferior: parásitos en la extensión gruesa.

La fase de esquizonte

Esta fase se reconoce fácilmente. Empieza cuando el trofozoíto ha alcanzado su plena capacidad y la cromatina se divide en dos. El parásito empieza a reproducirse de forma asexual, es decir, la célula empieza a dar «células hijas» (merozoítos) por división simple. Se producen varias divisiones más de la cromatina, que denotan el crecimiento del esquizonte, hasta que hay muchos cuerpos cromatínicos, cada uno de ellos con su citoplasma. El número de divisiones de la cromatina y del merozoíto ayudan a identificar la especie. Estos nuevos parásitos claramente definidos están ahora listos para abandonar la célula huésped e invadir nuevos glóbulos rojos.

Esquizontes



Fila superior: esquizontes en la extensión fina.

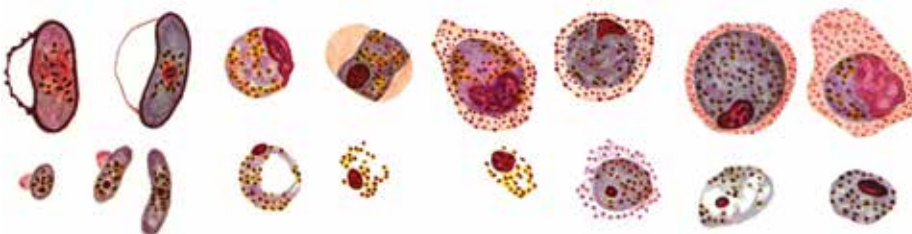
Fila inferior: esquizontes en la extensión gruesa.

Nota: La formación de esquizontes en los plasmodios (reproducción asexual) tiene lugar tanto en la fase hepática (exoeritrocítica) como en la fase eritrocítica. En ambas fases se denomina «esquizogonia».

La fase de gametocito

En la hembra del vector (el mosquito *Anopheles*), el parásito evoluciona a gametocito macho o hembra como preparación para la fase sexual. Los gametocitos son redondos o en forma de banana, dependiendo de la especie. La forma como el parásito capta la tinción ayuda a identificar su sexo en las extensiones finas: microgametocitos los machos y macrogametocitos las hembras. La diferenciación entre los gametocitos macho y hembra resulta difícil en las extensiones gruesas.

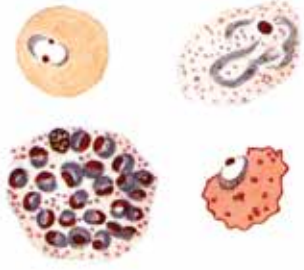
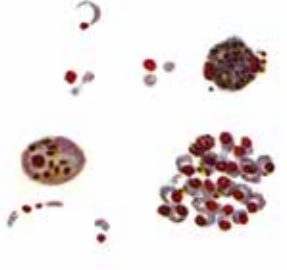


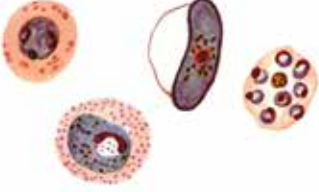
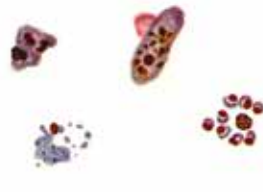




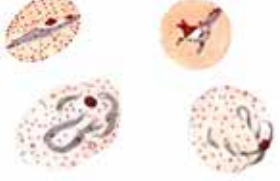



Gametocitos



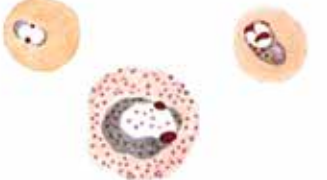

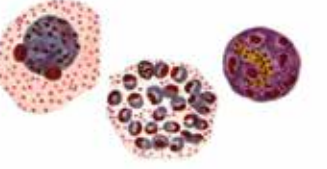
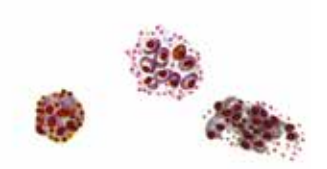


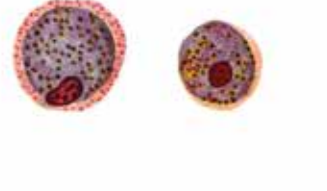

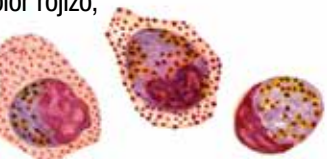





Fila superior: gametocitos macho y hembra en la extensión fina.

Fila inferior: gametocitos en la extensión gruesa.

Claves para identificar las fases de los plasmodios en las extensiones finas y gruesas

¿Ve:	Extensión fina	Extensión gruesa
<p>1. una o más manchas rojas de cromatina con su citoplasma azul?</p> <p>Sí: Pase al punto 2.</p> <p>No: Lo que ve no es un plasmodio.</p>		
<p>2. el tamaño y la forma que corresponden a un parásito?</p> <p>Sí: Probablemente se trate de un plasmodio; pase al punto 3.</p> <p>No: Lo que ve no es un plasmodio.</p>		
<p>3. pigmento en la «célula»?</p> <p>Sí: Pase al punto 7.</p> <p>No: Pase al punto 4.</p>		
<p>4. una mancha de cromatina junto a un anillo de citoplasma azul que contiene una vacuola?</p> <p>Sí: Esto es un trofozoíto.</p> <p>No: Pase al punto 5.</p>		
<p>5. una mancha de cromatina junto a su citoplasma sólido de color azul, sin vacuola aparente?</p> <p>Sí: Esto es un trofozoíto.</p> <p>No: Pase al punto 6.</p>		
<p>6. una mancha de cromatina y citoplasma azul irregular o fragmentado?</p> <p>Sí: Esto es un trofozoíto.</p> <p>No: Pase al punto 8.</p>		
<p>7. una mancha de cromatina en el parásito, con pigmento?</p> <p>Sí: Pase al punto 8.</p> <p>No: Pase al punto 9.</p>		

¿Ve:	Extensión fina	Extensión gruesa
<p>8. una vacuola en el parásito o citoplasma fragmentado de algún modo?</p> <p>Sí: Esto es un trofozoíto.</p> <p>No: Pase al punto 11.</p>		
<p>9. dos manchas de cromatina junto con un anillo de citoplasma y una vacuola?</p> <p>Sí: Esto es un trofozoíto.</p> <p>No: Pase al punto 10.</p>		
<p>10. 2–32 manchas de cromatina y pigmento?</p> <p>Sí: Esto es un esquizonte.</p>		
<p>11. una forma redondeada o de banana?</p> <p>Redondeada: Pase al punto 12.</p> <p>De banana: Pase al punto 14.</p>		
<p>12. cromatina rojo claro y citoplasma azul oscuro en un cuerpo redondeado?</p> <p>Sí: Esto es un gametocito hembra.</p> <p>No: Pase al punto 13.</p>		
<p>13. que el cuerpo redondeado se ha teñido de color rojizo, de modo que la cromatina no se ve claramente?</p> <p>Sí: Esto es un gametocito macho.</p>		<p>Es difícil diferenciar los gametocitos macho y hembra en las extensiones gruesas.</p>
<p>14. un parásito en forma de banana con un citoplasma muy teñido de azul y una cromatina rojo vivo?</p> <p>Sí: Esto es un gametocito hembra.</p> <p>No: Pase al punto 15.</p>		
<p>15. un parásito en forma de banana y todo él de un color rojizo que no permite distinguir la cromatina?</p> <p>Sí: Esto es un gametocito macho.</p>		<p>Es difícil diferenciar los gametocitos macho y hembra en las extensiones gruesas.</p>

Especies de plasmodios

El aprendizaje de cómo reconocer los plasmodios y sus fases se ha centrado hasta ahora en el aspecto de los parásitos. Ahora pasaremos a aprender cómo identificar cada una de las especies de plasmodio. El efecto del parásito en los glóbulos rojos huéspedes es muy importante para este diagnóstico.

Especies causantes del paludismo humano

Hay cuatro especies de plasmodios que infectan de forma natural al ser humano:

Plasmodium falciparum es la especie más frecuente en las zonas tropicales y es la causante de la mayoría de los casos graves y mortales de paludismo.

Plasmodium vivax es la especie más frecuente en las zonas más frías de los trópicos. Son los plasmodios humanos más grandes y son una importante causa de absentismo laboral y escolar.

