

DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL *PLASMODIUM* A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALÁRICOS

MET-CNSP-074

Elaborado por : CNSP Blgo. Franklin Jimmy Chirinos Palomino


Revisado por : CNSP Blgo. Carlos Arturo Bartra More

CNSP Blga. Gabriela Salinas Coronel

Aprobado por: CNSP Méd. Luis Alberto Vergara Fernández


RD N° 187 -2016-DG-CNSP/INS

Fecha: 22 / 07 / 2016

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición Nº 01

ÍNDICE

	Pag.
1. CARÁTULA	1
2. ÍNDICE	2
3. ÁMBITO DE APLICACIÓN	3
4. REFERENCIAS	3
5. DEFINICIONES OPERATIVAS	3
6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO	5
7. DESARROLLO DEL MÉTODO DE ENSAYO	5
8. CÁLCULOS	10
9. INFORME DE RESULTADOS	11
10. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	11
11. FORMULARIO	11
12. ANEXO	12

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición N° 01

1. ÁMBITO DE APLICACIÓN

El método descrito se aplica a muestras de sangre provenientes de pacientes con diagnóstico clínico de malaria y se ejecuta en el Laboratorio Supra Nacional de Malaria del Centro Nacional de Salud Pública del Instituto Nacional de Salud.

2. REFERENCIAS


- Norma Técnica de Salud N° 054 – MINSA/DGSP-V.01: “Norma Técnica de Salud para la Atención de la malaria y malaria grave en el Perú”. Lima N° 076-2007/MINSA.
- Organización Mundial de la Salud. Malaria microscopy quality assurance manual. 2015; Versión 2. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. p. 122.
- Organización Mundial de la Salud. MALARIA MICROSCOPY Basic Part I. Learner’s guide. 2010. Segunda edición. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. p. 82.
- Organización Mundial de la Salud. Manual para el diagnóstico microscópico de la malaria. 4ta. Edición. Ginebra: OMS; 1975. Publicación Científica N° 276. p. 1 -105.
- OPS. 2010. Programa de evaluación externa del desempeño para el diagnóstico microscópico de malaria. USAID/OPS No 527 A-00-08-00026-00.
- Ricardo R. 2009. Eficacia de una prueba diagnóstica: parámetros utilizados en el estudio de un test.
- Serie de Normas Técnicas N° 18 Bioseguridad en Laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud – Lima 2005.
- Serie de Normas Técnicas N° 39. Manual de Procedimientos de Laboratorio para el Diagnóstico de Malaria – 2003.

3. DEFINICIONES OPERATIVAS

Bioseguridad: Conjunto de medidas preventivas para proteger la salud, seguridad humana y del medio ambiente frente a los diferentes riesgos producidos por agentes biológicos, físicos, químicos o mecánicos.

Buffer: Tampón químico, sistema constituido por un ácido débil y su base conjugada o por una base y su ácido conjugado que tiene la capacidad de evitar grandes cambios de pH, en una disolución acuosa.

Colorante Giemsa: Compuesto por eosina y azul de metileno, utilizado en la coloración de frotis sanguíneo, cortes histológicos y otro tipo de muestras biológicas.

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición Nº 01

Desinfección: Proceso que busca eliminar la mayoría de microorganismos que causan enfermedades como hongos, virus, bacterias, etc.

Desinfectante: Agente químico utilizado para el proceso de desinfección.

Estadios: Son formas con diferente morfología que presentan las diferentes especies de los *Plasmodium*, en su fase sexual y asexual de su ciclo biológico.

Frotis: Extendido sanguíneo en una lámina portaobjetos, fijada con metanol y coloreada con Giemsa, permite la observación de los glóbulos rojos (hematíes) infectados por *Plasmodium*.

Infección: Invasión y multiplicación de microorganismos en un huésped, pudiendo progresar hacia una enfermedad.

Leucocitos: Los leucocitos son un conjunto heterogéneo de células sanguíneas que son los efectores celulares de la respuesta inmunitaria, interviniendo así en la defensa del organismo contra sustancias extrañas o agentes infecciosos.

Microlitro: Unidad de volumen equivalente a la millonésima parte de un litro, representada por el símbolo μL . También equivale a 1 milímetro cúbico.

Paludismo o Malaria: Enfermedad infecciosa, febril, producida por protozoarios del género *Plasmodium*, que es transmitida por la picadura de mosquitos infectados del género *Anopheles*. La enfermedad se caracteriza por ataques de escalofríos, fiebre y sudoración.


