

# Guía de Laboratorio

# Microbiología Clínica

Dra. T.M. Renee Orrego Cabanillas

Guía de Laboratorio Microbiología clínica

Material publicado con fines de estudio.

Código: 24UC00739

Huancayo, 2023

De esta edición

© Universidad Continental, Oficina de Gestión Curricular Av. San Carlos 1795,

Huancayo-Perú

Teléfono: (51 64) 481-430 anexo 7361

Correo electrónico: recursosucvirtual@continental.edu.pe

http://www.continental.edu.pe/

Cuidado de edición Fondo Editorial

Diseño y diagramación Fondo Editorial

Todos los derechos reservados.

La *Guía de Trabajo*, recurso educativo editado por la Oficina de Gestión Curricular, puede ser impresa para fines de estudio.

# Contenido

1
3
2
5
7
ś
е
2
)
)

Examen directo para hongos	56
Semana 11: Sesión 2	
Preparación agar Sabouraud. Cultivo para hongos	61
Semana 12: Sesión 2	
Tinción de Wrigt. Reconocimiento de células sanguíneas	66
Cuarta Unidad	72
Enteroparásitos e histoparásitos	
Semana 13: Sesión 2	
Técnica directa en heces. Técnicas para la búsqueda de protozoos	73
Semana 14: Sesión 2	
Técnica directa en heces. Técnica para la búsqueda de helmintos	78
Semana 15: Sesión 2	
Método concentrado de Faust. Reconocimiento de técnicas	para la
búsqueda de parásitos	83
Semana 16: Sesión 2	
Técnica de gota gruesa	88
Referencias	92

# Presentación

La guía práctica de Microbiología Clínica es una herramienta indispensable para el estudio de los microorganismos, dirigida especialmente a estudiantes de Enfermería y a quienes realizan investigación científica.

La guía práctica proporciona procedimientos estandarizados para la manipulación y el análisis de microorganismos. Esto asegura que los resultados obtenidos en diferentes laboratorios sean comparables y reproducibles, lo cual es fundamental para la validez científica y la confiabilidad de los estudios microbiológicos.

La microbiología implica trabajar con organismos potencialmente patógenos, por tanto, la guía práctica incluye protocolos de bioseguridad que ayudan a proteger a los estudiantes de enfermería y al entorno laboral de posibles contaminaciones y accidentes. Esto es crucial para minimizar riesgos y mantener un ambiente de trabajo seguro.

La guía práctica detalla procedimientos específicos para el aislamiento, identificación y caracterización de microorganismos. Esto permite a los estudiantes y profesionales optimizar sus técnicas, mejorando la precisión y eficiencia en sus experimentos y análisis.

Para estudiantes y nuevos investigadores, una guía práctica es una herramienta educativa indispensable. Proporciona una base sólida de conocimientos y habilidades prácticas, facilitando el aprendizaje y la comprensión de conceptos teóricos mediante la aplicación directa en el laboratorio.

La bioseguridad son medidas y prácticas diseñadas para proteger a las personas, los animales, las plantas y el medio ambiente de la exposición a agentes biológicos peligrosos, tomando en cuenta los 3 pilares de la bioseguridad: universalidad, manejo de muestras y barreras de protección.

La morfología bacteriana describe las diferentes formas y estructuras de las bacterias, como cocos, diplococos, estreptococos, estafilococos, tétradas, bacilos, cocobacilos y espirilos. La tinción de *Gram* es la técnica más común para diferenciar entre bacterias *Gram*-positivas y *Gram*-negativas, basada en las características de sus paredes celulares. Otras tinciones, como la de *Ziehl-Neelsen*, se utilizan para identificar bacterias específicas del género Mycobacterium, incluyendo Mycobacterium tuberculosis. La morfología bacteriana es fundamental para su identificación y clasificación, utilizando diversas técnicas y equipos de laboratorio para observarlas.

La preparación de medios de cultivo es esencial en microbiología para el crecimiento y la identificación de microorganismos. Los medios de cultivo se clasifican en líquidos, sólidos y semisólidos, y existen medios específicos para bacterias *Gram*-positivas, *Gram*-negativas, aeróbicas, anaeróbicas, «exigentes», y para hongos, entre otros.

La observación de virus es compleja debido a su pequeño tamaño y requiere técnicas especializadas para visualizarlos, como *ELISA* y la inmunocromatografía. Las células sanguíneas son componentes esenciales de la sangre y desempeñan funciones vitales en el transporte de oxígeno, la defensa contra infecciones y la coagulación.

La parasitología es el conjunto de métodos y procedimientos utilizados para el estudio, identificación y diagnóstico de organismos parasitarios que afectan a humanos, animales y plantas.

Al finalizar la asignatura, cada estudiante será capaz de identificar los instrumentos, y técnicas más adecuadas para evaluar el estado de las personas, reconociendo los resultados de la evaluación psicológica en un caso simulado, transmitiéndolo en un informe con base científica y ética profesional.

Recomendaciones para el estudiante:

- Asiste correctamente uniformados a las prácticas de Microbiología y

- organiza un horario de estudio para la asignatura.
- Utiliza recursos adicionales, libros, videos y recursos en línea para reforzar tu aprendizaje.
- Trabaja en equipos de estudio para discutir conceptos y resolver problemas.
- Si tienes dudas o dificultades, no dudes en acudir al docente para recibir orientación.
- La microbiología es un campo en continuo desarrollo, por lo que es crucial estar al tanto de las investigaciones y descubrimientos más recientes.

Renee Orrego Cabanillas Dra. Tecnólogo Médico

# Primera Unidad

Morfología, metabolismo bacteriano y medidas de bioseguridad

# Semana 1: Sesión 2

# Bioseguridad en el laboratorio de Microbiología

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 1
Nombres v apellida	os:	

# I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante identifica las principales señales y pictogramas de la bioseguridad para prevenir accidentes de trabajo dentro del laboratorio de Microbiología.

#### II. Fundamentos teóricos

Explica cómo utilizar equipos y materiales de laboratorio, teniendo en cuenta el correcto empleo de los métodos de barrera y protección personal.

#### Principios de la bioseguridad:

- a) Universalidad: las medidas deben abarcar todas las muestras de tejidos y reactivos manejados en el laboratorio. Todo el personal debe seguir las precauciones estandarizadas para evitar la exposición de la piel y las membranas mucosas en cualquier circunstancia que pueda provocar accidentes laborales, ya sea que se espere o no el contacto con las muestras.
- b) Uso de barreras: implica evitar el contacto directo con fluidos

orgánicos considerados contaminantes, utilizando materiales adecuados para interponer una barrera. El empleo de barreras como guantes no elimina la posibilidad de accidentes por exposición a estos fluidos, pero mitiga las consecuencias de tales accidentes.

c) Medios de eliminación de material contaminado: refiere al conjunto de dispositivos y métodos adecuados mediante los cuales los materiales utilizados se depositan en recipientes apropiados y se eliminan de manera segura y sin riesgos.

# III. Equipos / Materiales

#### 3.1. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Guardapolvo		
2	Mascarilla		
3	Guantes		
4	Gorra		
5	Lentes		
6	Botas descartables		

# IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

Las precauciones estándar abarcan:

- Siempre el lavado o higiene de manos.
- Los estudiantes usan los EPPs, antes de ingresar al laboratorio de Microbiología.
- Sigue las normas y medidas de bioseguridad durante toda la práctica.
- Uso de equipos de protección personal.

- Evite accidentes con agujas y elementos corto punzantes.
- Los estudiantes forman equipos de 5 estudiantes y siguen las indicaciones del docente.
- Sigue la guía práctica.
- Lee en grupo la guía y discute sobre el tema. Toma notas y llega a conclusiones.

#### **Procedimientos:**

- Evita el contacto con la piel, con membranas mucosas, con sangre y otros líquidos de precaución universal.
- Siempre utiliza el equipo de protección personal (gorro, bata, tapabocas, gafas de seguridad, botas, guantes, mascarilla) durante las disecciones.
- Es necesario que todos los estudiantes, profesores y personal del laboratorio de Microbiología se laven las manos antes y después de cada procedimiento.
- Los estudiantes, profesores y personal del laboratorio de Microbiología que tengan lesiones exudativas o quemaduras deben evitar el contacto con el material de estudio.
- Por precaución universal, utilizar guantes durante todo el procedimiento debido al riesgo potencial de contacto con sangre u otros líquidos.
- Es importante habituarse a no tocarse la boca, la nariz, los ojos y la cara como medida preventiva para evitar la autoinoculación.
- Todo el personal que trabaje en entornos donde puedan estar en contacto directo o indirecto con sangre u otros fluidos biológicos de personas infectadas, o en situaciones donde no se conozca el estado de salud de dichas personas respecto a microorganismos, debe estar vacunado como precaución preventiva.

