



# Método de flotación con sulfato de zinc de densidad 1.18 o 1.20.

Método de concentración de heces por flotación.

Rina G. de Kaminsky



#### Métodos de concentración

- Cuando el examen directo de heces resulta negativo, se puede recurrir a métodos de concentración, que aumentan probabilidad de un diagnóstico positivo.
- La concentración puede ser por flotación o por sedimentación.



#### Concentración por Flotación

 El principio de este método consiste en usar líquido de más alta densidad que los elementos buscados. Elementos menos densos flotarán a la superficie.



#### Flotación con SO4Zn D= 1.18

- Entre los métodos de flotación, el de sulfato de zinc es ampliamente conocido y como todo método, tiene ventajas y desventajas.
- No se aconseja utilizarlo para recobrar huevos pesados como los de tremátodos o céstodos.

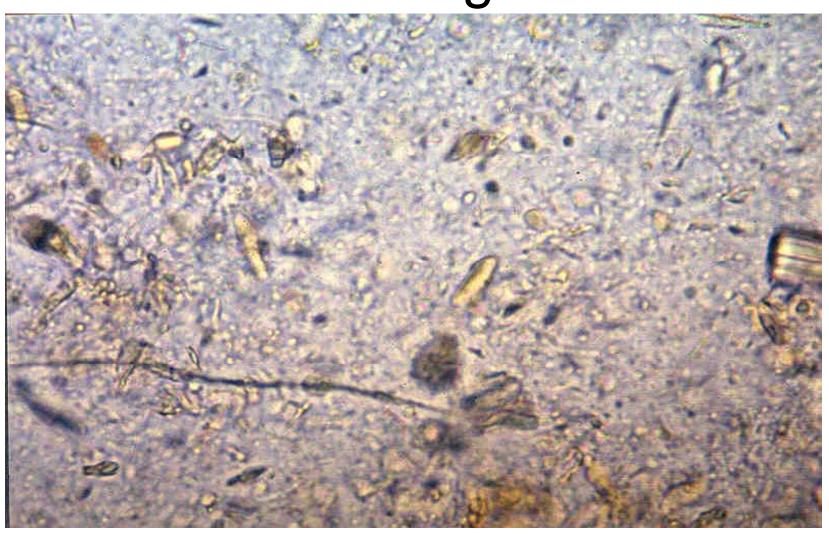


#### Control de calidad del método

- Al probar un nuevo método en el laboratorio, es siempre recomendable comparar la muestra con una ya conocida.
- Para ello tener a mano muestras de heces positivas por huevos de nemátodos y/o quistes de protozoos y ejecutar el método con controles positivos y pacientes.



# Utilidad: examen directo de heces negativo





# Fundamento: recoger elementos parasíticos del sobrenadante



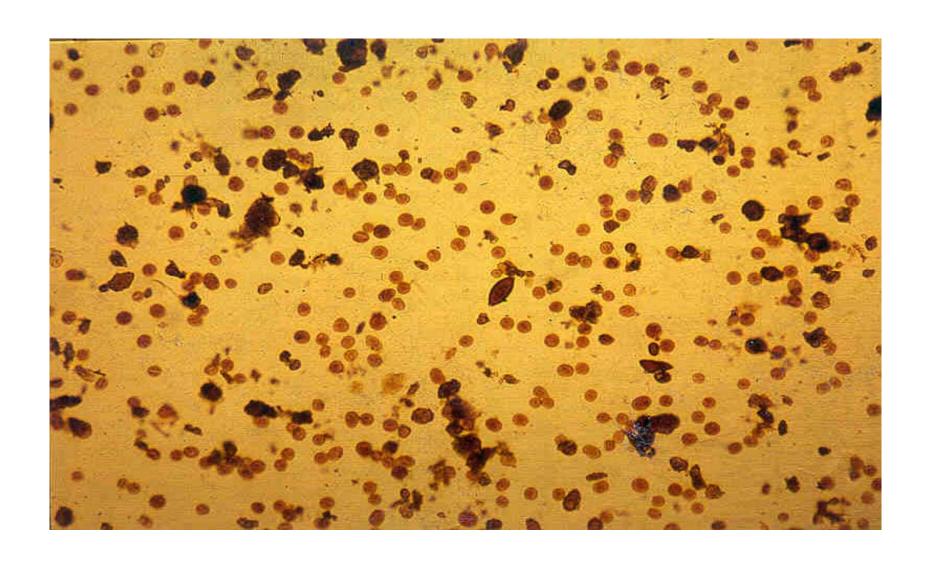


#### Ventajas

 Los elementos diagnósticos se recobran libres de detritus, lo cual facilita y acelera el tiempo de examinar la lámina.



### Ejemplo de flotación exitosa





### Huevos de helmintos y quistes de protozoos libres de sucio





#### Otros elementos

- Las larvas de Strongyloides stercoralis en ocasiones también se recobran del sobrenadante.
- Tiene la desventaja de que la densidad de la solución encoge y deforma las larvas en poco tiempo.
- Para recobrar larvas específicamente, consultar método de Baermann o de migración en agar.



# Larvas de *Strongyloides* sin detritus en exceso





### Preparación del método. Materiales

- Solución de SO4Zn densidad 1.18
- Gradilla con tubos de ensayo
- Centrífuga
- Porta objetos 3 x 2 pulgadas
- Cubre objetos 22 x 22 mm
- Solución de Lugol
- Gasa



#### Materiales cont...

- Embudos
- Agua destilada
- Vasos de plástico o cartón
- Aplicadores
- Asa de 5 mm de diámetro
- Mechero

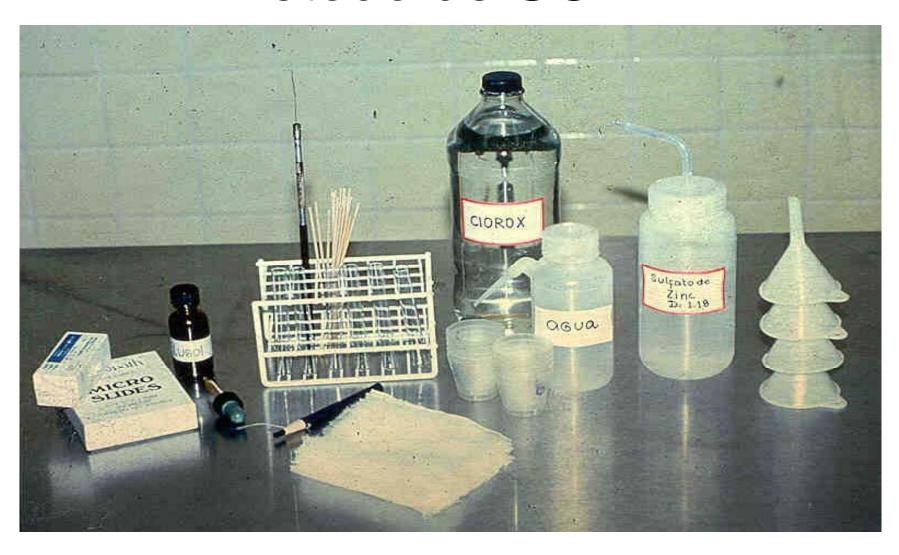


#### Uso de guantes

- Algunas personas gustan de utilizar guantes.
- Ofrecen una "protección" falsa si no se utilizan en forma adecuada.
- La autora prefiere lavado de manos cuantas veces sea necesario....
- O cambio de guantes cuantas veces sea necesario.