***Plasmodium*:** Género de protozoarios plásmidos que comprende numerosas especies de parásitos de los glóbulos rojos del hombre y de diversos vertebrados. Tienen un alto grado de especialización parasitaria y su ciclo evolutivo es muy complejo. Son los agentes etiológicos del paludismo.

Parásito: Todo organismo que vive a expensas de otro, causándole daño.

Registro: Documento que provee evidencias objetivas de las actividades efectuadas o de los resultados obtenidos.

Solución de trabajo: Solución preparada con 1 mL de buffer y 1 a 2 gotas del colorante stock Giemsa, previamente filtrado.

Solución stock o solución madre: Colorante Giemsa concentrado, en glicerol y metanol.

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición N° 01

4. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El número de parásitos por microlitro de sangre se mide comparando el número de parásitos asexuados con el número de leucocitos en la gota gruesa en base a un recuento medio estimado en cerca de 6000 leucocitos por microlitro de sangre.

Aunque existen variaciones este número nos permite comparaciones razonables, particularmente cuando se comparan densidades de muestras obtenidas sucesivamente del mismo paciente.

5. DESARROLLO DEL MÉTODO DE ENSAYO

5.1 Bioseguridad e infraestructura

La determinación de la densitometría parasitaria en la gota gruesa que realiza el Laboratorio de Malaria corresponde al Nivel de Bioseguridad II. Los procedimientos no requieren de barrera de contención complejas, básicamente el analista deberá usar en todo momento: mandil y guantes.

El material que se utiliza durante los procesos de la muestras para la gota gruesa, no se pueden reciclar, todos los insumos son descartados en un recipiente que contenga desinfectante y tapa para su posterior incineración. Así mismo, se aplica medidas generales de bioseguridad, según el documento Bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos – Manual de Procedimientos – Serie de Normas Técnicas N° 18. 2005. Lima, Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.

5.2 Uso de equipos e instrumentos


Los equipos e instrumentos del Laboratorio de Malaria deben estar inmersos en un programa de mantenimiento y contar con su historial respectivo conforme lo establece el PRT-CNSP-002. Los registros se manejan y conservan en el Laboratorio de Malaria conforme lo establece el PRA-CNSP-006.

5.3 Manejo de materiales e insumos

Los materiales e insumos a ser usados en el Laboratorio de Malaria deben ser registrados, controlados y manejados según lo establece el PRA-CNSP-014 y el ITA-CNSP-006. Los registros se manejan y conservan en el Laboratorio de Malaria conforme lo establece el PRA-CNSP-006.

5.4 Pre – análisis

La fase pre - analítica desde la recepción de la muestra en el INS hasta la recepción de la misma en el Laboratorio de Malaria se lleva a cabo conforme lo establece el PRT-CNSP-001 y el ITT-CNSP-083.

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición N° 01

Los registros se manejan y conservan en el Laboratorio de Malaria conforme lo establece el PRA-CNSP-006.

La conservación de muestras antes del análisis: Las muestras recepcionadas se podrán conservar por un determinado tiempo antes de su procesamiento, este tiempo está incluido en el plazo establecido en el Catálogo de Servicios, para la emisión de resultados. La manipulación y conservación de muestras en el laboratorio de Malaria se hace según lo establecido en el PRT-CNSP-006.

5.5 Análisis


5.5.1 Condiciones ambientales para la gota gruesa: El procedimiento de la densitometría parasitaria se realiza en condiciones ambientales.

5.5.2 Equipos requeridos en el método de gota gruesa:

- Microscopio
- Cronómetro de tiempo
- Balanza analítica
- Potenciómetro
- Agitador magnético
- Contadores manuales de 4 dígitos o contador hematológicos

5.5.3 Insumo y materiales requeridos en el método de gota gruesa:

- Colorante Giemsa
- Metanol
- Glicerina
- Agua destilada
- Fosfato dibásico de sodio (Na_2HPO_4)
- Fosfato monopotásico (KH_2PO_4)
- Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N
- Solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N
- Pastillas buffer pH 7.2
- Aceite de inmersión
- Alcohol etílico
- Perlas de vidrio
- Frascos tapa rosca color ámbar
- Papel filtro Watman N°2
- Lancetas automáticas
- Papel limpia lente
- Pipetas de transferencia descartables
- Papel Film
- Láminas portaobjetos
- Probeta de 10 mL
- Embudo

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición Nº 01

- v. Vaso de precipitados
- w. Tablero ranurado de acrílico
- x. Bandeja de plástico para coloración invertida
- y. Lápiz
- z. Algodón
- aa. Bolsas de bioseguridad
- bb. Varillas de vidrio
- cc. Papel aluminio

5.5.4 Preparación de materiales y reactivos

Preparación del colorante Giemsa: La preparación del colorante Giemsa se realiza según el Anexo 01; además, se llena la información de la preparación del colorante Giemsa en el FOR-CNSP-223: Preparación de la solución stock de Giemsa (Giemsa madre), y del uso del colorante en el FOR-CNSP-224: Uso del colorante Giemsa stock.