Plasmodium malariae es la especie menos frecuente, pero está presente en la mayor parte de la zona tropical.

Plasmodium ovale se considera una especie rara. Es relativamente frecuente en África occidental y otras partes del continente africano, y se han descrito casos aislados en países tan distantes entre sí como China, Filipinas, Papua Nueva Guinea, Sudán o Tailandia. Debido a sus semejanzas morfológicas, los microscopistas con escasa experiencia confunden a veces *P. ovale* con *P. vivax*.

Las observaciones siguientes se aplican a las extensiones de sangre teñidas correctamente. Una mala tinción no revela el punteado de Schüffner, que es una ayuda importante para el diagnóstico de *P. vivax*. Incluso con una buena tinción de las extensiones finas, resulta difícil demostrar las hendiduras de Maurer de *P. falciparum*. La buena calidad de la tinción es fundamental para el diagnóstico exacto y el bienestar del paciente.

Aspecto de las especies de plasmodios en las extensiones finas

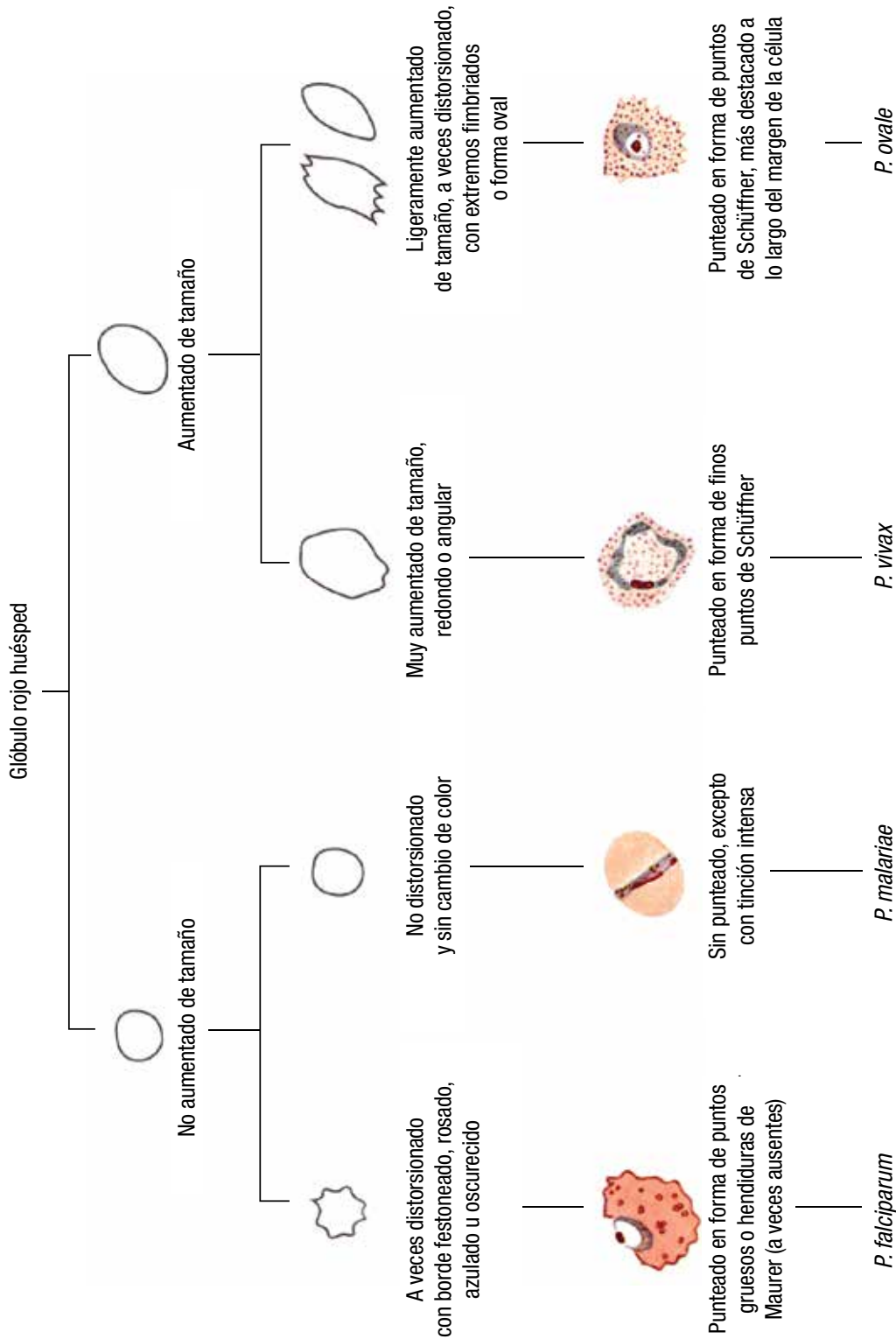
La guía para distinguir las cuatro especies de plasmodios empieza con el efecto que tiene el parásito en el glóbulo rojo infectado.

- ¿Está la célula aumentada de tamaño?
- ¿Presenta el glóbulo rojo infectado algún tipo de punteado?

En el caso de *P. vivax* y *P. ovale*, una buena tinción revela punteado de Schüffner o puntos de James. En el caso de *P. falciparum*, los puntos o hendiduras de Maurer se observan con menos frecuencia.

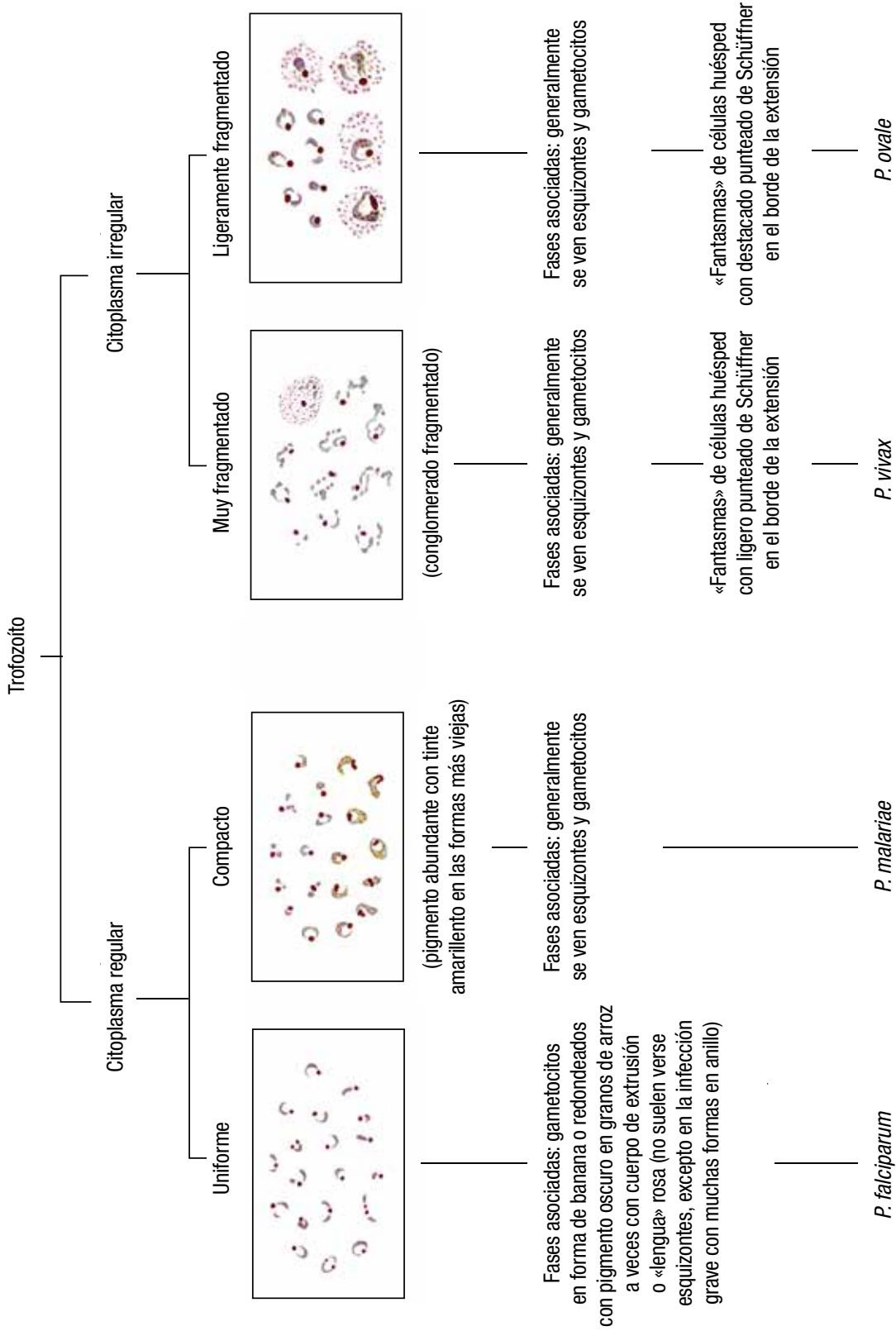
Las características diagnósticas definidas en la figura 6 ayudarán a orientarlo a la hora de decidir a qué especie pertenece el parásito observado. Siga trabajando solo todo lo que pueda. El facilitador le ayudará a resolver los problemas que le puedan surgir.