# Materiales necesarios al método de SO4Zn





Preparación de la solución de sulfato de zinc de densidad 1.18.

Cuando las heces se han fijado previamente, se recomienda una densidad de 1.20.



### Solución de sulfato de zinc densidad 1.18

- Balanza de dos platos
- Probeta de 1,000 mL capacidad
- Sal de sulfato de zinc
- Platos para pesar
- Erlen Meyer de 1,000 mL capacidad
- Varilla de vidrio
- Hidrómetro

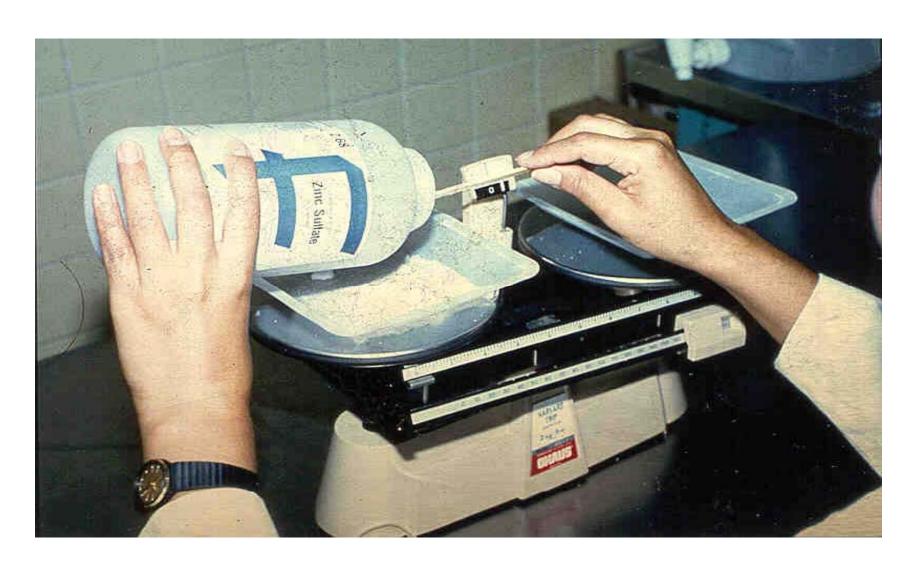


# Materiales para preparar solución de sulfato de zinc 1.18



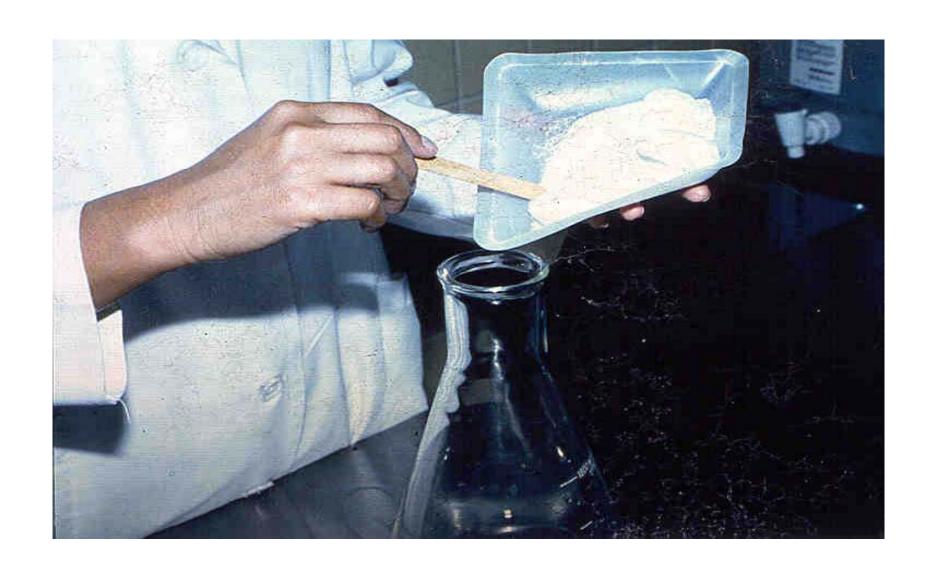


### Pesar 330 gramos de SO4Zn



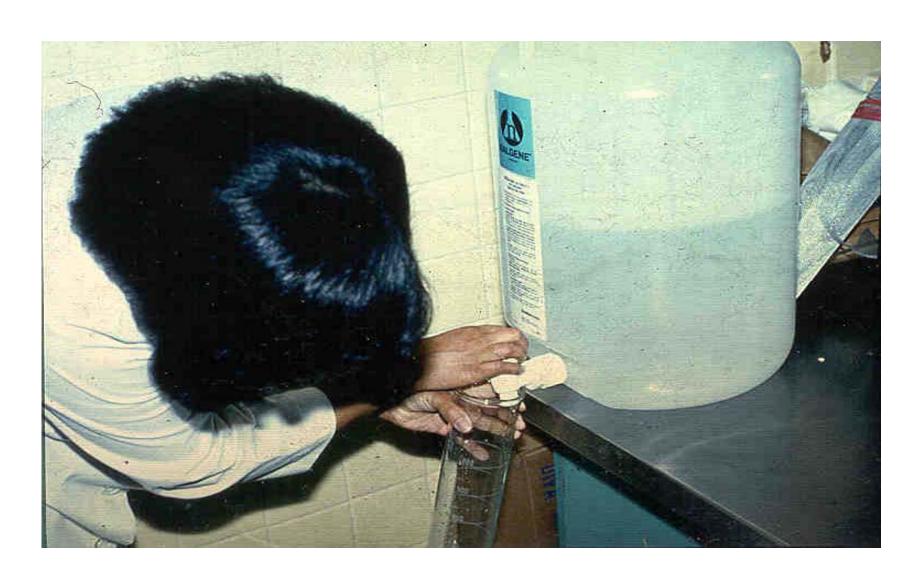


### Colocar en Erlen Meyer



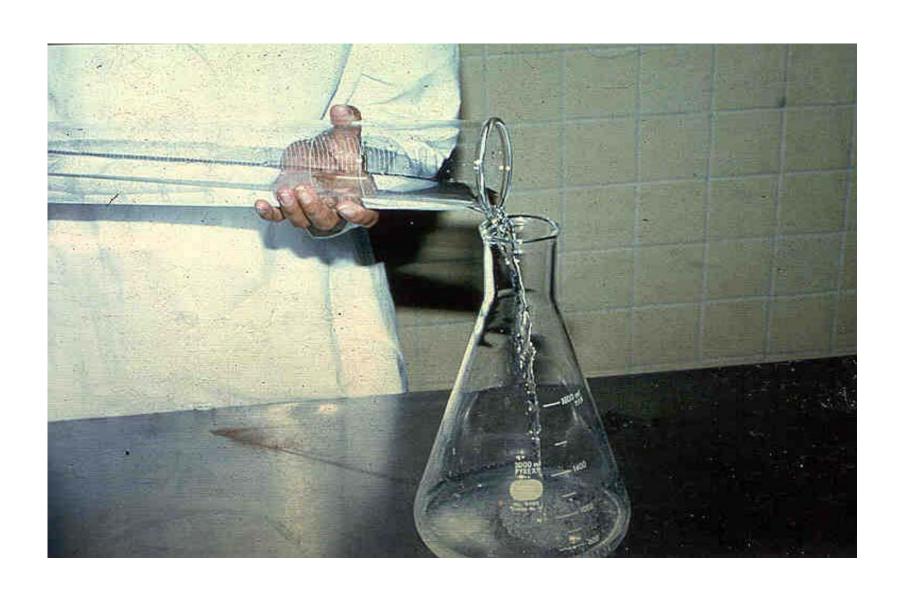


### Medir 700 mL de agua destilada



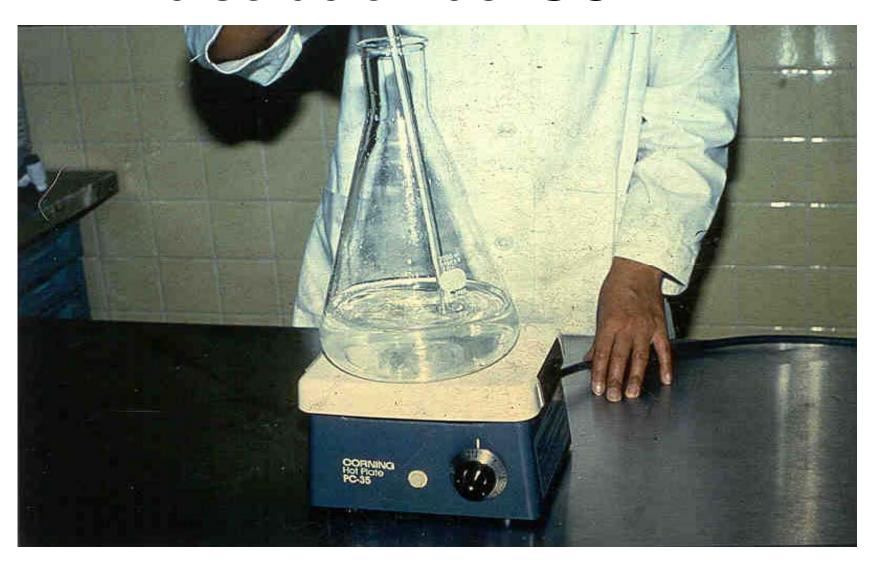


### Verter y disolver SO4Zn





# Calentar para facilitar la disolución del SO4Zn



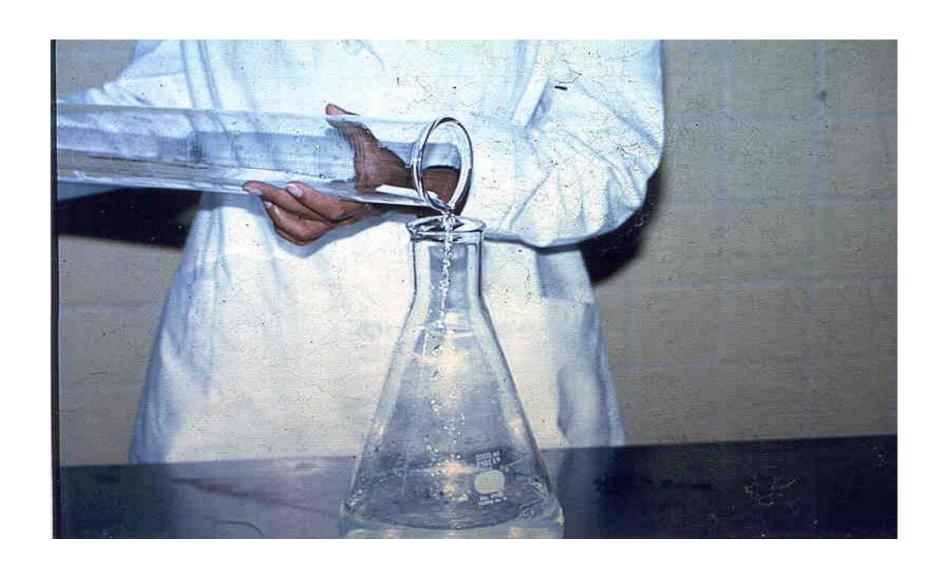