Preparación del buffer fosfato (ver anexo A 02).


5.5.5 Procedimiento

Procedimiento para realizar la gota gruesa en la cual se realizara la densitometría parasitaria.

- a. Elegir el dedo medio de la mano que menos use el paciente.
- b. Limpiar la zona de punción con algodón humedecido en alcohol.
- c. Ejecutar la punción con una lanceta automática estéril al paciente.
- d. Limpiar las dos primeras gotas de sangre.
- e. Colectar la tercera gota de sangre en la lámina portaobjetos limpia en una cantidad aproximada de 6-7 μL para la gota gruesa y de 3-3.5 μL para el frotis.
- f. Con la ayuda de una lámina portaobjetos, realizar sobre la gota de sangre movimientos circulares de dentro hacia afuera y de afuera hacia dentro.
- g. Realizar el frotis de sangre a partir de la mitad de la lámina portaobjetos con la ayuda de una lámina extensora o de otra lámina portaobjetos la cual se coloca en un ángulo de 45° sobre la alícuota de sangre, y se procede a realizar el extendido cuidando de lograr un frotis fino.
- h. Rotular la lámina con el código del establecimiento de salud, seguido del código del paciente (número correlativo de la lámina) y en otra fila inferior la fecha, todo realizado con lápiz en la cabeza del frotis de sangre.

Procedimiento para realizar la coloración de la gota gruesa para realizar la densitometría parasitaria.

- a. Medir el volumen del buffer a pH 7.2 lo suficiente para la cantidad de muestras a colorear (3 mL por muestra).

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición N° 01


- b. Añadir solución stock de Giemsa previamente filtrada con 1 mililitro de buffer a una dilución 1/25, y homogenizar.
- c. Colocar la bandeja para coloración invertida o varilla de vidrio en una superficie plana y nivelada.
- d. Colocar las láminas portaobjetos conteniendo la gota gruesa y frotis boca abajo en la bandeja.
- e. Verter el colorante Giemsa de trabajo haciendo uso de una pipeta de transferencia de plástico por debajo de las láminas portaobjetos; de tal forma, que la presencia de cualquier precipitado del colorante se va al fondo de la bandeja
- f. Dejar colorear por 10 minutos.
- g. Enjuagar las láminas en un vaso de precipitados de preferencia con buffer o agua del caño.
- h. Secar las láminas en posición vertical al ambiente en un tablero ranurado de acrílico.

Observación microscópica.

- a. Colocar la lámina portaobjetos en la platina mecánica del microscopio y verificar que esté sostenida firmemente.
- b. Examinar la gota gruesa completa con el objetivo de 10X, para observar la distribución homogénea de la muestra de sangre coloreada en la gota gruesa.
- c. Colocar una gota de aceite de inmersión sobre la zona seleccionada de la gota gruesa y girar el objetivo de 100X hasta ponerlo en posición.
- d. Bajar el objetivo hasta ponerlo en contacto con el aceite de inmersión y enfocar.
- e. Verificar que la parte seleccionada de la lámina cumpla con el parámetro de calidad (leucocitos de 10 a 20 por campo microscópico).
- f. Examinar 100 campos consecutivos. Desplazar la lámina que contiene la muestra de sangre siguiendo el patrón de lado a lado. Recuerde usar el ajuste fino para enfocar, accionando el tornillo micrométrico hacia delante y atrás o arriba hacia abajo, con el fin de observar el mayor número posible de capas sanguíneas.
- g. Se anota el número de parásitos observados y la especie a la que pertenecen (si le fue posible identificarla).

Hacer uso de la observación del frotis (entre la cola y el cuerpo) en las siguientes circunstancias: Cuando no es posible examinar la gota gruesa por alguna razón (Ejemplo: por ser muy pequeña). Cuando no es posible identificar en la gota gruesa la(s) especie(s) de *Plasmodium*.

El aspecto que debe presentar esta preparación de la sangre coloreada con el Giemsa al microscopio debe de cumplir con los parámetros de deshemoglobinizado, tonalidad, calidad y libre de precipitados como se indica en la Norma Técnica de Salud N° 054 – MINSA/DGSP-V.01: “Norma Técnica de

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición N° 01

Salud para la Atención de la malaria y malaria grave en el Perú". Lima N° 076-2007/MINSA.