Diferenciación de las especies de plasmodios en las extensiones finas



Diferenciación de las especies de plasmodios en las extensiones finas basándose en los cambios de la célula y la presencia de punteado (tinción de Giemsa)

Diferenciación de las especies de plasmodios en las extensiones gruesas



Diferenciación de las especies de plasmodios en las extensiones gruesas basándose en las características del citoplasma y el punteado de los trofozoitos (tinción de Giemsa)

Las láminas en color 4 a 7 de este manual contienen dibujos que ilustran el aspecto de los parásitos en las extensiones finas (en el lado izquierdo de cada lámina) y gruesas (en el lado derecho). En la lámina 8 se comparan las diferentes fases de cada especie en las extensiones gruesas. Utilice estas láminas y las fotografías de Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo a medida que se vaya familiarizando con el aspecto de las diferentes fases de los plasmodios y sus especies. Las microfotografías de *Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo* muestran las fases del parásito y sus especies como aparecen realmente en las extensiones finas y gruesas.

Cuando el facilitador considere que está capacitado para identificar las fases y las especies en las extensiones finas, pasará a examinar los parásitos en las extensiones gruesas. El nivel de competencia de los microscopistas de los servicios periféricos con respecto a la identificación de las especies es del 80%¹ (la exactitud que se espera al examinar una serie de preparaciones estándar para recibir la acreditación). Con la práctica no resulta difícil alcanzar este nivel. A medida que vaya adquiriendo experiencia alcanzará fácilmente los niveles de competencia exigidos por el curso. Lo único que necesita es práctica y prestar atención a los detalles.

Recuerde:

La identificación de una preparación positiva como «negativa» constituye un error diagnóstico. Eso puede significar que no se establezca el diagnóstico del paludismo y que el paciente reciba un tratamiento equivocado. En el caso del paludismo por *P. falciparum* el paciente puede ver agravada su enfermedad y morir.

Aspecto de las especies de plasmodios en las extensiones gruesas

Al igual que los glóbulos rojos y blancos, los plasmodios también presentan aspectos diferentes según se trate de extensiones finas o gruesas.

- Los glóbulos rojos no se ven cuando la extensión gruesa se observa con el objetivo de inmersión en aceite de 100× y el par de oculares de 10×.
- Los plasmodios pueden verse claramente, aunque, al igual que los glóbulos blancos, aparecen más pequeños.
- Los finos anillos del citoplasma de algunos trofozoítos parecen estar incompletos o rotos.
- La aparente ausencia de glóbulos rojos dificulta la visualización del punteado de Schüffner, sobre todo en las partes más gruesas de la extensión.
- En los bordes de la extensión pueden verse los «fantasmas» de los glóbulos rojos rodeando a los parásitos. Esto le ayudará en el diagnóstico.
- Las hendiduras de Maurer de *P. falciparum* no se ven en las extensiones gruesas teñidas.

¹ OMS. *Malaria microscopy quality assurance manual*. Manila, Oficina Regional para el Pacífico Occidental, 2009.

Tendrá que buscar bien para encontrar parásitos en una extensión gruesa, y tendrá que utilizar el ajuste fino para enfocar bien cada vez que mire un elemento o mueva el campo microscópico. Esto es así porque la extensión gruesa es más profunda que la extensión fina, que solo tiene una capa de células. Este enfoque y reenfoque constante se volverá natural a medida que vaya adquiriendo experiencia con la microscopía. Si no enfoca y reenfoca constantemente a medida que examina el campo y mueve la preparación corre un verdadero riesgo de que los parásitos le pasen inadvertidos.

Contaminantes y artefactos de las extensiones de sangre

Llegado aquí, habrá visto en las extensiones algunos objetos que le han causado confusión e incertidumbre. Puede que en su zona haya otros parásitos sanguíneos que se muestren sistemáticamente en los estudios o en los pacientes. Tiene que conocer esos parásitos. Aunque no son artefactos, debe familiarizarse con ellos, porque eso es muy importante para el programa de control del paludismo. Este tema de importancia local le será explicado más detalladamente por su instructor.

Artefactos que aparecen regularmente en las extensiones de sangre

Hongos

La mejor forma de evitar la proliferación de hongos en los portaobjetos consiste en limpiarlos, envolverlos y guardarlos en un lugar seco hasta que vayan a ser utilizados. En el laboratorio de los hospitales, los portaobjetos suelen guardarse en alcohol metílico y secarse justo antes de utilizarlos; por consiguiente este problema es raro. En climas húmedos y calientes, las extensiones de sangre que estén sin teñir 48 h o más corren un alto riesgo de contaminación por hongos. Las extensiones gruesas que no se tiñan inmediatamente deben ser deshemoglobinizadas lo antes posible después de haber sido secadas. Una vez que se hayan deshemoglobinado y secado, deben guardarse en un lugar seco hasta que se proceda a su tinción. Este método no garantiza la ausencia de proliferación de hongos, pero reduce la posibilidad de que se produzca.

Polen y esporas transportados por el aire

Se asientan fácilmente en las extensiones de sangre recién hechas, todavía húmedas, especialmente en ciertas épocas del año y durante los estudios realizados en aldeas. Si las esporas se asientan antes de que la extensión esté seca, pueden captar la tinción, aumentando todavía más la confusión durante el examen. El secado de las extensiones en una bandeja cubierta o en una caja de portaobjetos ayudará a evitar este tipo de contaminación.

Suciedad y bacterias

Si el dedo del paciente no está bien limpio o el portaobjetos no está perfectamente limpio, pueden introducirse bacterias o suciedad en la extensión de sangre. La suciedad de debajo de las uñas pasa fácilmente a la sangre si se deja que esta corra debajo de la uña durante la realización de la extensión. La buena higiene personal del paciente y el uso de guantes protectores de látex por parte del trabajador sanitario contribuirán a evitar este problema.

Agua contaminada

Si para preparar la solución amortiguadora o eliminar la tinción de las preparaciones se utiliza agua de pozo, de lluvia o de río sin tratar, cualquier contaminante orgánico que esté en esa agua puede pasar a la extensión, causando dudas diagnósticas. Este problema puede evitarse hirviendo y filtrando el agua.

Lámina 1. Fases de *Plasmodium falciparum* en extensiones finas y gruesas teñidas con Giemsa



Lámina 2. Fases de *Plasmodium vivax* en extensiones finas y gruesas teñidas con Giemsa