V.	Resul	ltados
VI.	Conc	:lusiones
	6.1.	
	6.2.	
VII.	Suge	erencias / recomendaciones

# Semana 2: Sesión 2

# Tinción Ziehl-Neelsen

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 1
Nombres v apellida	os:	

# I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante identifica los bacilos alcoholácidos resistentes mediante la coloración *Zielh Neelsen*, con la ayuda del microscopio óptico, como medida de prevención y control del contagio de la bacteria.

## II. Fundamentos teóricos

La tinción de Ziehl-Neelsen: es una técnica empleada en Microbiología para detectar bacterias ácido-alcohol resistentes, especialmente el Mycobacterium tuberculosis, el causante de la enfermedad. El principio teórico de esta técnica se basa en la capacidad de algunas bacterias, como el Mycobacterium tuberculosis, de retener el colorante carbol fucsina incluso después de ser tratadas con ácido-alcohol, lo que las hace visibles al microscopio óptico.

# III. Equipos / Materiales / Reactivos

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Microscopio		

2	Mechero de bunsen	
3	Mechero de alcohol	

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Laminas portaobjeto		
2	Coloreador		
3	Hisopos		
4	Asa de col		
5	Papel lente		

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Fucsina fenicada		
2	Alcohol ácido		
3	Azul de metileno		
4	Aceite de inmersión		
5	Alcohol isopropílico		

# IV. Indicaciones y procedimientos

**Indicaciones:** los estudiantes deben aplicar correctamente la técnica, utilizar los colorantes adecuadamente y seguir la guía práctica.

- Es fundamental realizar el extendido fino sobre un portaobjetos limpio y completamente desengrasado.
- Encender el mechero para crear un entorno aséptico.
- Ponerse los guantes y el equipo de bioseguridad.

- Es esencial seguir y cumplir con los tiempos especificados para cada etapa de los colorantes a fin de asegurar una correcta coloración.
- Seguir los pasos correctamente de la guía práctica.

#### Procedimientos para colorear muestra de esputo

- Preparar un frotis de esputo de 2 cm x 1 cm y fijarlo con alcohol a 90 grados.
- Colocar el frotis en una varilla para colorear.
- Añadir fucsina fenicada sobre la lámina portaobjetos que contiene la muestra de esputo, calentarla con un mechero de alcohol hasta que emita tres vapores y dejar actuar durante 4 minutos, luego enjuagar con agua del caño.
- Agregar decolorante con el alcohol ácido x 4 minutos; enjuagar con agua de caño, luego enjuagar el azul de metileno por 4 minutos.
- Examinar a través del microscopio óptico utilizando un objetivo de 100
   X utilizando aceite de inmersión.

٧.	V. Resultados	
VI.	VI. Conclusiones	
	6.1	

_			
6.2.			

# VII. Sugerencias / recomendaciones

Utilizar todas las medias de bioseguridad.

# Semana 3: Sesión 2

# Observación de la morfología bacteriana

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 1
Nombres v apellido	ς.	

## I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante identifica las características morfológicas mediante el uso de las coloraciones como *Gram*, azul de metileno, *Ziehl-Neelsen* y con la ayuda del microscopio óptico para el diagnóstico y tratamiento específico.

#### II. Fundamentos teóricos

La morfología bacteriana: abarca la configuración y composición estructural de las bacterias, que puede variar considerablemente entre especies y afectar aspectos diversos de su biología, como su habilidad para colonizar entornos específicos o provocar enfermedades. La morfología se fundamenta en la estructura celular bacteriana, que incluye varios componentes esenciales:

- Membrana plasmática: es una membrana lipídica que envuelve la célula y controla el intercambio de sustancias hacia adentro y hacia afuera de la célula.
- Pared celular: muchas bacterias poseen una pared celular que ofrece soporte y protección. La composición de esta pared puede variar y es crucial para clasificar las bacterias en distintos grupos, como Gram positivas o Gram negativas.

- Citoplasma: es el espacio interior de la célula donde tienen lugar la mayoría de las funciones celulares fundamentales, como la síntesis de proteínas y la replicación del ADN.
- **Ribosomas:** son las estructuras responsables de la síntesis de proteínas.
- ADN: el material genético de la bacteria, que se encuentra en una región llamada nucleoide.
- **Flagelos:** algunas bacterias tienen flagelos, estructuras largas que les permiten movilizarse.
- Pili: son estructuras más cortas que los flagelos y pueden estar implicados en la adherencia a superficies o en la transferencia de material genético entre bacterias.

## III. Equipos / Materiales / Reactivos

### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Microscopio óptico		
2	Mechero de bunsen		
3	Mechero de alcohol		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Laminas portaobjeto		
2	Varillas de coloración		
3	Papel lente		

#### 3.3. Reactivos

Ítem Reactivo	Características	Cantidad
---------------	-----------------	----------

1	Coloración de Gram	
2	Coloración de azul de	
	metileno	
	Batería de la	
3	coloración Zielh-	
	Neeisen	
4	Aceite de inmersión	

#### 3.4. Muestras

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Muestras de esputo		
2	Muestras de secreción		
	vaginal		

# IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones

- Seguir las normas de bioseguridad, incluyendo el uso de equipo de protección personal como guantes, guardapolvo, mascarilla, cofia y gorro.
- Realizar coloraciones: simples, diferenciales.
- Identificar qué tipos de muestras se emplean para cada técnica de tinción.
- Los estudiantes deben de tener en cuenta que los cultivos y muestras deben ser frescos para evitar cambios en las características, tinción y morfológicas de las bacterias.
- Está prohibido fumar o consumir alimentos en el laboratorio.
- Es indispensable utilizar mandil, y scraff.
- La ropa y los objetos personales deben mantenerse alejados de las

- áreas de trabajo.
- Es recomendable colocar un papel filtro en el área de trabajo al iniciar las prácticas y retirarlo al finalizar el día.
- Es importante lavarse las manos minuciosamente antes de abandonar el laboratorio.

#### Procedimiento experimental

- Dividir la lámina en 3 partes: 1/3 para etiquetar el número de muestra y 2/3 para la preparación del frotis.
- Utilizar una porción de la muestra con el asa estéril.
- Poner el asa sobre el portaobjetos y ejercer una ligera presión sobre él.
- Mover el asa en un patrón espiral desde el centro hacia el borde.
- Dejar cierta distancia entre el frotis y cada uno de los lados del portaobjeto.
- Permitir que la muestra se seque completamente a temperatura ambiente o pasar el portaobjetos con el frotis hacia arriba tres veces por encima de la llama del mechero.
- Aplicar la tinción utilizando el procedimiento correcto para cada coloración.

#### V. Conclusiones

Registrar los descubrimientos significativos y redactar el informe correspondiente.

# VI. Sugerencias / recomendaciones

Distinguir la diferencia entre una coloración dicromica y monocromica

# Semana 4: Sesión 2

# Preparación agar sangre

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	. Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 1
Nombres y apellida	os:	

# I. Propósito

Al término de la sesión el estudiante identifica las bacterias *Gram* positivas, *Gram* negativas, hongos y microorganismos causantes de patologías en los seres humanos, la identificación es importante para la administración del tratamiento y la prevención.

## II. Fundamentos teóricos

- El agar sangre: es un medio de cultivo empleado en microbiología para el desarrollo de diversos microorganismos, especialmente bacterias.
- Agar: es un polisacárido que se extrae de algas marinas y se utiliza como base sólida para el crecimiento de microorganismos en placas de Petri. El agar proporciona una superficie sólida y estable para el crecimiento de bacterias.
- Sangre: el agar sangre proviene principalmente de mamíferos, como ovejas, caballos o humanos; sirve como fuente de nutrientes para las bacterias en crecimiento, proporcionando factores de crecimiento y nutrientes esenciales.
- **Hemólisis:** uno de los aspectos distintivos del agar sangre es su capacidad para detectar la hemólisis, que es la capacidad de

algunas bacterias para destruir los glóbulos rojos en la sangre. Esta característica se utiliza para distinguir entre diferentes tipos de bacterias, ya que algunas bacterias producen enzimas hemolíticas que pueden causar diferentes patrones de hemólisis en el agar.