Determinación de la densitometría parasitaria en la gota gruesa.


- El número de parásitos por microlitro de sangre se mide comparando el número de estadios de los parásitos de *Plasmodium* (asexuados y sexuados) con el número de leucocitos en la gota gruesa en base a un recuento medio estimado en cerca de 6000 leucocitos por microlitro de sangre.
- Enfocando un campo en el centro de la gota gruesa con el objetivo 100X, se comienza a desplazarse en una dirección hasta ubicar el primer estadio del parásito del *Plasmodium*.
- Haciendo uso de dos contadores o de un contador hematológico se procede a realizar el conteo de los estadios (asexuados y sexuados) con los leucocitos que se observen.
- Se continúa con el conteo de los parásitos y leucocitos a través del movimiento de campos consecutivos de lado a lado en la gota gruesa.
- El conteo finalizara según los siguientes criterios:
 - a. Si después de contar un valor numérico mayor o igual a 200 leucocitos (conteo de todos los leucocitos en el último campo observado) y 10 ó más parásitos han sido identificados y contados, anotar los resultados en los formatos de registro en términos de número de parásitos por 200 leucocitos.
 - b. Si después de contar un valor numérico mayor o igual a 200 leucocitos (conteo de todos los leucocitos en el último campo observado) y menos de 10 parásitos han sido identificados y contados, continuar el recuento de leucocitos hasta que el valor sea igual o mayor a 500 leucocitos (conteo de todos los leucocitos en el último campo observado), para luego anotar los resultados en los formatos de registro en términos de número de parásitos por el numero contado de leucocitos.
 - c. En caso de parasitemia alta, se realizar el recuento en función del número de parásitos, donde el valor de los parásitos sea mayor o igual a 500 (conteo de todos los parásitos en el último campo observado) con el número de leucocitos observados. En cada caso, el número relativo de parásitos al número de leucocitos contados puede ser convertido a parásitos por microlitro de sangre usando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{N° de parásitos X 6000}}{\text{N° de leucocitos}} = \text{parásitos} / \mu\text{L}$$

Dónde:

N° de parásitos = Número de parásitos (estadios asexuados y sexuados) contados.

N° de leucocitos = Número de leucocitos (toda la serie blanca sanguínea o glóbulos blancos) contados.

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición N° 01

μL = microlitro

Los valores obtenidos después del cálculo de ser en decimales, se deberán redondear en números enteros. Después de finalizado la observación microscópica, se hace uso del FOR-CNSP-095 "Control de uso de equipos de laboratorio".

6. CÁLCULOS

6.1 Densitometría parasitaria en parásitos por microlitro en la gota gruesa (cuantitativo).

Este recuento cuantitativo es de aplicación obligatoria para los casos en donde se diagnostica *P. falciparum*; pudiendo aplicarse este recuento opcionalmente a las otras especies de *Plasmodium*. Este recuento permite determinar el número de parásitos (asexuados y sexuados) presentes por microlitro de sangre. Asimismo, la constante de 6000 podría ser reemplazado por el valor del recuento de leucocitos del hemograma de conocerse ese dato, resultando así un valor de la densidad parasitaria en parásitos por microlitro mas real en la sangre del paciente.

Cálculos:

Un primer caso donde solo se contó 35 asexuados de *P. falciparum* con 208 leucocitos, el resultado sería:


$$\text{Parásitos} / \mu\text{L} = \frac{35 \times 6000}{208} = 1010 \text{ F}/\mu\text{L}$$

Un segundo caso donde solo se contó 04 sexuados de *P. falciparum* con 510 leucocitos, el resultado sería:

$$\text{Parásitos} / \mu\text{L} = \frac{04 \times 6000}{510} = 47 \text{ Fg}/\mu\text{L}$$

Un tercer caso donde solo se contó 524 asexuados de *P. falciparum* con 41 leucocitos, el resultado sería:

$$\text{Parásitos} / \mu\text{L} = \frac{524 \times 6000}{41} = 76 \text{ 683 F}/\mu\text{L}$$

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición N° 01

7. INFORME DE RESULTADOS

Se realizara el reporte de resultados como sigue:

NEGATIVO; cuando no se observan parásitos de *Plasmodium* en la gota gruesa en 500 campos microscópicos observados.