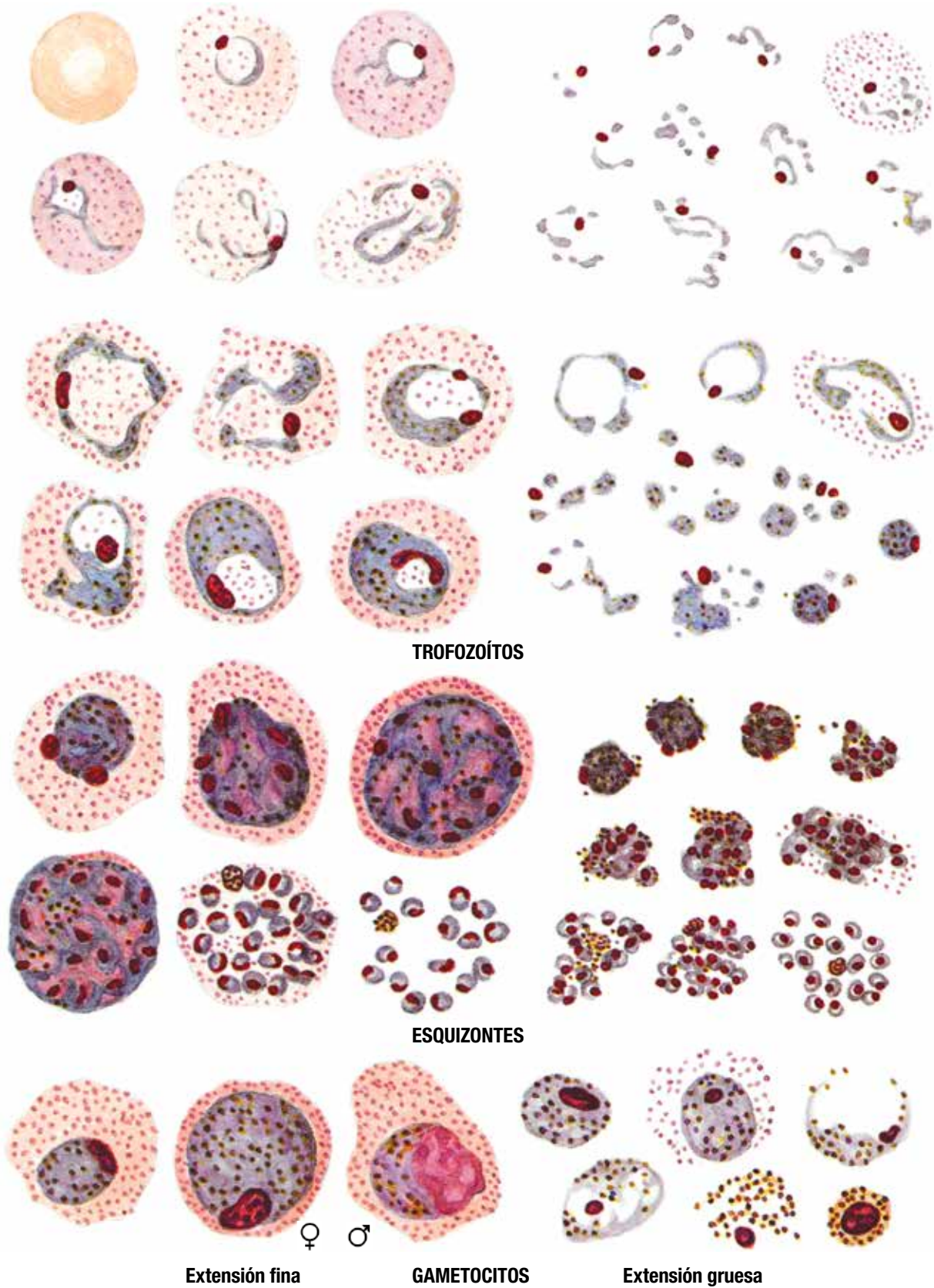


Lámina 3. Fases de *Plasmodium malariae* en extensiones finas y gruesas teñidas con Giemsa

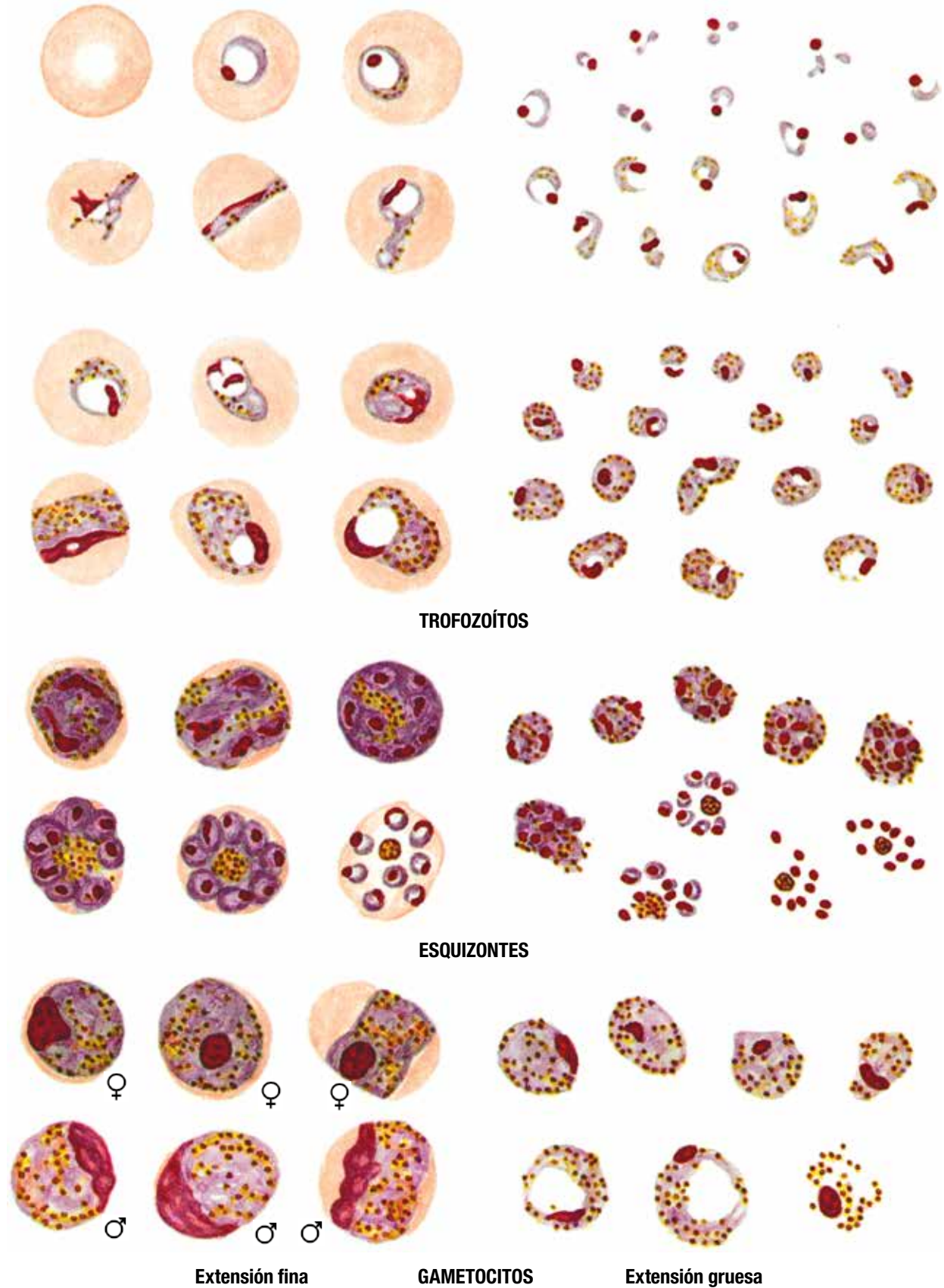
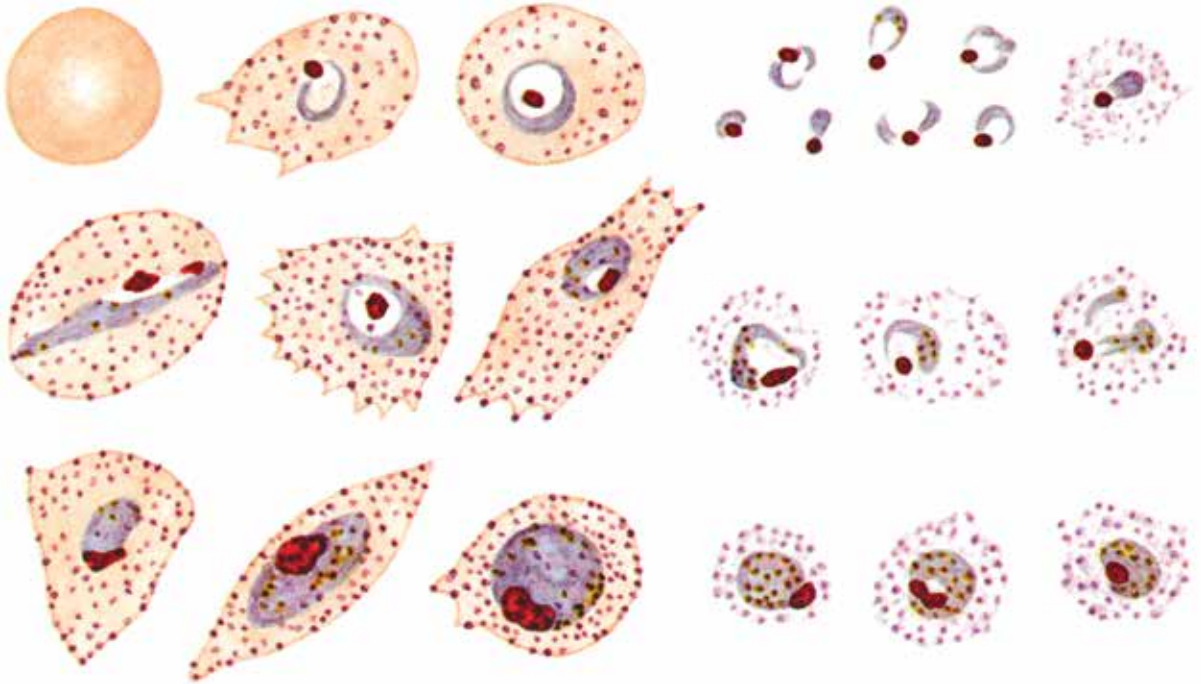
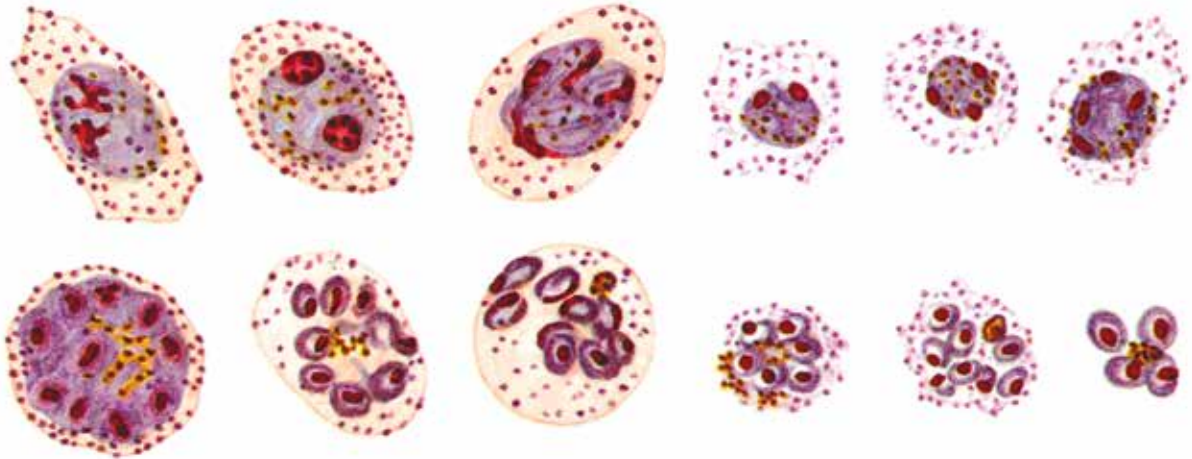