#### Preparando solución de sulfato

 Cuando la sal de sulfato se ha diluido completamente, adicionar 250 mL de agua destilada y mezclar <u>muy bien</u>. Volúmen total 950 mL.



### Adicionar 250 mL agua a SO4Zn





# Verter solución de SO4Zn en cilindro de 1,000 mL





#### Medir densidad sol. SO4Zn

- El hidrómnetro debe flotar libre, sin tocar las paredes del cilindro. La densidad debe leer 1.18.
- Para heces fijadas previamente, se recomienda utilizar solución de densidad 1.20.



#### Hidrómetro marca 1.20





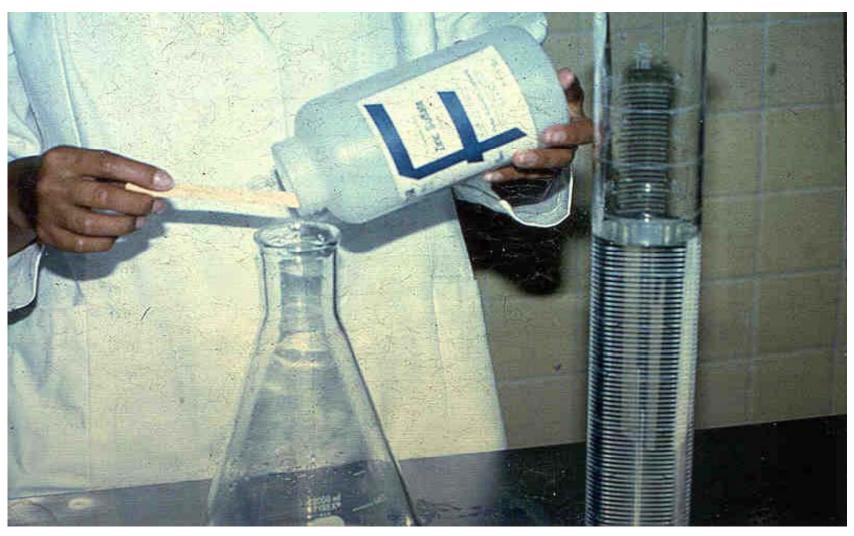
#### Ajuste de densidad

 Si la densidad resultó de 1.15, agregar un poco más de sulfato de zinc.

 Si la densidad resultó 1.28, agregar un poco más de agua destilada.



# Agregar más SO4Zn o más agua según lectura





# Medir de nuevo a la densidad deseada



#### Guardar en frasco rotulado





# Ejecución del método de flotación con sulfato de zinc de densidad 1.18.

El procedimiento es el mismo cuando la muestra de heces ha sido fijada previamente.