POSITIVO; cuando se observan parásitos de *Plasmodium* y se realiza su recuento en densidad parasitaria en la gota gruesa, por ejemplo:

1010 F/ μ L

47 Fg/ μ L

76 683 F/ μ L, 47 Fg/ μ L

*Los resultados en densidad parasitaria también deberán ir acompañados de su resultado en cruces.

Finalmente, los resultados serán ingresados en el Sistema NetLab, por el personal responsable.

8. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Muestras negativas; son aquellas muestras de gota gruesa y de frotis en los que no se evidencia la presencia microscópica de parásitos del género *Plasmodium* por lo tanto no se realiza la densitometría parasitaria.

Muestras positivas; son aquellas muestras de gota gruesa en los que se realiza la densitometría parasitaria por la presencia microscópica de parásitos del género de *Plasmodium*.

Control de calidad interno de la densitometría parasitaria

Relectura de láminas: El Jefe del Laboratorio ejecuta la validación del recuento de la densidad parasitaria de los parásitos de *Plasmodium* en la gota gruesa realizado por un analista. Dichos resultados de recuento no deben ser más del ± 50 por ciento de diferencia de ambos recuentos.

9. FORMULARIO

FOR-CNSP-095: "Control de uso de equipos de laboratorio".


FOR-CNSP-223: Preparación de la solución stock de Giemsa (Giemsa madre).

FOR-CNSP-224: Uso del colorante Giemsa stock.

10. ANEXO

Anexo 01: Preparación de la solución madre de Giemsa (solución stock).

Anexo 02: Preparación del buffer fosfato.

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición N° 01

ANEXO 1

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE GIEMSA (SOLUCIÓN STOCK)

Fórmula:

- Colorante Giemsa en polvo, certificado 0,75 g
- Alcohol metílico puro (sin acetona) 65 mL
- Glicerina pura 35 mL

* Cantidades para 100 mL de solución madre de Giemsa.

Procedimiento:


Mezclar el Giemsa en polvo con un poco del metanol puro en un frasco de vidrio color ámbar con 1 g de perlas de vidrio y agitarlo fuertemente en círculos para conseguir una buena disolución del colorante; posteriormente, se va añadiendo poco a poco la glicerina agitando el frasco y finalmente se añade el resto de metanol remanente, se sigue agitando fuertemente, se cierra el frasco con su tapa, se protege la tapa con papel film, se colora su rotulo con toda la información del colorante Giemsa y luego se conserva el frasco con la solución madre Giemsa en un lugar oscuro agitando media hora todos los días por 15 días. Filtrar pequeñas cantidades y evaluar con muestras hemáticas, si los elementos se colorean adecuadamente el colorante está listo para ser filtrado en el papel filtro N° 2 en un embudo hacia un frasco pequeño color ámbar.

Recomendaciones:

El colorante es un elemento de suma importancia para el diagnóstico parasitológico, por lo tanto, debe ser preparado y almacenado con mucho cuidado. Para ello se deben tomar en cuenta las siguientes indicaciones:

- El material de vidrio empleado en su preparación debe estar limpio, seco y sin residuos de detergente.
- El material de vidrio para almacenar la solución "madre" debe igualmente estar limpio y seco.
- Nunca se debe añadir agua a la solución "madre" del colorante porque produce su completo deterioro.
- El frasco de almacenamiento no se debe nunca agitar antes de usar porque suspendería cristales que pudieran encontrarse en el fondo, perjudicando la coloración.

Nunca regrese el colorante no utilizado a las botellas que contengan la solución "madre" por ello es mejor medir las cantidades de acuerdo a la cantidad de muestras.

	MÉTODO DE ENSAYO	MET-CNSP-074
	DENSITOMETRÍA PARASITARIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DEL <i>PLASMODIUM</i> A LOS MEDICAMENTOS ANTIMALARICOS	Edición N° 01

ANEXO 02

PREPARACIÓN DEL BUFFER FOSFATO O SOLUCIÓN TAMPÓN

Fórmula

- Fosfato dibásico de sodio (Na_2HPO_4) 1 g
- Fosfato monopotásico (KH_2PO_4) 0.7 g

Procedimiento

- Disolver la mezcla sales en 1 litro de agua destilada en un agitador magnético.
- Ajustar la solución a pH 7,2 haciendo uso de un potenciómetro y las soluciones de NaOH 0.1 N y HCl 0.1 N
- Serrar el frasco sellar con papel film y colocar su rotulo.

Recomendaciones

- Conservar a baja temperatura.
- Mantener siempre serrado el frasco.

Actualmente existen buffers en tabletas o pastillas a pH 7.2 los cuales se disuelve una pastilla en 1 litro de agua destilada para su uso directo.