# III. Equipos / Materiales / Reactivos

# 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Balanza electrónica		
2	Autoclave		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Placas Petri		
2	Laminas portaobjetos		
3	Laminas cubreobjetos		
4	Matraz	250 ml	
5	Espátula		
6	Papel Graff		
7	Hilo pabilo		
8	Mechero de bunsen		
9	Probeta	100 ml	
10	Tubos de extracción de		
10	sangre con EDTA		
11	Algodón		
12	Alcohol de 70 grados	N.º 20	
13	Agujas		
14	Ligadura		

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Agar tripticasa soya		
2	Agua destilada		

# IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Cumplir con las medidas de bioseguridad.
- No comer ni beber en los laboratorios de Microbiología.
- Utilizar la guía práctica.
- Es crucial evitar ponerse los dedos o el lápiz en la boca.
- Es importante no tocarse los ojos o la nariz con las manos contaminadas.
- Es crucial mantener bajo observación las heridas en las manos, ya que podrían facilitar la entrada de infecciones. Si se tienen heridas, es importante cubrirlas adecuadamente con guantes quirúrgicos.
- Preparar medios de cultivo como el agar sangre requiere cuidado debido a su sensibilidad a la contaminación ambiental. Por lo tanto, es crucial seguir las instrucciones específicas de cada medio para asegurar una preparación adecuada.

### Procedimientos de la preparación del agar sangre:

- Medir con la probeta 100 ml de agua destilada.
- Pesar con la balanza eléctrica 4 gr de agar tripticasa soya.
- Calentar y hacer hervir en el mechero de bunsen luego llevar a esterilizar en la autoclave por un tiempo de 15 minutos.
- Ponerlo en baño María y mantenerlo a una temperatura de 45°C.
- Sacar del baño María y agregar a 5 ml de sangre citratada o desfibrinada, manteniendo siempre cerca la llama del mechero.

- Mezclar con movimientos circulares suaves para lograr una homogeneización adecuada.
- Distribuir la mezcla en placas de *Petri* estériles, aproximadamente 20 a 25 ml en cada una.
- Dejar que solidifique y realizar la esterilización de control durante 24 a 48 horas a 37 °C.
- Mantener refrigerado a 4°C hasta su uso.
- El color habitual del medio preparado debe ser rojo cereza.

١	<i>1</i> .	~	'n		lite	ia	nes
١	<i>.</i>	しし	וול	C	IUS	ıO	nes

5.1.		
5.2.		

# VI. Sugerencias / recomendaciones

Utilizar las medidas de bioseguridad

# Segunda **Unidad**

Bacteriología y conceptos generales de virología

# Semana 5: Sesión 2

# Tinción Gram

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 2
Nombres v apellido	s:	

# I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante identifica las bacterias *Gram* positivas, *Gram* negativas, reconociendo la forma de las bacterias (coco, bacilos y espirilos) para ayudar a la administración del tratamiento y la recuperación del paciente.

#### II. Fundamentos teóricos

La tinción de Gram: la tinción de Gram es un método diferencial empleado en microbiología para diferenciar entre dos principales grupos de bacterias, Gram positivas y Gram negativas, basado en las variaciones en la composición de su pared celular. Su fundamento teórico se centra en las propiedades de esta estructura bacteriana y en cómo responden a diversos reactivos de tinción.

# III. Equipos / Materiales / Reactivos:

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Microscopio		
2	Mechero de bunsen		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Laminas portaobjeto		
2	Coloreador		
3	Hisopos		
4	Asa de Kolle		

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Cristal violeta		
2	Lugol alcohol acetona		
3	Safranina		
4	Aceite de inmersión		
5	Alcohol de isopropílico		

# IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Utilizar la guía práctica siguiendo los pasos y los tiempos correctos.
- El primer paso en cualquier estudio bacteriológico consiste en la observación microscópica de la muestra.
- Una observación directa, sin coloración, nos dará escasa información sobre los microorganismos. Para obtener mayor información debemos colorear el material que vamos a estudiar y lo haremos con una o varias técnicas que nos den las características deseadas.
- No comer, beber o fumar en los ambientes del laboratorio de Microbiología.

#### Procedimientos de la coloración Gram:

- Realizar un extendido y asegurarlo en la lámina portaobjeto.

- Dejar secar a temperatura ambiente.
- Colocar en la varilla para colorear.
- Agregar cristal violeta por 2 minutos, luego enjuagar con agua corriente.
- Lugol por 1 minuto, enjuagar con agua corriente.
- Alcohol acetona por 15 a 30 segundos y enjuagar con agua corriente.
- Safranina por 1 minuto y enjuagar con agua corriente.
- Dejar secar a temperatura ambiente.
- Leer a través del microscopio óptico utilizando aceite de inmersión y con el objetivo de 100 X.

٧.	C-		ام ، ، ا	-	
ν.	Co	nc	IUSI	ıon	es

5.1	 	 		
.2.				

# VI. Sugerencias / recomendaciones

Se sugiere a los estudiantes realizar la tinción siguiendo los pasos y colorantes correctamente.

# Semana 6: Sesión 2

# Preparación de medios de cultivo. Agar MacConkey y Manitol Salado

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 2
Nombres v apellido:	s:	

# I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante realiza la preparación de los cultivos específicos en el laboratorio, dando la importancia debida al crecimiento y reproducción de los microorganismos para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas.

#### II. Fundamentos teóricos

El agar MacConkey y el agar manitol salado: son dos tipos de medios de cultivo selectivos y diferenciales empleados en microbiología para cultivar e identificar bacterias patógenas, especialmente aquellas que pueden provocar infecciones aastrointestinales.

**Agar MacConkey:** este medio está formulado para el crecimiento selectivo de bacterias *Gram* negativas y la diferenciación entre fermentadores y no fermentadores de lactosa. Contiene sales biliares y cristal violeta para inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas. Además, incluye lactosa como fuente de carbono y un indicador de pH, rojo neutro, que cambia de color cuando hay fermentación de lactosa.

 Interpretación de resultados: las bacterias que fermentan lactosa producen ácido láctico y ácido acético como resultado de la fermentación, lo que reduce el pH del medio y provoca un cambio de color de incoloro a rosa-rojo Las bacterias no fermentadoras de lactosa no varían color del medio.

Agar manitol salado: este medio es selectivo para el crecimiento de bacterias halófilas (que toleran altas concentraciones de sal) y diferencial para la fermentación de manitol. Contiene una alta concentración de cloruro de sodio (sal) que inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias no halófilas. También incluye manitol como fuente de carbono y un indicador de pH, rojo de fenol, que cambia de color cuando se produce fermentación de manitol.

Interpretación de resultados: las bacterias que fermentan el manitol generan ácido láctico y ácido acético, lo que reduce el pH del medio y provoca un cambio de color de incoloro a amarillo. Las bacterias que no fermentan el manitol no alteran el color del medio.

En resumen, tanto el agar MacConkey como el agar manitol salado son medios de cultivo selectivos y diferenciales que permiten identificar bacterias patógenas específicas basadas en sus capacidades de fermentación y crecimiento en condiciones específicas. Estos medios son útiles en el diagnóstico de infecciones bacterianas, especialmente aquellas relacionadas con el tracto gastrointestinal.

# III. Equipos / Materiales / Reactivos

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Balanza eléctrica		
2	Autoclave		
3	Mechero de bunsen		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Placa Petri		
2	Laminas portaobjeto		
3	Laminas cubreobjeto		

4	Matraz	
5	Espátula	
6	Probeta	
7	Papel Graff	
8	Hilo pabilo	
9	Luna de reloj	

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Agar MacConkey		
2	Agar manitol salado		
3	Agua destilada		

# IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Cumplir con las medidas de bioseguridad.
- No comer ni beber en los laboratorios de Microbiología.
- Utilizar la guía práctica.
- Es importante que los estudiantes sigan cuidadosamente las instrucciones, ya que la preparación y la siembra son procesos mediante los cuales un microorganismo en contacto con un medio de cultivo puede crecer y multiplicarse, formando colonias individuales.
- En estas prácticas se empleará el calor como método para esterilizar.
- Dado que los microorganismos están presentes en todos los entornos,
   es crucial eliminar cualquier contaminación en los medios o
   instrumentos de trabajo para estudiar una bacteria específica.

#### Procedimientos de la preparación de los medios de cultivo:

- Medir con la probeta 100 ml de agua destilada, agregar al matraz de 250 ml.
- Pesar 5 gramos de MacConkey.
- Hervirla con la ayuda del mechero de bunsen.
- Esterilizar la autoclave por un tiempo de 15 minutos.
- Dejar que se enfríe y mezclar suavemente con movimientos rotatorios para lograr una homogeneización adecuada.
- Distribuir uniformemente la mezcla en placas *Petr*i estériles, aproximadamente 20 a 25 ml en cada una.
- Dejar que se solidifique y llevar a cabo el control de esterilización durante 24 a 48 horas a una temperatura de 37 °C.
- Almacenar en refrigeración a una temperatura de 4°C hasta su uso.