#### Pasos del método

- 1. Filtrado y lavado de heces.
- 2. Flotación con sulfato de zinc.
- 3. Recuperación del flotante.
- 4. Observación al microscopio.



### Ejecución



### Rotular vasitos y tubos de ensayo con muestras

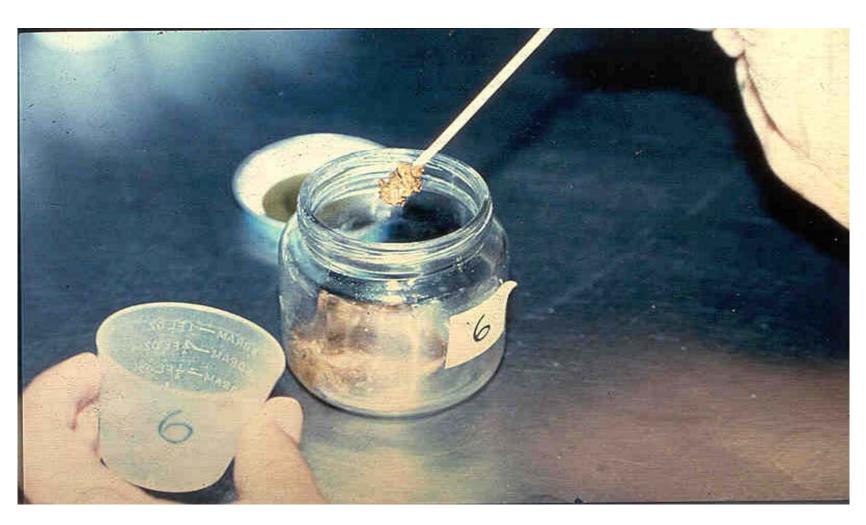




#### 1. Filtrado y lavado de heces

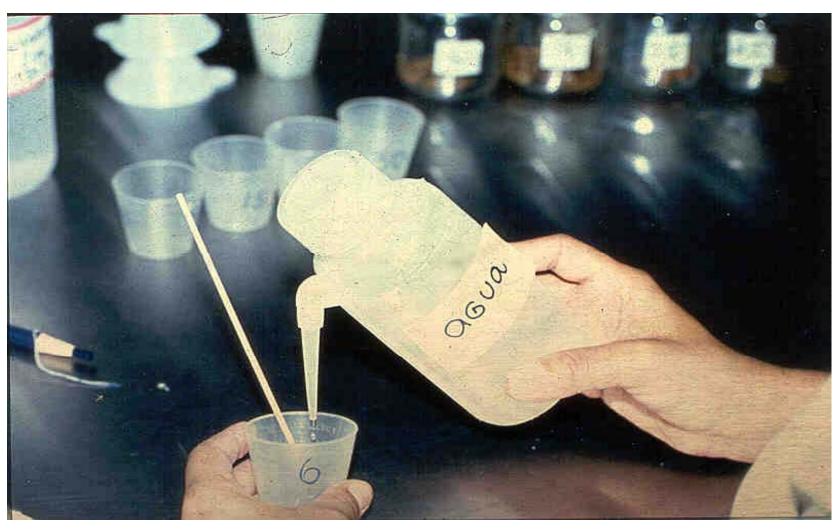


### Muestra de heces a vasito para primer lavado





### Agregar agua y mezclar para suspensión





# Filtrar por gasa en 4 dobleces a tubo de ensayo





# Agregar más agua y mezclar muy bien





#### Equilibrar tubos

- Antes de centrifugar, necesita equilibrar tubos.
- Para ello utilice la balanza de dos platos, adicionando agua donde necesario.