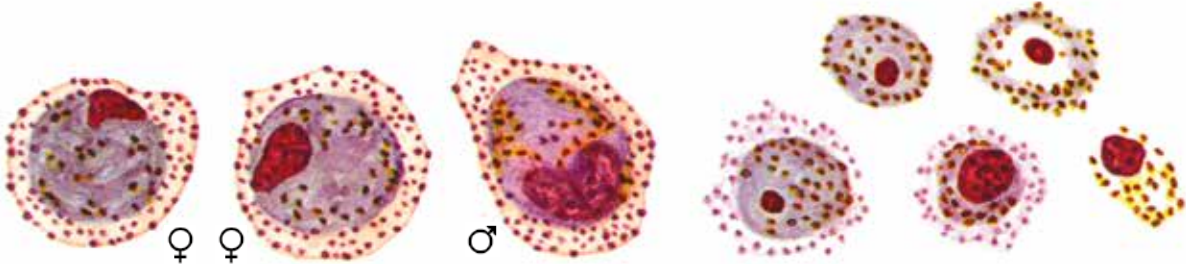
Lámina 4. Fases de *Plasmodium ovale* en extensiones finas y gruesas teñidas con Giemsa



TROFOZOÍTOS



ESQUIZONTES



♀ ♀

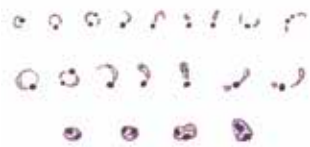
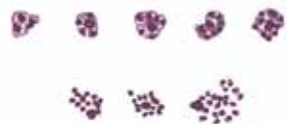


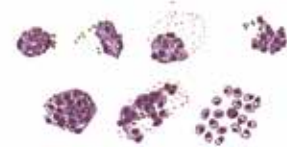

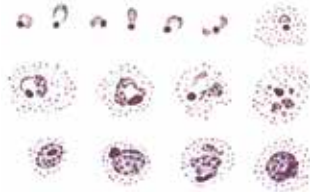
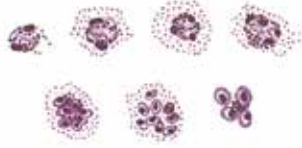



♂

Extensión fina

GAMETOCITOS

Extensión gruesa

Lámina 5. Identificación de las especies de plasmodios en las extensiones gruesas teñidas con Giemsa

Especies		Trofozoito	Esquizonte	Gametocito		
Plasmodium falciparum	Generalmente se observan trofozoitos jóvenes en crecimiento y/o gametocitos maduros	 <p>Tamaño: pequeño a medio. Número: a menudo elevado. Forma: frecuentemente en anillo y en coma. Cromatina: a menudo dos puntos. Citoplasma: regular, fino o carnoso. Formas maduras: a veces presentes en el paludismo grave, compactas, con pigmento en unos cuantos granos gruesos o en una masa.</p>	 <p>Generalmente asociado a muchas formas en anillo. Tamaño: pequeño, compacto. Número: escaso, infrecuentes, generalmente en el paludismo grave. Formas maduras: 12-30 o más merozoítos en conglomerados compactos. Pigmento: masa oscura única.</p>	 <p>Formas inmaduras en punta poco frecuentes. Formas maduras: redondeadas o en banana. Cromatina: única, bien definida. Pigmento: disperso, grueso, en forma de granos de arroz; cuerpo de extrusión rosa a veces presente. Se observan a menudo formas erosionadas que solo tienen cromatina y pigmento.</p>		
	Plasmodium vivax	Se observan todas las fases; punteado de Schüffner en los fantasmás de los glóbulos rojos huésped, especialmente en los bordes de la extensión	 <p>Tamaño: pequeño a grande. Número: escaso a moderado. Forma: anillos rotos y formas irregulares frecuentes. Cromatina: única, ocasionalmente doble. Citoplasma: irregular o fragmentado. Formas maduras: compactas, densas. Pigmento: disperso, fino.</p>	 <p>Tamaño: grande. Número: escaso a moderado. Formas maduras: 12-24 merozoítos, generalmente 16, en conglomerados irregulares. Pigmento: masa suelta</p>	 <p>Formas inmaduras difíciles de distinguir de los trofozoítos maduros. Formas maduras: redondas, grandes. Cromatina: única, bien definida. Pigmento: disperso, fino. Formas erosionadas con escaso o nulo citoplasma y solo con cromatina y pigmento.</p>	
		Plasmodium ovale	Se observan todas las fases; punteado de Schüffner muy marcado en los fantasmás de los glóbulos rojos huésped, especialmente en los bordes de la extensión	 <p>Tamaño: puede ser más pequeño que <i>P. vivax</i>. Número: generalmente escaso. Forma: en anillo o redondeada, compacta. Cromatina: única, destacada. Citoplasma: bastante regular, carnoso. Pigmento: disperso, grueso.</p>	 <p>Formas inmaduras difíciles de distinguir de los trofozoítos maduros. Formas maduras: redondas, pueden ser más pequeñas que <i>P. vivax</i>. Cromatina: única, bien definida. Pigmento: disperso, grueso. Formas erosionadas que solo muestran cromatina y pigmento.</p>	 <p>Tamaño: similar a <i>P. malariae</i>. Número: escaso. Formas maduras: 4-12 merozoítos, generalmente 8, en un conglomerado suelto. Pigmento: masa concentrada.</p>
			Plasmodium malariae	Se observan todas las fases	 <p>Tamaño: pequeño. Número: generalmente escaso. Forma: en anillo o redondeada, compacta. Cromatina: única, grande. Citoplasma: regular, denso. Pigmento: disperso, abundante, con tinte amarillento en las formas más viejas.</p>	 <p>Tamaño: pequeño, compacto. Número: generalmente escaso. Formas maduras: 6-12 merozoítos, generalmente 8, en un conglomerado suelto, algunos aparentemente sin citoplasma. Pigmento: concentrado.</p>

Notas

Unidad didáctica 9

Examen sistemático de las extensiones de sangre en busca de plasmodios

Objetivos didácticos

Una vez que haya completado esta unidad didáctica y alcanzado el nivel establecido, al examinar extensiones de sangre finas o gruesas podrá:

- **demostrar** regularidad en el diagnóstico microscópico del paludismo basado en la tinción de Giemsa;
- **demostrar** su competencia y regularidad en la identificación exacta de los plasmodios;
- **demostrar** su competencia y regularidad en la diferenciación exacta de las infecciones por *P. falciparum* y *P. vivax*;
- **explicar** por qué se suelen utilizar las extensiones gruesas para establecer el diagnóstico del paludismo y las excepciones a esta regla;
- **explicar** por qué se realizan recuentos de parásitos y para qué se utilizan, y
- **demostrar** regularidad en el recuento de plasmodios en las extensiones gruesas y saber expresarlo como número de parásitos por microlitro de sangre.