#### Procedimientos del agar manitol salado:

- Medir con la probeta 100 ml de agua destilada, agregar al matraz de 250 ml.
- Pesar 12 gramos de manitol salado.
- Hervir con la ayuda del mechero de bunsen.
- Esterilizar la autoclave por un tiempo de 15 minutos.
- Dejar enfriar y mezclar con movimientos rotatorios suaves, para obtener un buen homogenizado.
- Repartir la mezcla en placas *Petri* estériles, aproximadamente 20 a 25 ml en cada una.
- Solidificar y realizar el control de esterilizar, durante 24 48 horas a 37
   °C.
- Conservar refrigerado a 4 °C hasta su empleo.

٧.	Cond	clusiones		
	5.1.		 	 
	5.2.			

# VI. Sugerencias / recomendaciones

Utilizar las medidas de bioseguridad.

# Semana 7: Sesión 2

# Identificación cultivos bacterianos

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 2
Nombres v apellido	s:	

# I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante conoce los medios de identificación bioquímica para el reconocimiento de las bacterias causantes de patologías con la finalidad de dar un diagnóstico y tratamiento específico en beneficio de los pacientes.

#### II. Fundamentos teóricos

**TSI (triple sugar iron agar):** el medio TSI incluye tres carbohidratos: glucosa, lactosa y sacarosa, además de sulfato ferroso y un indicador de pH. El sulfato ferroso se utiliza como indicador de la producción de gas, mientras que el indicador de pH cambia de color en respuesta a la producción de ácido.

Interpretación de resultados: la fermentación de carbohidratos produce ácido y, en algunos casos, gas. Si un microorganismo fermenta la glucosa, pero no la lactosa ni la sacarosa, se observará un cambio de color amarillo en la parte inferior del tubo (debido a la fermentación de la glucosa) y un color rojo en la parte superior (debido a la no fermentación de la lactosa y la sacarosa). La producción de gas se observa como burbujas en el medio.

LIA (Lysine Iron Agar): el medio LIA contiene lisina como la única fuente

de nitrógeno, junto con sulfato ferroso y un indicador de pH. La desaminación de la lisina resulta en alcalinización y un cambio de color en el indicador de pH.

Interpretación de resultados: la desaminación de la lisina genera alcalinidad, lo cual provoca un cambio de color en la línea de picadura de púrpura a rojo. Si además ocurre fermentación de glucosa, se puede observar un cambio de color del medio a amarillo.

Citrato de Simons: el medio de citrato de Simons incluye citrato como la única fuente de carbono, junto con un indicador de pH. Las bacterias capaces de utilizar el citrato como fuente de carbono producen alcalinidad.

Interpretación de resultados: si un microorganismo puede metabolizar el citrato como fuente de carbono, se observará un cambio de color del medio a azul, indicando un aumento de alcalinidad. Si el microorganismo no puede utilizar el citrato, el medio conservará su color verde original.

# III. Equipos / Materiales / Reactivos

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Horno		
2	Autoclave		
3	Microscopio óptico		
4	Balanza eléctrica		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Mechero		

2	Placas	Petri		
	descartables			
3	Tubos de ensayo		13 x 100	
4	Asa calibrada		1/1000	
5	Hisopos largos	de		
3	algodón			
6	Papel Graff			
7	Escala de McFarland			
8	Papel filtro			

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Medio de TSI, LIA,		
'	Citrado de Simmons		
2	Reactivo de kovacs		

# IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Cumplir con las medidas de bioseguridad.
- Los estudiantes deben ingresar al laboratorio de Microbiología utilizando los EEPs y scraff.
- Deben portar consigo la guía práctica.
- No se deben utilizar joyas como reloj, aretes que interfieran durante la práctica.
- Los medios de cultivo son contaminantes, por lo tanto, se debe trabajar con el mechero encendido.
- Consulta la guía práctica para asegurarte de seguir apropiadamente todos los pasos del procedimiento.

- Utiliza con mucho cuidado el material del laboratorio.

#### **Procedimientos:**

#### Preparación del agar TSI (Triple Sugar Iron):

- Medir con la probeta 50 ml de agua destilada, agregar al matraz de 250 ml.
- Pesar 2 gramos de TSI.
- Hervir con la ayuda del mechero de bunsen.
- Esterilizar a la autoclave por un tiempo de 15 minutos.
- Dejar que se enfríe y mezcla suavemente con movimientos rotatorios para lograr una homogeneización adecuada.
- Repartir el TSI en tubos de 13X75 ml, un aproximado de 2 ml.
- Dejar enfriar inclinando los tubos para que se forme un pico de flauta.
- Deja que solidifique y realiza el control de esterilización durante 24 a 48 horas a una temperatura de 37 °C.
- Conservar refrigerado a 4 °C hasta su empleo.

#### Preparación del agar LIA (Lysine Iron Agar):

- Medir con la probeta 50 ml de agua destilada, agregar al matraz de 250 ml.
- Pesar 2 gramos de LIA.
- Hervir con la ayuda del mechero de bunsen.
- Esterilizar la autoclave por un tiempo de 15 minutos.
- Deja que se enfríe y mezcla suavemente con movimientos rotatorios para lograr una mezcla homogénea.
- Repartir el LIA en tubos de 13X75 ml, un aproximado de 2 ml.
- Dejar enfriar inclinando los tubos para que se forme un pico de flauta.
- Permitir que se solidifique y llevar a cabo la esterilización durante 24 a 48 horas a una temperatura de 37 °C.

- Conservar refrigerado a 4 °C hasta su empleo.

#### Preparación del agar Citrato de Simons:

- Medir con la probeta 50 ml de agua destilada, agregar al matraz de 250 ml.
- Pesar 1.8 gramos de citrato de Simons.
- Hervir con la ayuda del mechero de bunsen.
- Esterilizar a la autoclave por un tiempo de 15 minutos.
- Dejar que se enfríe y agitar suavemente para lograr una mezcla homogénea.
- Repartir el citrato de *Simons* en tubos de 13X75 ml, un aproximado de 2 ml.
- Dejar enfriar inclinando los tubos para que se forme un pico de flauta.
- Dejar que solidifique y llevar a cabo la verificación de esterilización durante 24 a 48 horas a una temperatura de 37 °C.
- Conservar refrigerado a 4 °C hasta su empleo.

#### V. Conclusiones

5.1.			
5.2.			

## VI. Sugerencias / recomendaciones

Utilizar las medidas de bioseguridad.

## Semana 8: Sesión 2

## Dosaje de hepatitis B. Reacción antígenoanticuerpo e inmunocromatográfica

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 2
Nombres v apellida	os•	

#### I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante explica la importancia de las pruebas de inmunocromatográfica en la detección temprana, prevención y tratamiento de la hepatitis B.

#### II. Fundamentos teóricos

La inmunocromatografía para la detección del virus de la hepatitis B (VHB): se basa en la interacción entre antígenos específicos del VHB y anticuerpos específicos en una tira de prueba.

**Conjugación de anticuerpos:** primero, los anticuerpos dirigidos específicamente contra el antígeno de superficie del VHB (HBsAg) se unen a partículas de oro coloidal u otro marcador visible. Estas partículas conjugadas se secan en la tira de prueba en una línea de captura específica.

*Interacción antígeno-anticuerpo:* si el antígeno HBsAg está presente en la muestra, se adherirá a los anticuerpos conjugados en la línea de captura, formando un complejo de antígeno-anticuerpo.

Movimiento de la muestra: la muestra se desplaza a través de la tira de prueba debido a la acción capilar. Si se forma el complejo de antígeno-

anticuerpo, este se moverá junto con la muestra.

Interacción con la línea de captura: a medida que la muestra se mueve, el complejo antígeno-anticuerpo se encuentra con una línea de captura que contiene más anticuerpos específicos contra el antígeno HBsAg. Estos anticuerpos están inmovilizados en la línea de captura y pueden capturar el complejo antígeno-anticuerpo a medida que pasa, formando una línea visible.

**Resultado:** si aparece una línea en la zona de captura, se interpreta como un resultado positivo para la presencia de HBsAg. Si no aparece una línea en la zona de captura, el resultado se considera negativo.