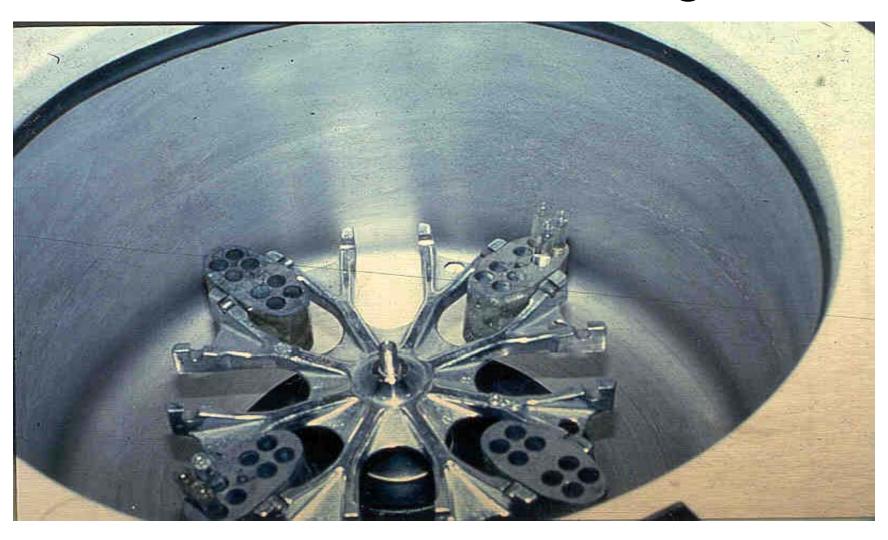


# Equilibrar tubos previo centrifugado





# Colocar tubos equilibrados dentro de la centrífuga



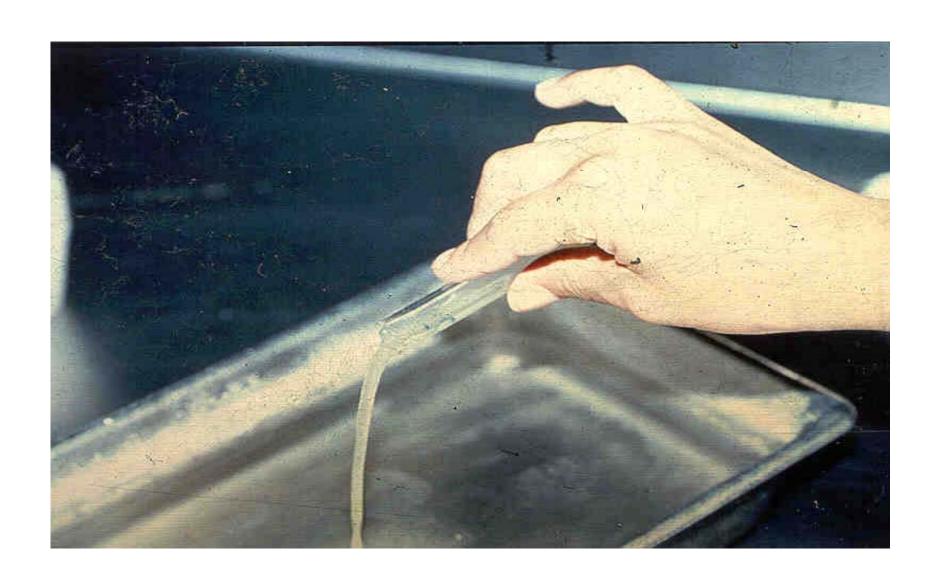


### Centrifugar a 2,500 rpm X 1 min





#### Descartar sobrenadante

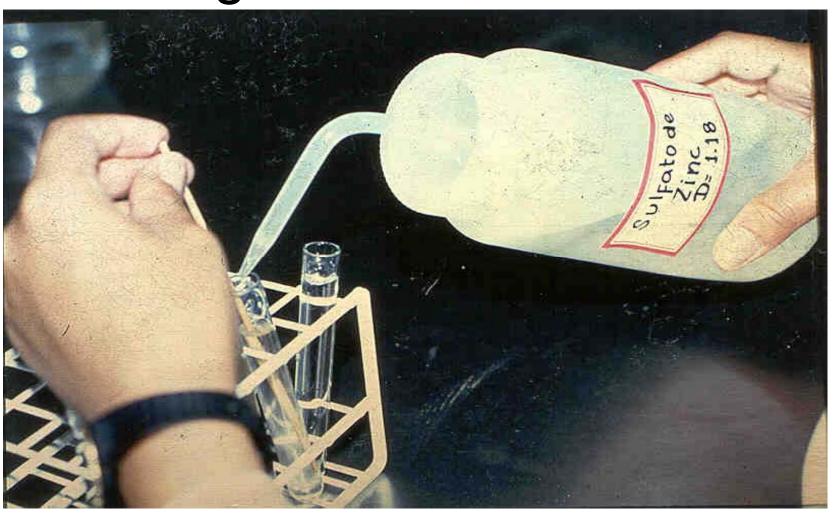




#### 2. Flotación en sulfato de zinc

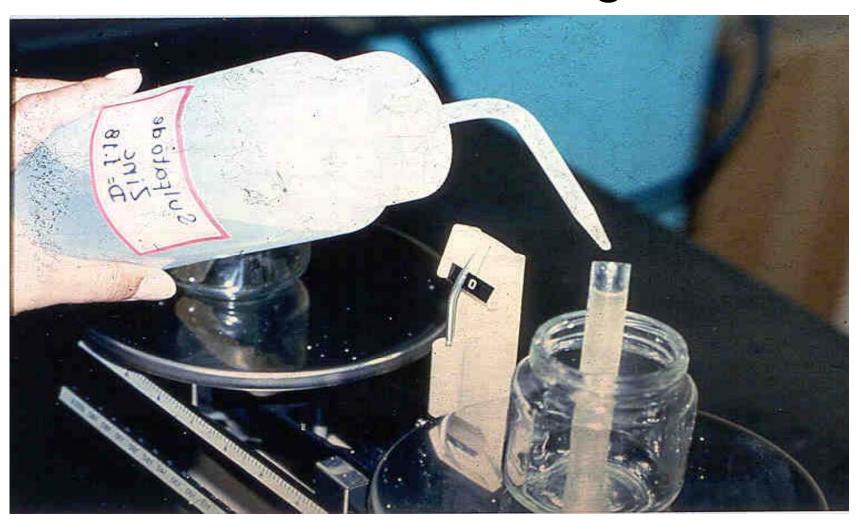


### Agregar SO4Zn al sedimento y agitar fuertemente





### Equilibrar tubos con SO4Zn antes de centrifugar



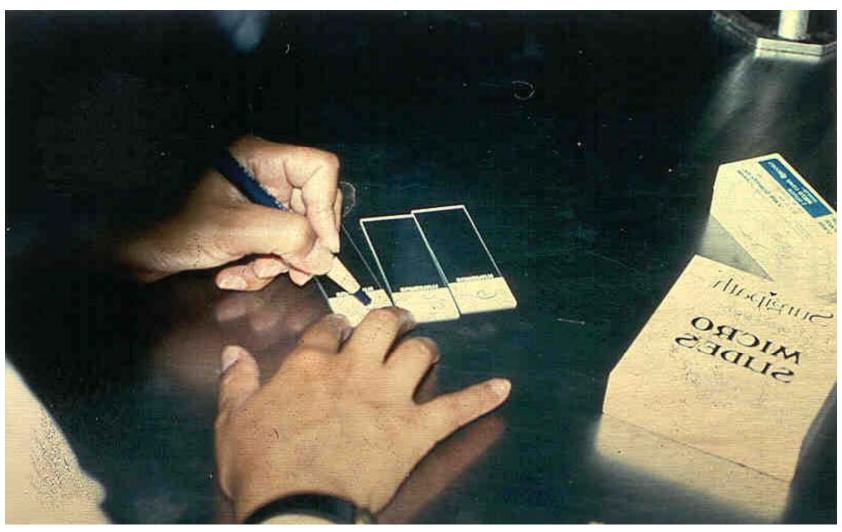


### Centrifugar a 2,500 rpm X 1 min





## Mientras centrifuga rotular porta-objetos





#### 3. Recuperar flotante

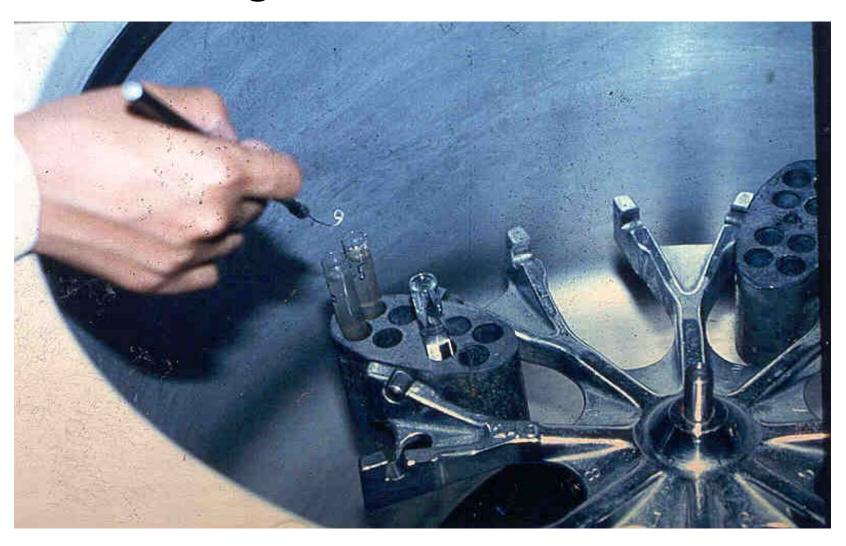


#### Precauciones

- Al completar el centrifugado, abra la tapa de la centrífuga con cuidado y sin tocar ni agitar los tubos.
- Asegurar que el asa esté esterilizada y libre de residuos de flotaciones anteriores.
- Para ello flamear previamente en el mechero.