En esta unidad utilizará los métodos habituales de examen de las preparaciones para detectar los plasmodios; *los mismos que utilizará en su laboratorio*. Esto significa que tendrá que seguir cada uno de los pasos de la rutina, incluido el uso de formularios para registrar los resultados, tal como se le ha enseñado.

Al igual que en otras unidades didácticas, la consecución de estos objetivos puede parecer difícil. Sin embargo, verá que solo los dos últimos objetivos son nuevos. Los demás no son más que ampliaciones de objetivos anteriores, que ya tiene que haber alcanzado para haber llegado a este punto. Con práctica y su experiencia actual no le resultará difícil alcanzar estos objetivos.

Examen de las extensiones gruesas

En el diagnóstico microscópico del paludismo basado en la tinción de Giemsa se realiza siempre un examen de las extensiones gruesas. Siempre que las extensiones se hayan hecho bien y se hayan teñido correctamente, dicho examen no debe plantear problemas. Con la práctica alcanzará fácilmente los niveles de exactitud

necesarios para demostrar su competencia a la hora de identificar las fases de los plasmodios y sus especies. La microscopía basada en la tinción de Giemsa es extremadamente sensible y el examinador experimentado puede detectar plasmodios cuando su densidad es de tan solo 5 a 10 por microlitro de sangre.

A estas alturas del curso, aunque quizás ya sea capaz de diferenciar fácilmente las fases de las cuatro especies, solo se espera de usted que distinga sistemáticamente *P. falciparum* y *P. vivax*, las dos especies que en general representan más del 95% de los casos de paludismo identificados en la mayoría de los países. Para alcanzar el nivel de competencia exigido se requiere práctica y experiencia.

El problema más frecuente en la identificación de las fases y las especies en las extensiones gruesas consiste en distinguir las formas anulares tempranas de las cuatro especies, y en particular de *P. vivax* y *P. falciparum*.

- Todas las especies en sí mismas son fácilmente identificables.
- En el caso de *P. vivax* suele observarse una serie de trofozoítos y esquizontes. La presencia de punteado de Schüffner y el aumento de tamaño de los glóbulos rojos confirman el diagnóstico de *P. vivax*.
- Generalmente, *P. falciparum* solo presenta trofozoítos jóvenes, a menudo en gran número, y posiblemente los gametocitos característicos, en su mayoría en forma de salchicha.
- Solo en los casos más graves de paludismo por *P. falciparum* hay trofozoítos maduros y esquizontes en la extensión gruesa. Generalmente están «escondidos» en órganos profundos, fenómeno denominado «secuestro» (véase la lámina 1).
- Si hay *P. vivax* con anillos pequeños y sin punteado de Schüffner evidente ni aumento de tamaño de las células, la preparación debe considerarse representativa de infección mixta por *P. vivax* y *P. falciparum*. Para confirmar este diagnóstico debe examinarse la extensión fina.
- Tenga en cuenta la posibilidad de que haya una segunda especie (generalmente con una densidad menor) en toda extensión positiva.
- Los anillos de *P. falciparum* se mantienen pequeños, sin efectos evidentes en el glóbulo rojo huésped, excepto por la presencia de hendiduras de Maurer en las extensiones bien teñidas.

En las extensiones gruesas a veces resulta difícil diferenciar:

- los trofozoítos maduros y los gametocitos de *P. vivax*;
- los trofozoítos de *P. malariae* y los gametocitos redondeados de *P. falciparum*; y
- los trofozoítos maduros y los gametocitos de *P. malariae*.

En la actividad habitual, normalmente solo se registra si hay gametocitos en el caso de *P. falciparum*, lo cual es un diagnóstico fácil.

Secuestro de los plasmodios

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. ovale</i>
Trofozoitos				
Esquizizontes				
Gametocitos				

Secuestro: en la infección por *P. falciparum*, las fases que se encuentran dentro del recuadro azul no se observan en la sangre periférica, excepto en caso de infección con gran densidad de parásitos. En las infecciones por las otras tres especies se observan todas las fases en la sangre periférica. Parásitos en las extensiones gruesas teñidas con Giemsa.

Técnica de examen microscópico de la extensión gruesa

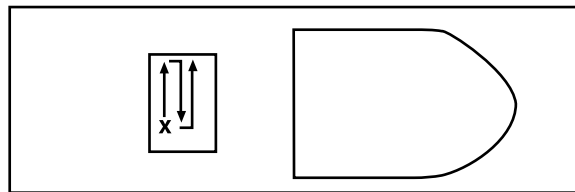
Necesitará:

- un microscopio con objetivos de 10×, 40× y 100× y una platina mecánica (también se puede acoplar un marcador al objetivo);
- una lámpara de microscopio alimentada por corriente, pilas o energía solar;
- preparaciones;
- aceite de inmersión;
- al menos dos contadores, uno para los parásitos y el otro para los glóbulos blancos;
- una calculadora electrónica;
- un cronómetro de laboratorio;
- formularios de registro, y
- un bolígrafo.

El método:

1. Coloque en la platina la preparación que vaya a examinar y alinee la extensión gruesa con el objetivo.
2. Coloque una gota de aceite de inmersión sobre la extensión gruesa y déjela que se extienda.
3. Utilizando el par de oculares de 10× y el objetivo de 40×, haga un barrido de la extensión en busca de microfilarias, otros parásitos sanguíneos grandes o detritos obvios. Seleccione la parte de la extensión que esté bien teñida, no tenga detritos y en la que los glóbulos blancos estén distribuidos uniformemente.

4. Aleje el revólver de la platina y gírelo hasta colocar el objetivo de inmersión en aceite de 100× sobre la porción seleccionada de la extensión gruesa.
5. Suba la platina mecánica hasta que el objetivo toque ligeramente el aceite de inmersión.
6. Utilizando el ajuste fino, enfoque los elementos celulares y confirme que esa parte de la extensión es aceptable para un examen rutinario: 15 a 20 glóbulos blancos por campo de extensión gruesa proporcionarán un grosor satisfactorio de la extensión. Las extensiones con menos glóbulos blancos por campo necesitarán un examen más extenso.
7. Comenzando por la marca X que aparece en el diagrama siguiente, examine cuidadosamente la extensión, campo por campo, pasando de un campo al contiguo como se muestra en el diagrama. Para que el examen sea eficiente, enfoque y reenfoque continuamente con el ajuste fino durante el examen de cada campo.



8. El número de campos que hay que examinar sistemáticamente antes de que la preparación se pueda dar por negativa varía según el programa. El facilitador describirá el sistema y la norma existente en su país. El examen rutinario de una extensión gruesa incluye 100 campos de buena calidad; es decir, una preparación solo se considerará negativa una vez que se hayan examinado atentamente 100 campos en busca de parásitos. Si se encuentran parásitos pero el diagnóstico de la especie no está claro, se recomienda examinar otros 100 campos para identificar una posible infección mixta.

Nota: El examen de 100 campos microscópicos con inmersión en aceite tarda aproximadamente 10 minutos.

9. Si la preparación es positiva y se ha identificado la especie, determine la densidad de parásitos (véase más adelante), siempre que dicha determinación forme parte de su examen rutinario.
10. Termine el examen registrando los resultados que haya obtenido en el formulario (o formularios) apropiados.
11. Elimine el aceite de inmersión de la preparación, sirviéndose para ello del método que se utilice en su programa, y guarde la preparación en una caja de portaobjetos cubierta para que pueda reexaminarse más adelante.