#### III. Equipos / Materiales / Reactivos

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Centrifuga		
2	Rotor de laminas		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Tubos tapa roja	Sin EDTA	
2	Tubos tapa morada	Con EDTA	
3	Alcohol	Antiséptico	
4	Agujas	Hipodérmicas 21 x ½	
5	Ligadura	Goma	
6	Pipetas automáticas	UI, ml	

#### 3.3. Reactivos

Ítem		Reac	livo	Características	Cantidad
1	Test	de	pruebas	X	
'	rápid	as de h	epatitis B	inmunocromatográfia	

#### IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Escribe tus respuestas de manera legible y sin tachaduras.
- Es importante seguir las medidas de bioseguridad al tomar muestras sanguíneas y utilizar correctamente el material para procesar los analitos correspondientes.
- Utilizar la centrifugadora, para separar los componentes sanguíneos a utilizar en esta práctica.
- Utilizar guantes y todas las medidas de bioseguridad para realizar la venopunción.
- Descartar los materiales punzocortantes en los respectivos tachos de eliminación.

#### **Procedimiento**

#### Procedimientos para la toma de sangre (venosa)

- Preparar los materiales necesarios, como agujas, N° 20X1, tubos de ensayo de color rojo, algodón, vendas, y desinfectante.
- Rotular el tubo de ensayo con los datos del paciente y asegurarse de tener la orden médica para tomar la muestra.
- Explicar el procedimiento al paciente para que esté informado y asegurarse de obtener su consentimiento.
- Posicionar al paciente de manera confortable, idealmente sentado o acostado, con el brazo extendido y relajado.
- Desinfecta la zona de punción, en el pliegue del codo o en la parte posterior de la mano.

- Coloca un torniquete en el brazo para facilitar la visualización de las venas para la extracción de la sangre.
- Inserta la aguja en la vena con un movimiento rápido y firme.
- Cuando la sangre comience a fluir, retira el torniquete.
- Llena los tubos de ensayo con la cantidad precisa de sangre según las instrucciones del laboratorio.
- Retire la aguja con precaución y luego presione suavemente el lugar de la punción utilizando una gasa esterilizada para detener el flujo de sangre.
- Coloque un vendaje sobre la zona de la punción si es requerido.

#### Procedimientos para la centrifugación de la sangre (venosa)

- Llevar los tubos a la centrífuga.
- Coloca los tubos de ensayo en la centrífuga de manera que estén equilibrados para evitar vibraciones excesivas durante la centrifugación.
- Cierra la tapa de la centrífuga seleccionando la velocidad y el tiempo de centrifugación adecuados.
- Inicia la centrifugación y asegúrate de que el proceso se realice de manera segura y sin interrupciones.
- Una vez finalizada la centrifugación, deténgala y espere a que el rotor se detenga completamente antes de abrir la tapa.
- Extrae con precaución los tubos de ensayo de la centrífuga, procurando no agitarlos para evitar la mezcla de los componentes sanguíneos separados.

## Procedimientos para realizar la prueba de Hepatitis B por inmunocromatográfica

- Retira el empaque o la bolsa sellada del casete y colócala sobre una superficie plana y limpia.

- Identifica las ventanas de resultado y muestra en el casete de ensayo.
- Aplica la muestra en la ventana del casete de ensayo utilizando un gotero, pipeta, según las instrucciones de la prueba.
- Asegúrate de no contaminar otras áreas del casete de ensayo con la muestra.
- Deja que la muestra se mueva a lo largo del casete de ensayo por capilaridad.
- Sigue las indicaciones de tiempo específico para cada prueba, generalmente dura entre 5 a 20 minutos.
- Después del tiempo de incubación, lee los resultados según las indicaciones del fabricante.
- Observa la presencia de líneas de color en las ventanas de resultado y control.
- En la mayoría de las pruebas de inmunocromatografía, la aparición de una línea en la ventana de control indica que la prueba se ha realizado correctamente.
- La aparición de una línea en la ventana de resultado indica un resultado positivo para el antígeno o anticuerpo buscado. Como indica la imagen línea arriba.

### V. Resultados

Positivo (+)	Negativo (-)	Inválido (?)
C C T	СТ	C C T
Tanto la línea C (Control) como la línea T (Test) aparecen, una línea T debil deberá siempre interpretarse como Positivo.	Sólo la línea C (Control) de Control aparece.	Si la línea C (Control) está ausente, habrá que repetir el exámen con un nuevo dispositivo.

### VI. Conclusiones


## Tercera Unidad

Virus de importancia médica, hongos

## Semana 9: Sesión 2

## Dosaje de VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana)

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 3
Nombres v apellidos	5:	

#### I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante reconoce la importancia de las pruebas de inmunocromatográficas, en el dosaje de VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana), considerando el fundamento y su importancia en el diagnóstico temprano, la prevención y el tratamiento.

#### II. Fundamentos teóricos

La inmunocromatográfica: es una de las técnicas más avanzadas en inmunodiagnóstico, destacando por su simplicidad y rapidez. Su creciente aplicación abarca pruebas que no requieren reactivos ni equipo adicional, tanto en el ámbito de los test como en la medicina clínica. Ejemplos reconocidos incluyen pruebas de embarazo, PSA y recientemente pruebas de VIH.

#### III. Equipos / Materiales / Reactivos

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Centrifuga		

2	Rotor de láminas	

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Tubos tapa roja	Sin EDTA	
2	Tubos tapa morada	Con EDTA	
3	Alcohol	Antiséptico	
4	Agujas	Hipodérmicas 21 x ½	
5	Ligadura	Goma	
6	Pipetas automáticas	UI, ml	

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Test de pruebas	X inmunocromatografía	
'	rápidas de VIH		

#### IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones

- Escribe tus respuestas con letra clara y sin borrones.
- Es importante que el estudiante siga las normas de bioseguridad al tomar la muestra de sangre y al manipular correctamente el material necesario para realizar el análisis correspondiente.
- Utiliza la centrífuga para separar los componentes sanguíneos que se usaran en esta práctica.
- Al realizar la venopunción se debe usar guantes y todas las medidas de bioseguridad.
- Descartar los materiales punzocortantes en los respectivos tachos de eliminación.

#### Procedimiento:

#### Procedimientos para la toma de sangre (venosa)

- Prepara los materiales necesarios, como agujas, N.º 20X1, tubos de ensayo color rojo, algodón, vendas, y desinfectante.
- Rotular el tubo de ensayo con los datos del paciente y asegúrate de tener la orden médica para la toma de muestra.
- Proporciona al paciente una explicación detallada del procedimiento y asegúrate de obtener su consentimiento antes de proceder.
- Posiciona al paciente de manera confortable, idealmente sentado o recostado, con el brazo extendido y relajado.
- Desinfecta el sitio de punción, en el pliegue del codo o en la parte posterior de la mano.
- Coloca un torniquete en el brazo para facilitar la visualización de las venas y la extracción de la sangre.
- Inserta la aguja en la vena con un movimiento rápido y firme.
- Una vez que la sangre comience a fluir, retira el torniquete.
- Llena los tubos de ensayo con la cantidad correcta de sangre según las instrucciones proporcionadas por el laboratorio.
- Retira la aguja con precaución y luego presiona el lugar de la punción con un trozo de algodón esterilizado para detener el sangrado.
- Coloca una venda o apósito sobre el lugar de la punción si es requerido.

#### Procedimientos para la centrifugación de la sangre (venosa)

- Llevar los tubos a la centrífuga.

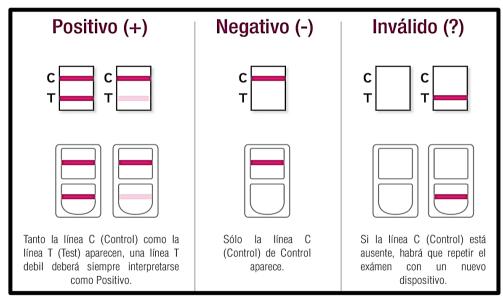
- Coloca los tubos de ensayo en la centrífuga de manera que estén equilibrados para evitar vibraciones excesivas durante la centrifugación.
- Cierra la tapa de la centrífuga, selecciona la velocidad y el tiempo de centrifugado.
- Inicia la centrifugación y asegúrate de que el proceso se realice de manera segura y sin interrupciones.
- Después de finalizar la centrifugación, detén la máquina y aguarda a que el rotor se detenga por completo antes de abrir la tapa.
- Extrae con precaución los tubos de ensayo de la centrífuga, evitando cualquier agitación que pueda mezclar los componentes sanguíneos separados.