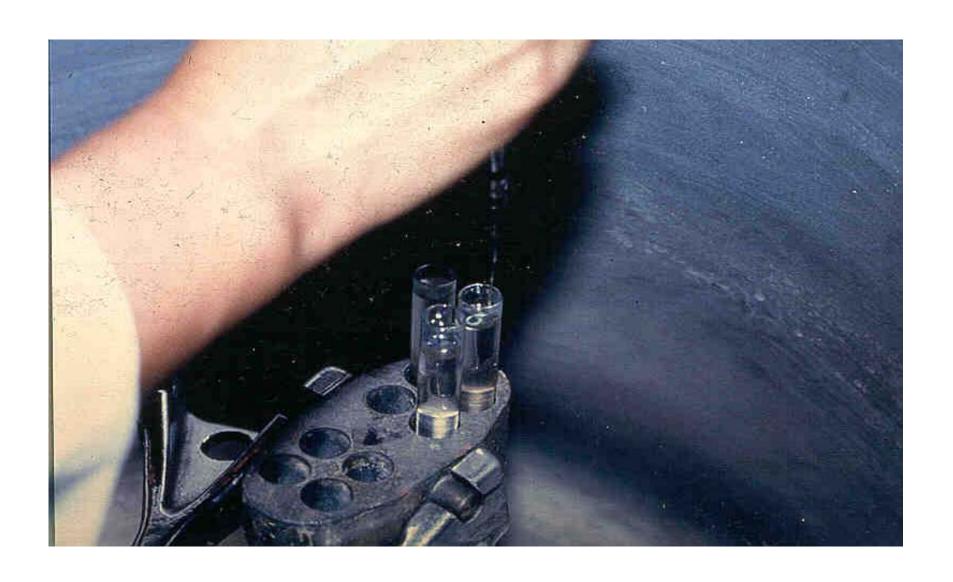


# Asa de 5mm de diámetro para recoger sobrenadante



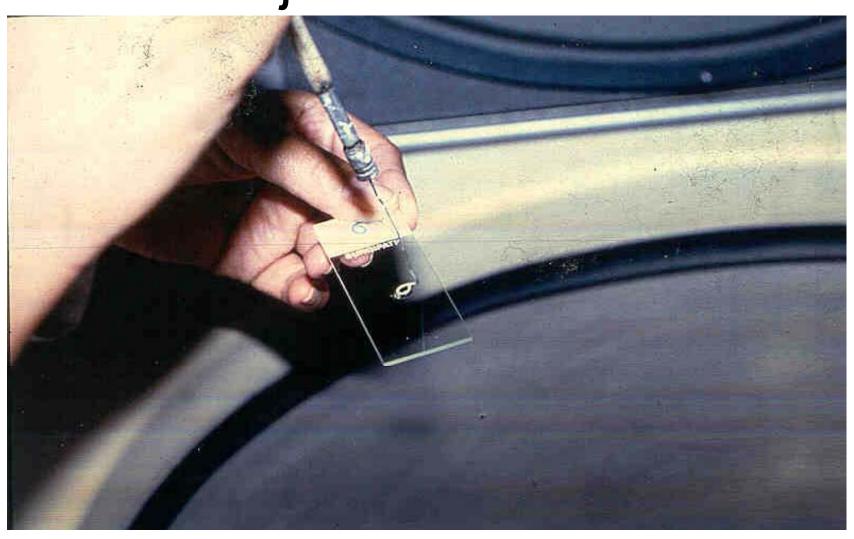


### Recogiendo película flotante





### Colocar muestra sobre portaobjetos rotulado



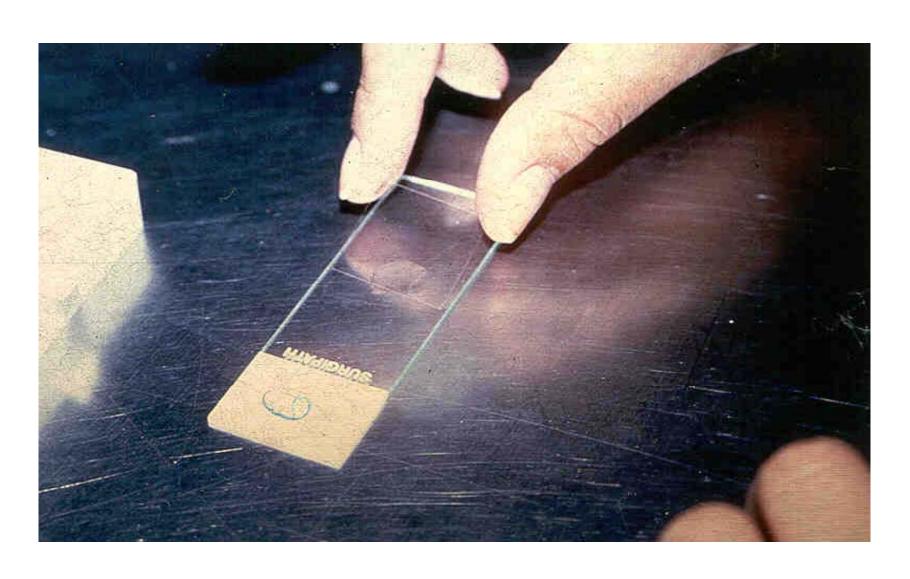


#### Sobrenadante

- Esta operación puede repetirse 2-3 veces para asegurar buena muestra.
- Si desea, se puede agregar de antemano una gota de solución de Lugol para colorear quistes de protozoos.