Registre lo que vea

Diferentes programas y diferentes personas registran los resultados del examen de las extensiones gruesas de distintas maneras. Lamentablemente no hay una forma normalizada de hacerlo, lo cual puede crear malentendidos y confusión. Cuando se utilicen registros informatizados, la brevedad es fundamental, y las abreviaciones utilizadas pueden ser inusuales. A continuación figuran algunas de las abreviaciones más utilizadas en el examen microscópico, pero su programa puede tener sus propias abreviaciones.

Positivo para plasmodios:	PP positivo, PP
Negativo para plasmodios:	PP negativo, PP neg
Positivo para <i>P. falciparum</i> :	Pf, PF, Pfal, F
Positivo para gametocitos de <i>P. falciparum</i> :	Pfg, PFG, FG
Positivo para <i>P. vivax</i> :	Pv, PV, V
Positivo para <i>P. malariae</i> :	Pm, PM, M
Positivo para <i>P. ovale</i> :	Po, PO, O

Cualesquiera que sean las abreviaciones que se le haya aconsejado utilizar, úselas de forma sistemática, es decir, siempre las mismas.

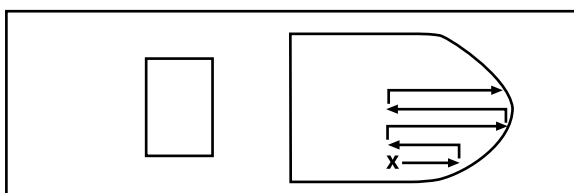
Examen de la extensión fina

Las extensiones finas no se examinan de forma sistemática para establecer el diagnóstico del paludismo en un paciente. El examen de la extensión fina se recomienda cuando la extensión gruesa es demasiado pequeña, se perdió durante la tinción, se autofijó o no es examinable por cualquier otro motivo. También se pueden examinar las extensiones finas cuando la confirmación de la especie en la extensión gruesa resulta difícil o no es segura, y cuando la densidad de parásitos es muy elevada.

Las extensiones finas se examinan con un microscopio normal.

El método:

1. Coloque la preparación en la platina y sitúe el objetivo de inmersión en aceite de 100× sobre el borde de la porción central de la extensión fina, en el lugar marcado con una X en el diagrama que figura a continuación.
2. Coloque una gota de aceite de inmersión en el borde de la porción central de la extensión.
3. Suba la platina mecánica hasta que la lente del objetivo toque el aceite de inmersión, tal como hizo antes.
4. Examine la extensión de sangre siguiendo el movimiento que se muestra en el diagrama: primero desplácese a lo largo del borde de la extensión, después muévala un campo hacia adentro, repita el movimiento lateral, y así sucesivamente.
5. Siga examinando la extensión hasta que haya identificado la presencia de plasmodios y su especie, o hasta que haya observado un mínimo de 800 campos antes de dar la preparación por negativa.



Nota: Para obtener la misma sensibilidad que con 10 minutos de examen de la extensión gruesa en campos de gran aumento (con el objetivo de inmersión en aceite de 100×), en el caso de las extensiones finas tendrá que examinarlas durante un mínimo de 30 minutos.

Recuento de los parásitos

Es necesario conocer la densidad de parásitos de una extensión de sangre positiva porque:

- El clínico necesita conocer la gravedad de la infección.
- El clínico necesita saber cómo está respondiendo la infección al tratamiento.
- Los recuentos de parásitos son importantes en las infecciones por *P. falciparum*, que se consideran siempre potencialmente peligrosas.
- Las autoridades sanitarias distritales deben conocer la gravedad de los casos que se observan en los centros sanitarios de su zona.
- La determinación de la densidad de las infecciones puede ser necesaria para estudios transversales y epidemiológicos, o para estudios especiales, tales como los de monitorización de la eficacia terapéutica de los antipalúdicos.

Por su facilidad y simplicidad, para establecer la densidad de parásitos se recomienda el método siguiente, cuya exactitud es razonable y aceptable. Estos pasos se efectúan solo una vez que se haya completado el examen de la extensión y se hayan identificado las fases de los parásitos y sus especies. El número de parásitos se cuenta en comparación con un número normalizado de glóbulos blancos en la extensión gruesa. Aunque los recuentos más exactos se obtienen cuando se conoce el verdadero recuento de glóbulos blancos del paciente, en las zonas rurales y remotas generalmente no es posible tener esta información. El número de glóbulos blancos utilizado (8000) es arbitrario y existen amplias variaciones interindividuales, pero esta es la cifra aceptada como razonablemente exacta.

Además de los materiales que ya ha venido utilizando, necesitará:

- dos contadores (uno para los parásitos y el otro para los glóbulos blancos), y
- una calculadora electrónica simple.

El método:

1. Con un contador cuente el número de parásitos observados, y con el otro el número de glóbulos blancos, en sucesivos campos de inmersión en aceite.
2. El número de parásitos y de glóbulos blancos contados depende de lo numerosos que sean los parásitos y del tiempo de que disponga para hacer el recuento. Cuanto menor el número de parásitos contados, mayor el número de glóbulos blancos que se deberían contar. Si después de haber contado 200 glóbulos blancos se han encontrado 100 parásitos o más, los resultados deben anotarse en el formulario como número de parásitos por 200 glóbulos blancos. Si después de haber contado 200 glóbulos blancos se han encontrado 99 parásitos o menos, el recuento debe seguir hasta que se hayan contado 500 glóbulos blancos. Algunas parasitemias son tan intensas que se cuentan cientos de parásitos por campo de inmersión en aceite. En estos casos basta contar hasta 100 glóbulos blancos o el número total en aproximadamente cinco campos de inmersión en aceite (suponiendo que hay unos 15 glóbulos blancos por campo en la extensión gruesa).

3. Cuando se haya completado el recuento, se calcula el número de parásitos en relación al de glóbulos blancos, y se expresa como «número de parásitos por microlitro de sangre», utilizando esta fórmula matemática simple:

$$\frac{\text{Número de parásitos contado} \times 8000}{\text{Número de glóbulos blancos}} = \text{Número de parásitos por microlitro}$$

En las infecciones mixtas (dos especies o más) es habitual que se cuenten todos los parásitos asexuales juntos y que el resultado se exprese, por ejemplo, como: *P. falciparum* + *P. vivax* = 23 720/μl (593 parásitos contados frente a 200 glóbulos blancos x 8000). Algunos programas exigen un recuento de gametocitos de *P. falciparum* cuando los haya, y esto puede ser importante en los estudios de la respuesta de los gametocitos a la primaquina. Es posible que su programa le pida que haga esto utilizando un tercer contador.

El sistema «de cruces» es un método antiguo simple, pero menos exacto, para establecer la densidad de parásitos en las extensiones gruesas. Debido a su escasa fiabilidad ya no se recomienda y ha sido sustituido por el método descrito con anterioridad. No obstante, se sigue utilizando en lugares donde no se pueda utilizar el método cuantitativo. Varios estudios han demostrado que muchos trabajadores olvidan los detalles del sistema y mezclan el código (el número de cruces) y el recuento (el número de parásitos por campo o por 100 campos), lo cual genera una información sobre la densidad de parásitos carente de fiabilidad. En este sistema,

- + = 1–10 parásitos por 100 campos de inmersión en aceite de la extensión gruesa
- ++ = 11–100 parásitos por 100 campos de inmersión en aceite de la extensión gruesa
- +++ = 1–10 parásitos en un solo campo de inmersión en aceite de la extensión gruesa
- ++++ = más de 10 parásitos en un solo campo de inmersión en aceite de la extensión gruesa

Lea la unidad didáctica 10 como etapa final para la obtención de su graduación.

Notas

Unidad didáctica 10

Aspectos relacionados con la supervisión del diagnóstico microscópico del paludismo

Objetivos didácticos

Cuando haya terminado esta unidad didáctica, podrá:

- **explicar** la importancia que para su trabajo tiene la supervisión;
- **explicar** de qué formas se supervisará su trabajo, y
- **describir** qué debe aportarle a su supervisor para que pueda supervisar eficazmente su trabajo.

Cuando termine este curso sobre la microscopía con tinción de Giemsa y obtenga su graduación habrá alcanzado los niveles exigidos de eficiencia y competencia. Después trabajará con pacientes que dependerán de sus aptitudes y conocimientos para saber si tienen paludismo o no. Ya sabe que hay poco margen de error cuando están en juego los pacientes, y es por ello que sus niveles de competencia técnica y de exactitud se han fijado en un 80% o más. Tras la graduación es imprescindible que siga manteniendo los niveles alcanzados durante el curso. Para ello, su supervisor controlará periódicamente su trabajo, y seguirá estando disponible para ayudarlo a mejorar sus aptitudes y competencia. Esto se denomina control de la calidad y forma parte de las actividades generales de garantía de la calidad de los servicios de diagnóstico microscópico del paludismo.