## Procedimientos para realizar la prueba del VIH por inmunocromatografía

- Retira el empaque o la bolsa sellada del casete y colócala sobre una superficie plana y limpia.
- Identifica las ventanas de resultado y muestra en el casete de ensayo.
- Aplica la muestra en la ventana del casete de ensayo utilizando un gotero, pipeta, según las instrucciones de la prueba.
- Asegúrate de no contaminar otras áreas del casete de ensayo con la muestra.
- Deja que la muestra se mueva a lo largo del casete de ensayo por capilaridad.
- Sigue las indicaciones de tiempo específicas para cada prueba, generalmente entre 5 a 20 minutos.

- Después del tiempo de incubación, lee los resultados según las indicaciones del fabricante.
- Observa la presencia de líneas de color en las ventanas de resultado y de control.
- En la mayoría de las pruebas de inmunocromatografía, la aparición de una línea en la ventana de control indica que la prueba se ha realizado adecuadamente.
- La aparición de una línea en la ventana de resultado indica un resultado positivo para el antígeno o anticuerpo buscado. como indica la imagen línea arriba.

#### V. Resultados



#### VI. Conclusiones

6.1.	 	 	
	 	 <del></del>	

5.2.	 		 
	 <del></del>	 	

## VII. Sugerencias / recomendaciones

Utilizar siempre las medidas de bioseguridad

## Semana 10: Sesión 2

## Examen directo para hongos

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 3
Nombres v apellido	s:	

#### I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante reconoce la importancia de los hongos patógenos, en el diagnóstico y prevención de contagios.

#### II. Fundamentos teóricos

La morfología de los hongos: su forma y estructura tanto externa como interna pueden variar considerablemente según la especie y las condiciones ambientales en las que se desarrollan.

## III. Equipos / Materiales / Reactivos

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Microscopio		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Laminas portaobjeto		
2	Laminillas		
3	Asa de Kolle		
4	Mechero bunsen		

5	Fósforo	
6	Hisopos	

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Azul de lactofenol		
2	KOH 10 %		
3	Agua destilada		

#### 3.4. Muestras

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
	Cultivo de hongos		
1	levaduriformes y		
	filamentos		

#### IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Los estudiantes deben adherirse a las normas de bioseguridad y seguir los procedimientos adecuados, considerando los tiempos de los reactivos para poder observar las estructuras morfológicas de los hongos.
- No puede tocarse el rostro con las manos contaminadas.
- Evitar, comer y beber en el laboratorio de Microbiología.
- Desinfectar el equipo necesario para el laboratorio.
- Después de finalizar las prácticas, es importante lavarse las manos.
- Limpiar los lentes del microscopio utilizando papel filtro y alcohol isopropílico.

#### **Procedimientos:**

#### Procedimientos para el diagnóstico micológico

- Fundamentalmente, existen dos tipos de estudios descritos: el examen directo y el de cultivo.
- Para asegurar la recuperación de hongos a partir de muestras clínicas,
   es crucial procesarlas de inmediato, inoculándolas en medios de cultivo.
  - Examen directo: este método no reemplaza el cultivo, pero proporciona información preliminar o indicativa como una técnica rápida que puede ser beneficiosa para el médico clínico y, en algunos casos, diagnóstica. Por lo tanto, la detección de hifas cenocíticas en pacientes con cetoacidosis diabética puede ser crucial para iniciar el tratamiento contra posibles casos de mucormicosis. Entre los principales exámenes directos tenemos:
    - a) Hidróxido de potasio (KOH) 20 %: facilita la rápida disolución de las células, lo que permite digerir material proteico y observar con mayor claridad los elementos fúngicos. Calentar ligeramente la preparación sobre la llama puede aumentar su efecto de clarificación. Además, se pueden usar colorantes para teñir la pared de los hongos y mejorar la visualización. La detección de hifas sugiere la posible presencia de invasión micótica.
    - b) Tinta china: Es un método de contraste que permite visualizar la cápsula de polisacárido de Cryptococcus neoformans mediante la aparición de un halo claro y bien definido alrededor de la levadura.
      - Existen artefactos como hematíes, burbujas de aire, leucocitos, gotas de grasa y partículas de talco que pueden interferir y confundir al analista. La sensibilidad de esta

- técnica es del 50 % en pacientes sin VIH, pero puede aumentar hasta un 88 % en pacientes VIH positivos con meningitis criptococósica.
- c) Coloración Giemsa: es útil para el diagnóstico de histoplasmosis, neumocistosis y otras micosis. Permite observar blastoconidias intracelulares en los polimorfonucleares, como la fase tisular de H. capsulatum.
- **d)** Coloración Gram: es útil para visualizar blastoconidias y pseudomicelios de especies pertenecientes a los géneros Candida, Malassezia y Cryptococcus, que son Gram positivas con variaciones en la intensidad de la coloración.

Cond	ciusiones	
5.1.		
5.2		
0.2.		

#### VI. Sugerencias / recomendaciones

Utilizar las medidas de bioseguridad

## Semana 11: Sesión 2

## Preparación agar Sabouraud. Cultivo para hongos

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 3
Nombres v apellida	95.	

#### I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante prepara los medios de cultivo agar *Sabouraud* para el aislamiento hongos patógenos en los seres humanos para el tratamiento adecuado.

#### II. Fundamentos teóricos

**Agar Sabouraud:** es un medio de cultivo ampliamente empleado en laboratorios para aislar y cultivar hongos y levaduras. Fue desarrollado en el siglo XIX por el microbiólogo francés *Raymond Sabouraud* y es uno de los más comúnmente utilizados en microbiología para este propósito.

**Composición del medio:** el agar *Sabouraud* incluye peptona como fuente de nitrógeno y otros nutrientes, junto con glucosa como fuente de carbono. Puede tener un pH ácido, típicamente alrededor de 5.6, y puede contener antibióticos como cloranfenicol o gentamicina para inhibir el crecimiento bacteriano, facilitando así el crecimiento selectivo de hongos y levaduras.

**Inhibición del crecimiento bacteriano:** el pH ácido del agar *Sabouraud* y la presencia de antibióticos ayudan a inhibir el crecimiento de bacterias, lo que permite que los hongos y las levaduras crezcan sin competencia.

Estímulo del crecimiento fúngico: la composición nutricional del agar Sabouraud, con peptona y glucosa como fuentes de nutrientes, proporciona un ambiente propicio para el crecimiento de hongos y levaduras.

**Observación de colonias:** las colonias de hongos y levaduras en agar *Sabouraud* suelen ser fácilmente distinguibles por su color, forma y textura característica, lo que facilita su identificación.

#### III. Equipos / Materiales / Reactivos

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Balanza electrónica		
2	Autoclave		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Placas Petri		
2	Laminas portaobjeto		
3	Laminas cubreobjeto		
4	Matraz	250 ml	
5	Espátula		
6	Papel Graff		
7	Hilo pabilo		
8	Probeta	100 ml	

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Agar Sabouraud		

2 Agua destilada
------------------

#### IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Empleo de equipo de protección personal (guantes, bata, mascarilla, gorro y cubrebocas).
- Es fundamental que los estudiantes sigan las medidas de bioseguridad al preparar medios de cultivo, ya que este proceso implica que un microorganismo entre en contacto con un medio donde pueda crecer y reproducirse, formando colonias individuales.
- Utilizar la autoclave para la preparación del agar.
- Utilizar la guía práctica para la preparación correcta.

#### Preparación del agar Sabouraud

- Medir con la probeta 100 ml de agua destilada y agregar al matraz de 250 ml.
- Pesar 6 gramos de agar Sabouraud.
- Hervir con la ayuda del mechero de bunsen.
- Esterilizar la autoclave por un lapso de 15 minutos.
- Deje enfriar y mezcle suavemente con movimientos rotatorios para lograr una buena homogeneización.
- Distribuya la mezcla en placas *Petri* esterilizadas, colocando aproximadamente entre 20 y 25 ml en cada una.
- Permitir que solidifique y realizar el control de esterilización durante 24 a 48 horas a una temperatura de 37 °C.
- Conservar refrigerado a 4° C hasta su empleo.

#### V. Conclusiones

5.1.

5.2.				
··		<del> </del>	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
	·			

## VI. Sugerencias / recomendaciones

Utilizar las medidas de bioseguridad

## Semana 12: Sesión 2

## Tinción de *Wrigt*. Reconocimiento de células sanguíneas

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	. Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 3
Nombres v apellido	os:	

#### I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante resalta la relevancia de la tinción de *Wright* en la determinación del recuento celular, es decir, en la identificación de la cantidad de glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas en una muestra de sangre. Esta técnica es crucial para el diagnóstico y el seguimiento de enfermedades hematológicas.