### Cubrir con cubreobjetos

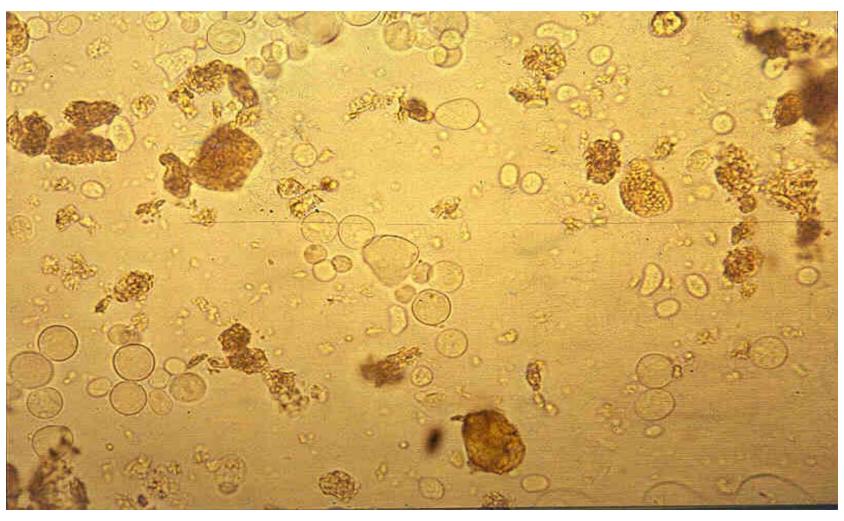




#### 4. Observación al microscopio



## Quistes de protozoos y algunos detritus





# Huevos de helmintos y quistes de protozoos

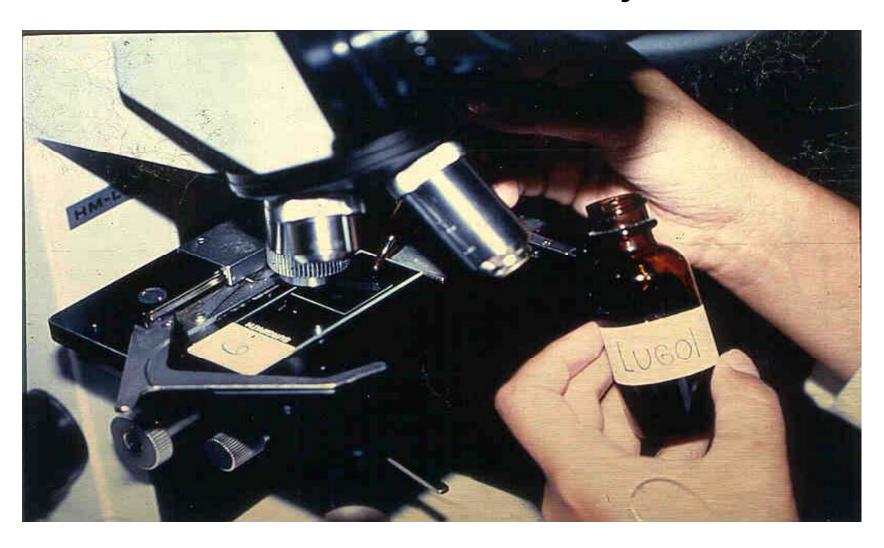




Para colorear temporalmente los quistes y observar el detalle de su morfología diferencial, se agrega solución de Lugol, si no lo hizo antes de colocar el sobrenadante.



# Colocar solución de Lugol al borde del cubre-objetos





## Quistes teñidos con solución de Lugol





#### Ejemplo

- Se observan quistes de diferente tamaño con algo en su interior.
- No es posible determinar especie.



### Aumento sin aceite de inmersión



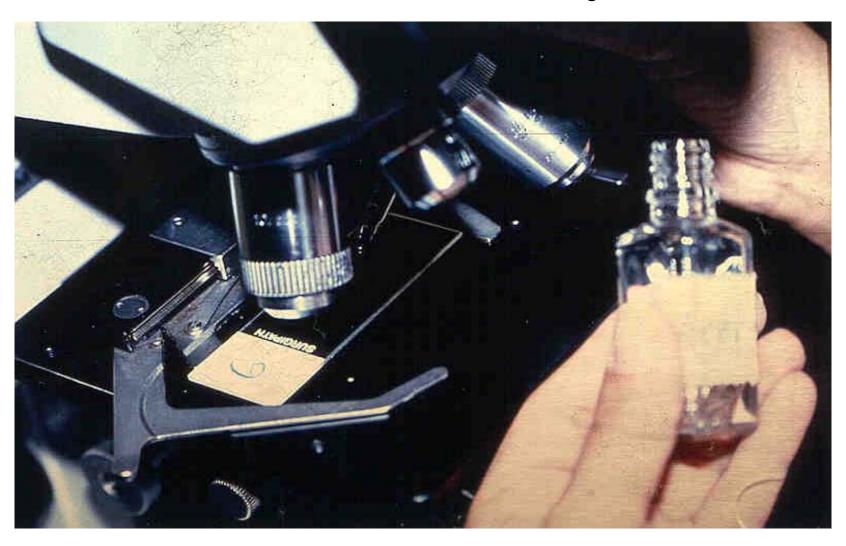


#### Aceite de inmersión

- En el Servicio de Parasitología del Departamento de Laboratorios Clínicos, Hospital-Escuela, Honduras, se acostumbra colocar una gota de aceite de inmersión sobre la preparación coloreada temporalmente.
- Luego se observa con objetivo x100 para lograr ver en detalle la morfología de los quistes más pequeños.