Recuerde que la supervisión periódica de su trabajo es necesaria para:

- confirmar que sigue haciendo el trabajo tal como se le enseñó;
- garantizar que se mantienen los altos niveles del servicio que presta su laboratorio a la población y su fiabilidad;
- ayudarlo a que ajuste su trabajo a las instrucciones del supervisor;
- identificar el momento en que podría beneficiarse de un curso más avanzado o de un curso breve de perfeccionamiento;
- ofrecer oportunidades para discutir los problemas locales y resolverlos;
- aportar pruebas de su rendimiento personal, y
- ayudar a identificar al personal apto para una promoción profesional.

Tipos de supervisión

Hay dos tipos de supervisión: directa e indirecta.

Supervisión directa

En la supervisión directa el supervisor estará en contacto con usted, bien a través de visitas o bien durante periodos más largos si ambos trabajan en el mismo lugar. De este modo, el supervisor puede observar lo que usted hace en su trabajo, cómo lo hace, si es necesario que modifique algunas actividades y si tiene usted escasez de suministros o materiales. Esto le ofrece la oportunidad de comentar asuntos importantes que serían difíciles de transmitir por carta, teléfono o correo electrónico. Excepto cuando ambas personas trabajan en el mismo lugar o en lugares muy cercanos, este tipo de supervisión difícilmente se puede llevar a cabo de forma regular, y puede resultar cara, además de exigir mucho tiempo y recursos humanos. No obstante, es importante para evaluar múltiples factores que no son de la competencia del microscopista pero que pueden influir en su desempeño, tales como el estado del equipo, la carga de trabajo o el entorno laboral.

Libro de visitas:

Los establecimientos sanitarios mantienen un registro del personal supervisor o especializado visitante en el que se anotan la fecha, el trabajo o inspección llevados a cabo y otros comentarios que se consideren pertinentes. Se trata de una valiosa ayuda para su trabajo. Recibirá una muestra para que se la lleve, siempre que su laboratorio no disponga ya de una.

Supervisión indirecta

La supervisión indirecta implica la evaluación del trabajo de una persona a partir de datos y otras informaciones presentadas periódicamente. Un dato del mayor interés para los supervisores es el estado de las extensiones de sangre presentadas. ¿Se ajustan a las normas establecidas? ¿Cuál es la exactitud del diagnóstico en comparación con el examen hecho por el supervisor (verificación)? Esta garantía de la calidad es importante para el microscopista y para el programa. Esta actividad está normalizada y se basa en normas internacionalmente aceptadas: para medir su desempeño y el de todos los demás microscopistas del servicio, incluido el propio supervisor, los supervisores siguen una serie de pasos fijos, con normas establecidas.

Con este sistema, los supervisores pueden evaluar a distancia las normas, la calidad de sus extensiones (gruesas y finas), la tinción, los resultados de los exámenes de las extensiones gruesas, el diagnóstico de las fases y las especies, y cuando sea necesario, los recuentos de parásitos.

El método de verificación de los resultados de los exámenes de las preparaciones para el diagnóstico del paludismo puede variar ligeramente de un país a otro, pero el resultado general es más o menos el mismo: un 10% de las preparaciones positivas y negativas son reexaminadas por otros microscopistas experimentados que desconocen los resultados que ha obtenido usted. La OMS recomienda que se verifiquen 10 preparaciones al mes y que se seleccionen aleatoriamente cinco preparaciones negativas y cinco positivas con baja densidad de parásitos (20–200 parásitos por microlitro).

La selección aleatoria de las preparaciones sometidas al proceso de verificación no es difícil, pero su elección no queda a cargo del examinador original. El método más común es que a fin de mes se le comuniquen el último dígito de los números de serie de las preparaciones que tiene que seleccionar y enviar para que sean reexaminadas. Por ejemplo, tendrá que seleccionar todas las preparaciones cuyo número de serie acabe en 5. Si falta una preparación terminada en 5, seleccionará la inmediatamente anterior (terminada en 4) o posterior (terminada en 6). Debe envolver las preparaciones en papel blanco, envasarlas y enviarlas al supervisor.

Las preparaciones son reexaminadas de forma enmascarada (sin conocimiento de los resultados previos), y se comparan ambos resultados. Entonces se identifican las posibles diferencias o discrepancias, se corrigen los registros y se informa al examinador original.

Como examinador original, no debe reexaminar usted mismo las preparaciones seleccionadas antes de enviárselas al supervisor para asegurarse de que su diagnóstico original era correcto. Eso sería una práctica profesional inaceptable que se descubriría más pronto que tarde por las correcciones inusuales en los registros del laboratorio o por los retrasos en la presentación de su trabajo.

Este sistema funciona bien cuando usted tiene confianza suficiente para que sus preparaciones sean examinadas por otros, sabiendo que se ha ceñido a los métodos establecidos y que su nivel sigue siendo elevado. Con esta actitud, este tipo de supervisión le resultará de gran apoyo y utilidad.

Sin embargo, este sistema es de escaso valor si el microscopista original no recibe información regular sobre los resultados del nuevo examen de sus preparaciones. Cuando se le devuelve el material puede saber dónde se ha equivocado. El impacto es todavía mayor si el supervisor le puede señalar las discrepancias y explicarle y comentarle el diagnóstico corregido.

Por su importancia, la supervisión y la garantía y el control de la calidad son revisados constantemente, y es posible que su programa introduzca nuevos sistemas. El tutor y el facilitador le informarán sobre el sistema utilizado en la actualidad en su país y cómo se le aplicará a usted.

Está usted a punto de volver a casa.

Ahora está cualificado como microscopista especializado en paludismo y dispone del certificado que lo acredita. Ha dominado un tema difícil, pero ahora se siente un poco nervioso ante la perspectiva de tener que trabajar solo. Sin embargo, no estará solo, puesto que siempre podrá consultar esta Guía del alumno y los demás materiales que ha recibido, que seguirán siendo de gran ayuda en su trabajo diario.

Recuerde, su trabajo es importante para el bienestar de los pacientes, quienes dependen de que usted posea un alto nivel de competencia.

Su supervisor podrá estar muy lejos, pero infórmelo siempre lo antes posible de cualquier problema que pueda tener.

Los supervisores están para ayudar a resolver las dificultades que puedan surgir, pero no podrán ayudarlo si no tienen conocimiento de ellas.

Notas

Lecturas complementarias

Diagnóstico de la malaria.

López Antuñano FJ, Schmunis G, eds.
Washington, DC, Organización Panamericana de la Salud, 1990.
(Publicaciones científicas de la OPS, N.º 512).

Manual de bioseguridad en el laboratorio.

3ª ed. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2006.

Malaria Microscopy Quality Assurance Manual.

World Health Organization, Regional Office for the Western Pacific, 2009.

Malaria: principles and practice of malariology. Vol. 1. Vol. 2.

Wernsdorfer WH, McGregor I, eds.
Edinburgh, Churchill Livingstone, 1988.

Medios auxiliares para el diagnóstico - Microscópico del paludismo.

Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2010.

Los microscopistas son imprescindibles para los programas de lucha contra el paludismo, y de sus aptitudes técnicas y diagnósticas dependen tanto los servicios curativos como la vigilancia de la enfermedad. Por consiguiente, se necesita una formación sólida en materia de diagnóstico microscópico del paludismo, acorde con los altos niveles exigidos hoy día. Este módulo de formación ha sido adaptado a los cambios que han sufrido el diagnóstico y el tratamiento del paludismo. El manual se divide en dos partes: una guía del alumno (Parte I) y una guía del instructor (Parte II). El módulo incluye un CD-ROM preparado por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América que contiene microfotografías de diferentes especies de plasmodios, así como información técnica en formato PowerPoint que se puede presentar durante las sesiones de formación y a la que pueden acudir los participantes. Se presta especial atención a la enseñanza y el aprendizaje, y en particular a la monitorización y evaluación de las personas y los grupos durante la formación.

La guía del alumno (*Bases del diagnóstico microscópico del paludismo, Parte I*) ayudará a los participantes en el curso sobre el diagnóstico microscópico del paludismo humano. Diseñada como la base para una formación formal de 4 a 5 semanas de duración, la guía se destina a participantes con conocimientos científicos muy elementales.

ISBN 978 92 4 350782 4