#### II. Fundamentos teóricos

La tinción de Wright: es una técnica de tinción empleada en hematología para colorear células sanguíneas y facilitar su observación al microscopio. La base teórica de la tinción de Wright se fundamenta en la interacción de los colorantes con los componentes celulares, lo que permite distinguir entre diferentes tipos de células sanguíneas. La tinción de Wright utiliza una mezcla de colorantes ácidos y básicos, como la eosina y el azul de metileno, qué juntos proporcionan una coloración diferencial de los componentes celulares. La eosina tiñe los componentes ácidos de las células, como los gránulos en los glóbulos blancos y los eritrocitos, mientras que el azul de metileno tiñe los componentes básicos, como el núcleo de

las células y los gránulos en los glóbulos blancos.

### III. Equipos / Materiales / Reactivos

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Microcentrífuga	Rev./minut.	
2	Microscopio óptico		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Lanceta	Punzo cortante	
2	Algodón	Asepsia	
3	Papel lente	90°	
4	Plastilina	Sellador	
5	Gotero	Medidor (escala)	
6	Lamina portaobjeto		

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Capilares cintillos rojos	Heparinizados	
2	Colorante Wright		
3	Agua tamponada		
4	Aceite de inmersión		
5	Alcohol isopropílico		

## IV. Indicaciones y procedimientos

Indicaciones:

- Los estudiantes deben seguir las medidas de bioseguridad al tomar muestras de sangre y aplicar correctamente los pasos en el uso del colorante para obtener una coloración adecuada.
- Escribe tus respuestas con una letra clara y sin correcciones.
- Emplea láminas limpias sin residuos de polvo o grasa para una correcta extensión sanguínea.
- Realiza la toma de muestra sanguínea en parejas.

#### **Procedimientos:**

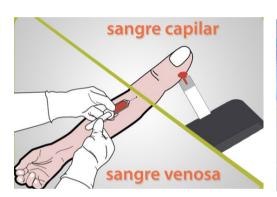
#### Preparación de la toma de muestra capilar

- Lava tus manos con agua y jabón.
- Seca tus manos con una toalla limpia.
- Reúne todos los materiales necesarios, como lancetas, dispositivo de punción.
- Elige el dedo adecuado para la punción (generalmente el dedo medio o anular).
- Masajea el dedo suavemente para aumentar el flujo sanguíneo.
- Limpia el área con alcohol o una solución desinfectante y deja secar al aire.
- Presiona suavemente el dedo desde la base hasta la punta para obtener una gota de sangre.
- Deposita la gota de sangre en la lámina portaobjetos.
- Después de obtener la muestra, presiona el sitio de punción con un algodón limpio para detener el sangrado.

#### Procedimiento para la coloración Wrigth

- Con la ayuda de otro portaobjeto realiza el frotis sanguíneo como indica la imagen.
- Coloca el frotis sanguíneo en una varilla para colorear.

- Cubre la muestra fijada con la solución de tinción de Wright y déjala actuar durante el tiempo recomendado, generalmente entre 2 y 5 minutos.
- Después los 5 minutos agregar a la lámina agua tamponada y espera 3 minutos más.
- Enjuaga el portaobjetos suavemente con agua corriente para eliminar el exceso de tinción.
- Observa las células sanguíneas teñidas bajo el microscopio utilizando objetivos de bajo y alto aumento.





#### V. Conclusiones

1	 	 	 	
2.				

## VI. Sugerencias / recomendaciones

Mantener las medidas de bioseguridad

## Cuarta Unidad

Enteroparásitos e histoparásitos

## Semana 13: Sesión 2

## Técnica directa en heces. Técnicas para la búsqueda de protozoos

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 4
Nombres v apellido:	s:	

#### I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante identifica la presencia de protozoos o sustancias en las heces para el diagnóstico de diversas enfermedades gastrointestinales.

#### II. Fundamentos teóricos

Observación macroscópica de la muestra: una vez recibida la muestra, es necesario examinar sus características físicas como la consistencia (dura, pastosa, líquida, etc.), forma, color (amarillo, negro, etc.), olor (fétido, rancio, pútrido, etc.), y la presencia de moco, sangre, segmentos de tenías, nematodos adultos (como Enterovirus, Áscaris, etc.). Estas características se registran en la ficha correspondiente a cada muestra. Los parásitos observados a simple vista deben ser colocados en suero fisiológico, alcohol al 70 % o formol al 10 % para su posterior identificación.

#### III. Equipos / Materiales / Reactivos

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Microscopio	Con objetivo de 10 y 40	

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Laminas portaobjeto		
2	Laminas cubreobjeto		
3	Guantes de látex		
4	Mascarilla		
5	Baguetas o mondadientes		
6	Algodón		

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
	Suero fisiológico o		
1	solución de lugol		
	parasitológico		
2	Alcohol al 50 %		
3	Lejía		

#### 3.4. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
	Muestra biológica		
1	(heces) resiente so		
ı	conservadas en formol		
	al 10 %		

## IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Utiliza las medidas de bioseguridad.

- Sigue las indicaciones de la guía práctica.
- Usa guantes al manejar, recibir y procesar las muestras frescas.
- Descartar rápidamente el material fresco o fijarlo, en caso de conservación.
- Al finalizar la práctica limpia y guarda todos los materiales utilizados.
- Implementa las medidas de seguridad biológica al manipular muestras de heces para prevenir la contaminación.
- Utiliza correctamente el material de vidrio.

#### **Procedimientos:**

- Si la muestra es fresca, coloca una gota de suero fisiológico en un portaobjetos y, usando una varilla o mondadientes, toma una pequeña porción de heces para emulsionarla en la gota de suero fisiológico. Procura que la preparación no sea demasiado espesa.
- Coloca una laminilla de vidrio con la muestra y observa en el microscopio utilizando objetivos de aumento de 10 y luego de 40 x.
- Este procedimiento facilita la observación de trofozoítos de amebas, flagelados y ciliados en movimiento, así como larvas de helmintos, aunque estos pueden parecer incoloros. También es posible observar quistes y huevos.
- Si la muestra está conservada en formol, sal o es fresca, se repite el proceso de preparación utilizando una gota de *Lugol*, que colorea los quistes, huevos y larvas, además de resaltar algunas características morfológicas que facilitan su identificación.

#### V. Conclusiones

5.1.				

2			
	 	 	 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·

## VI. Sugerencias / recomendaciones

Aplica las medidas de bioseguridad

## Semana 14: Sesión 2

## Técnica directa en heces. Técnica para la búsqueda de helmintos

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 4
Nombres v anellido	۲.	

#### I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante identifica la presencia de los helmintos o sustancias en las heces para el diagnóstico de diversas enfermedades gastrointestinales.

#### II. Fundamentos teóricos

Observación macroscópica de la muestra: una vez recibida la muestra, es importante examinar sus características físicas como la consistencia (dura, pastosa, líquida, etc.), forma, color (amarillo, negro, etc.), olor (fétido, rancio, pútrido, etc.), y la presencia de moco, sangre, segmentos o proglótides de tenías, así como nematodos adultos (como Enterovirus, Áscaris, etc.). Estas características se registran en la ficha correspondiente a cada muestra. Los parásitos identificados a simple vista deben ser transferidos a suero fisiológico, alcohol al 70 % o formol al 10 % para su posterior análisis e identificación.

#### III. Equipos / Materiales

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Microscopio	Con objetivo de 10 y	
'	Microscopio	40	

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Laminas portaobjeto		
2	Laminas cubreobjeto		
3	Guantes de látex		
4	Mascarilla		
5	Baguetas o mondadientes		
6	Algodón		

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
	Suero fisiológico o		
1	solución de lugol		
	parasitológico		
2	Alcohol al 50 %		
3	Lejía		

#### 3.4. Reactivos

Íten	n R	Reactivo		Características	Cantidad
1	Muestra	biológi	са		
1	(heces)	resientes	0		

conservadas en formol	
al 10 %	

#### IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Aplica las medidas de bioseguridad.
- Sigue las indicaciones de la guía práctica.
- Siempre utiliza guantes al obtener, recibir y manejar las muestras frescas.
- Descarta rápidamente el material fresco o fijar en caso de conservación.
- Al finalizar la práctica limpia y guarda todos los materiales utilizados.
- Implementa las precauciones de seguridad biológica al manipular muestras de heces para prevenir la contaminación.
- Utiliza correctamente el material de vidrio.

#### **Procedimientos:**

- Si la muestra es fresca, deposita una gota de suero fisiológico en un portaobjetos y utiliza una varilla o mondadientes para tomar y emulsionar suavemente una pequeña porción de heces en la gota de suero fisiológico. Asegúrate de que la preparación no sea demasiado espesa.
- Coloca una laminilla de vidrio con la muestra y observa en el microscopio utilizando objetivos de aumento de 10 y luego de 40 x.
- Este procedimiento permite la visualización de trofozoítos de amebas, flagelados y ciliados en movimiento, así como larvas de helmintos, aunque pueden parecer incoloros. También se pueden identificar quistes y huevos.