### Agregando aceite de inmersión sobre el cubre-objetos

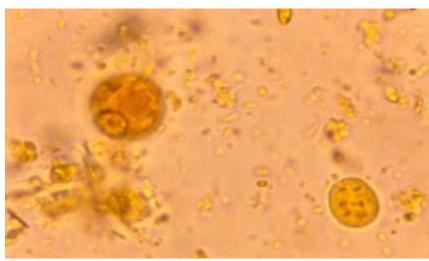




### Ejemplos con aceite de inmersión









#### Desinfección



### Descartar materiales utilizados en solución desinfectante





## Lavado de manos cuantas veces sea necesario





#### Descartar muestras de heces





### Desinfectar mesa de trabajo

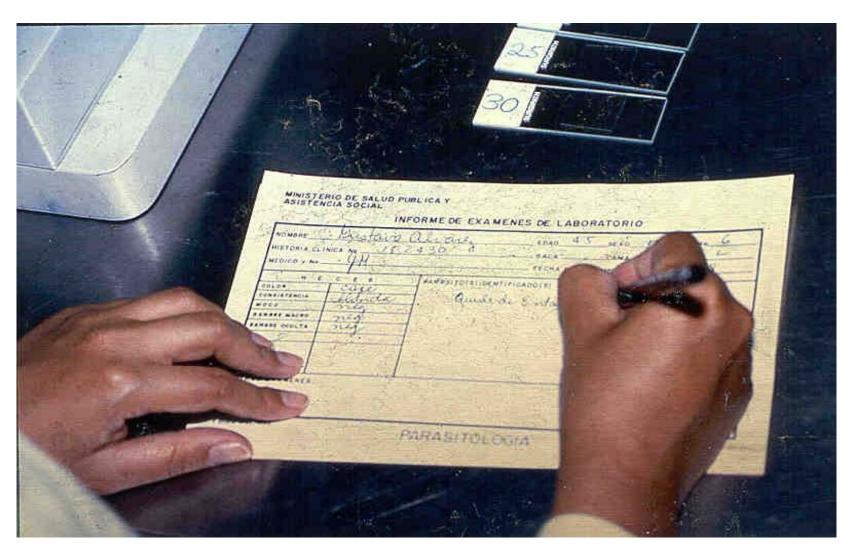




#### Informe de resultados

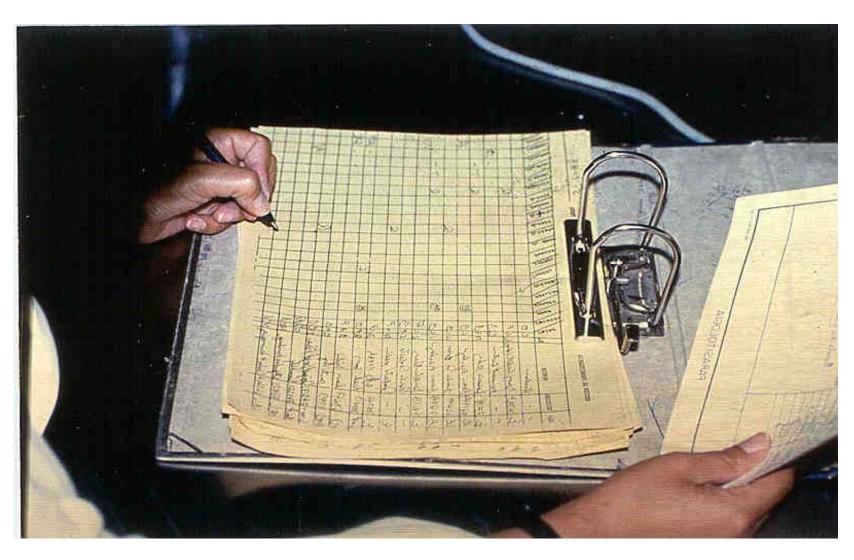


### Completar la boleta de solicitud con los resultados





## Anotar en libro de registro de laboratorio





### Puntos importantes

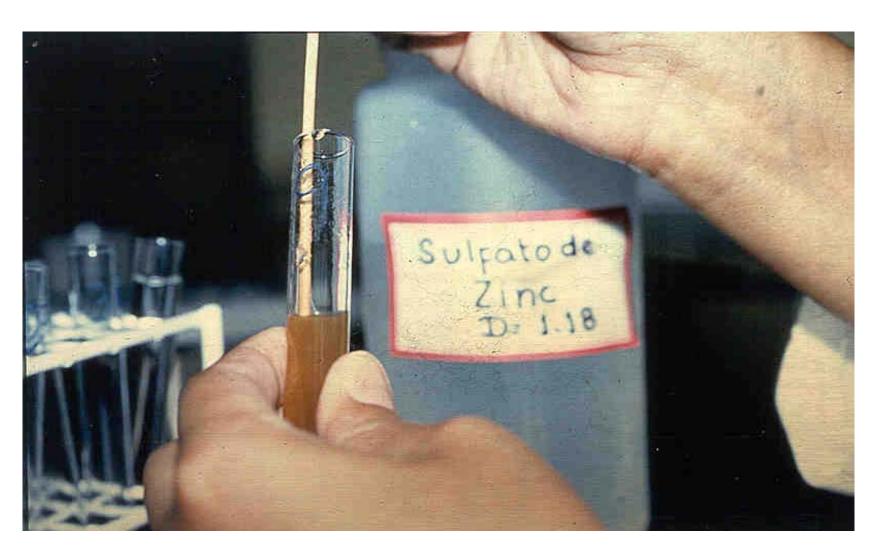


## Asegurar densidad de solución de SO4Zn: 1.18 o 1.20



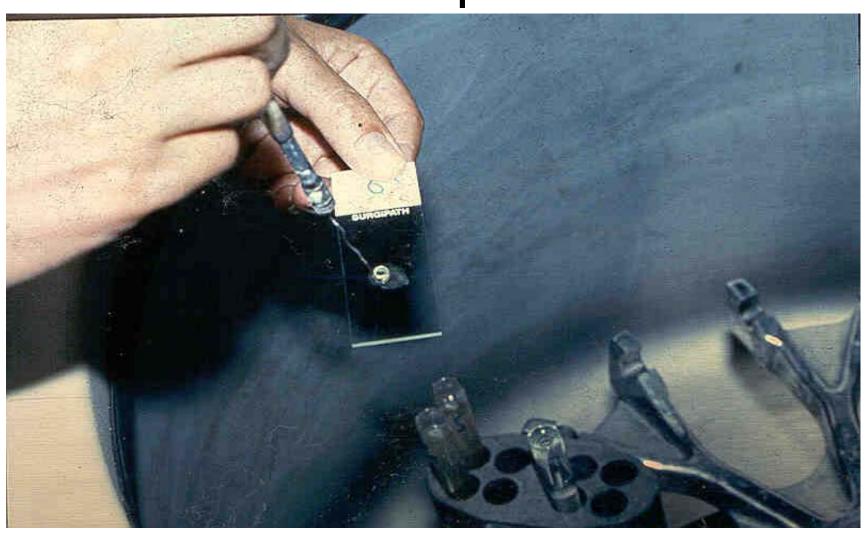


## Mezclar BIEN el sedimento con solución de SO4Zn



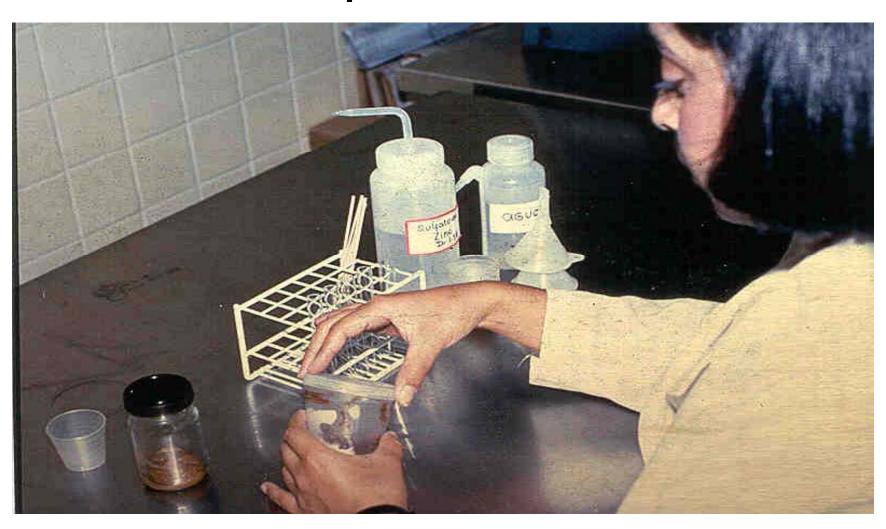


# No tocar tubos hasta terminar operación



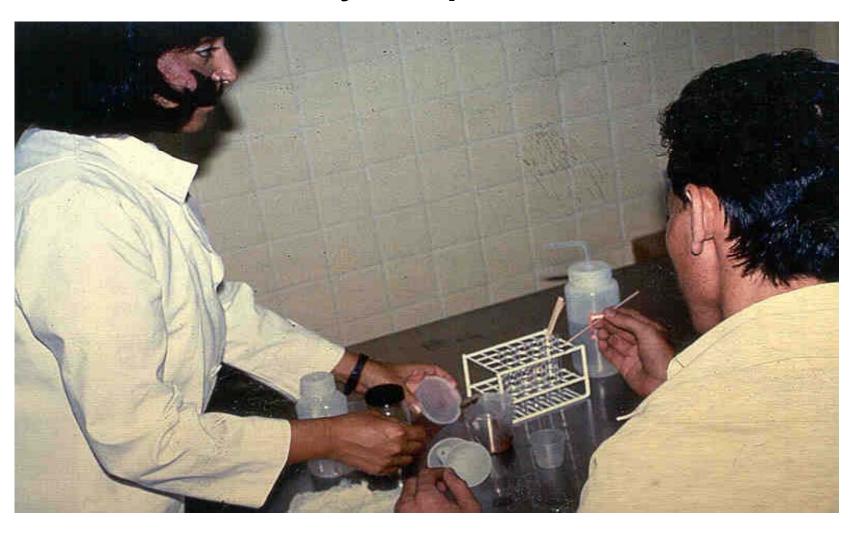


# Probar técnica antes de implementar





# Involucrar al personal con ensayos previos





#### Referencias

 Bartlett MS, Harper K, Smith N, Verbanac P & Smith JW.
 Comparative evaluation of a modified zinc sulfate flotation technique. J Clin Microbiol 1978; 7:524-528.