- Si la muestra está preservada en formol o sal, o es fresca, se repite el proceso de preparación usando una gota de Lugol, que coloreará los quistes, huevos y larvas, además de resaltar algunas características morfológicas que facilitan la identificación.

Conc	clusiones
5.1.	
5.2.	
0.2.	

## VI. Sugerencias / recomendaciones

٧.

Aplica las medidas de bioseguridad

## Semana 15: Sesión 2

# Método concentrado de Faust. Reconocimiento de técnicas para la búsqueda de parásitos

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 4
Nombres y apellida	os:	

#### I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante reconoce los parásitos intestinales presentes en las heces, como Giardia lamblia, Entamoeba histolytica, Ascaris lumbricoides, entre otros, siendo fundamental para el diagnóstico y tratamiento de infecciones parasitarias intestinales.

#### II. Fundamentos teóricos

El método de Faust: también conocido como técnica de sedimentación, es una técnica de laboratorio utilizada para la detección de parásitos intestinales en muestras de heces. El fundamento del método de Faust se basa en la sedimentación de los huevos y quistes de parásitos en una solución salina saturada, lo que permite su concentración y posterior observación al microscopio.

#### III. Equipos / Materiales

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Microscopio		
2	Centrifuga		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Laminas portaobjeto		
2	Laminas cubreobjeto		
3	Gasa		
4	Tubos de ensayo		
5	Gradilla		
6	Embudo		
7	Bagueta		

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Solución acuosa de		
'	sulfato de zinc		
2	Agua destilada		
3	Lugol		

#### 3.4. Reactivos

Ítem	Reactivo		Características	Cantidad
1	Muestra	biológica		
'	(heces)			

## IV. Indicaciones y procedimientos

Indicaciones:

- Utiliza el material de barrera, como son guantes, guardapolvo, mascarilla, cofia y gorro.
- Aplica las medidas de bioseguridad en el manejo de las muestras de heces para evitar accidentes de trabajo.
- Utiliza correctamente el material de vidrio.
- El material fecal a utilizar debe ser fresco.
- Traer la muestra en un frasco de boca ancha.
- Utiliza láminas, laminillas, porta y cubreobjetos.

#### **Procedimientos:**

#### Preparación del sulfato de zinc

- Pesar 330 gramos de sulfato de zinc y disolverlos en 1000 mililitros de agua destilada.
- La proporción variará de acuerdo a la cantidad de solución a utilizar.
- El sulfato debe tener una densidad de 1.18 para asegurar que los huevos y quistes se depositen en la superficie tras el proceso de centrifugado.

#### Preparación del sulfato de zinc

- En un recipiente, toma una muestra de heces del tamaño de una aceituna y mézclala bien con agua destilada.
- En un tubo de ensayo filtrar dos veces la muestra, colocando en el embudo una gasa doblada en cuatro, así se evita el paso de restos de comida.
- Centrifuga el filtrado a 2500 rpm (revoluciones por minuto).
- Decanta el líquido sobrenadante y completa con la solución de sulfato de zinc en la misma cantidad de la anterior para evitar derrames.

- Llevar la muestra nuevamente a centrifugar a 1500 rpm.
- Abre la centrífuga con precaución para no perturbarlo, luego retira las partículas que se encuentran en la superficie del tubo de ensayo.
- Utilizando un asa de 5 mm, recoge el líquido sobrenadante y colócalo en un portaobjetos. Agrega una gota de *Lugol* para teñir los huevos o quistes, luego cubre con un cubreobjetos y observa bajo el microscopio.

•	Cond	ciusiones			
	5.1.		 	 	 
	5.2.				

## VI. Sugerencias / recomendaciones

Mantener las medidas de bioseguridad

## Semana 16: Sesión 2

## Técnica de gota gruesa

Sección:	Fecha:/	Duración: 80 minutos
Docente: Dra. T.M.	Renee Orrego Cabanillas	Unidad: 4
Nombres y apellido	os:	

#### I. Propósito

Al término de la sesión, el estudiante identifica la especie exacta de Plasmodium presente en la muestra de sangre, la cual es importante para determinar el tratamiento adecuado y facilitar recuperación del paciente.

#### II. Fundamentos teóricos

La preparación de gota gruesa: es una técnica utilizada para estudiar parasitosis en sangre, como las diferentes especies de Plasmodium, que causan la malaria, y para identificar diversas especies de Trypanosoma (T. gambiense y T. rhodesiense, responsables de la enfermedad del sueño o tripanosomiasis africana; T. cruzi, causante de la enfermedad de Chagas).

#### III. Equipos / Materiales

#### 3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Características	Cantidad
1	Microscopio		
2	Mechero de bunsen		
3	Mechero de alcohol		

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Características	Cantidad
1	Laminas portaobjeto		
2	Coloreador		
3	Hisopos		
4	Asa de Kolle		

#### 3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Solución acuosa de		
'	sulfato de zinc		
2	Agua destilada		
3	Lugol		

#### 3.4. Reactivos

Ítem	Reactivo	Características	Cantidad
1	Colorante Wrigth		
2	Colorante Giemsa		
3	Aceite de inmersión		

## IV. Indicaciones y procedimientos

#### Indicaciones:

- Utiliza el material de barrera, como son guantes, guardapolvo, mascarilla, cofia y gorro.
- Aplica las medidas de bioseguridad durante la toma de muestras sanguíneas para evitar accidentes laborales, y sigue las normas generales de asepsia y antisepsia.
- Utiliza la guía práctica para aplicar la técnica correctamente.

Utiliza el microscopio para la observación de los parásitos.

#### **Procedimientos:**

#### Preparación de la toma de muestra capilar

- Lava tus manos con agua y jabón.
- Seca tus manos con una toalla limpia.
- Reúne todos los materiales necesarios, como lancetas y dispositivo de punción.
- Elige el dedo adecuado para la punción (generalmente el dedo medio o anular).
- Masajea el dedo suavemente para aumentar el flujo sanguíneo.
- Limpia el área con alcohol o con una solución desinfectante y deja secar al aire.
- Presiona suavemente el dedo desde la base hasta la punta para extraer una gota de sangre.
- Deposita la gota de sangre en la lámina portaobjetos.
- Después de obtener la muestra, presiona el sitio de punción con un algodón limpio para detener el sangrado..

#### Preparación de la gota gruesa

- Deposita una gota de sangre en el centro de un portaobjetos limpio.
- Utiliza un segundo portaobjetos para extender la gota de sangre, formando un círculo de aproximadamente 1 cm de diámetro.
- Deja secar la muestra a temperatura ambiente.
- Cubre la muestra con una solución de tinción de Wright o Giemsa y déjala actuar durante el tiempo recomendado, generalmente entre 10 y 15 minutos.
- Examina el portaobjetos bajo el microscopio utilizando objetivos

- de bajo y alto aumento.
- Busca la presencia de parásitos de Plasmodium en la muestra, identificando sus características morfológicas y contando el número de parásitos por campo de visión.

Conc	ciusiones
5.1.	
5.2.	

### VI. Sugerencias / recomendaciones

Mantener las medidas de bioseguridad

## Referencias

- Gutiérrez, S. & Arróspide, N. (2003). Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de Malaria. Instituto Nacional de Salud. INS
- Koneman E., Winn, W., Allen S., Janda, W., Procop, G., Schckenberger, P. & Woods, G. (2017). Koneman. Diagnóstico. Microbiológico. Texto y Atlas en Color (7ª ed.) Editorial Médica Panamericana
- López, J. & Velasco, R. (2012). Operar instrumento y equipo de laboratorio.

  Centro de estudios de bachillerato 6/12 20DBO0002H Villa de Etla
- Llorente, M., Clavel, A., Varea, M., Olivera, S., González-Asún, V, Castillo, F., Rubio, M. & Gómez-Lus, R. (2001). Evaluación de un test de inmunocromatografía (Crypto-Strip) para la detección de Cryptosporidium Parvum en muestras fecales Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Zaragoza
- Organismo Andino de Salud Convenio Hipólito Unanue. (2018). <u>Parte 1:</u>

  Manual de actualización de la Baciloscopia ORAS CONHU
- Unknown (2012). ¿Qué son las pruebas rápidas? Pruebas rápidas on line
- Schlegel, H. (1997). Microbiología General Ediciones Omega S.A.