



# MICOLOGÍA

---

## Guía de Laboratorio

---



**Universidad Continental**

Material publicado con fines de estudio

Código: ASUC01692



## **Presentación**

Es importante porque tiene la misión de dirigir y orientar al estudiante durante el desarrollo de la asignatura, las guías ayudan a los estudiantes a solucionar sus problemas que puedan presentarse durante el avance, ella nos señala cada paso que desarrollemos durante el presente semestre académico.

La Guía de Micología es un instrumento de apoyo, para poder desarrollar las practicas guiadas de los estudiantes, el cual nos proporciona los pasos que desarrollaremos en cada procedimiento, esta puede tener vacíos, los cuales se resolverán en el transcurso de las sesiones, es en tanto un instrumento de importancia para nuestros estudiantes.

El estudiante será capaz de procesar e interpretar los resultados microbiológicos de hongos patógenos que causan enfermedades en el ser humano; así como de realizar la programación y el mantenimiento de los equipos correspondientes en un laboratorio clínico. Describiendo, infiriendo la estructura y característica de cada uno de ellos, siguiendo pasos a paso en cada sesión y unidad con sus respectivos procedimientos de aislamiento e identificación de cada uno de ellos para poder llegar a un diagnóstico adecuado y poderle brindar al clínico los resultados más propicios colaborando con el bienestar de los pacientes.

Durante el desarrollo de las siguientes prácticas, el estudiante deberá llevar consigo siempre la guía, para poder seguir secuencialmente cada uno de los pasos, de esta manera será un soporte durante el desarrollo de su aprendizaje constante y alcanzar el propósito asignado al culminar el ciclo.

*El autor*



## Índice

VISIÓN	2
MISIÓN	2
PRESENTACIÓN	3
ÍNDICE	4
<b>Primera unidad</b>	6
Semana 1 – Sesión 2	6
Observación de colonias fúngicas y preparaciones microscópicas	6
Semana 2 – Sesión 4	9
Preparación de reactivos, colorantes y medios de cultivos	9
Semana 3 – Sesión 6	13
Observación de estructuras fúngicas	13
Semana 4 – Sesión 8	16
Manejo de claves de identificación de hongos, aislamiento de hongos de fuentes naturales	16
<b>Segunda unidad</b>	19
Semana 5 – Sesión 10	19
Examen de cultivos (fragmentación del talo, cinta adhesiva, microcultivos)	19
Semana 6 – Sesión 12	22
Identificación de levaduras (tubo germinativo, morfología y fisiología), procesamiento de microcultivos.	22
Semana 7 – Sesión 14	26
Identificación de <i>malassezia sp.</i>	26
<b>Tercera unidad</b>	30
Semana 9 – Sesión 18	30
Examen e identificación de cultivos de dermatofitos	30
Semana 10 – Sesión 20	33
Examen e identificación de cultivos de hongos demateaceos, <i>sporothrix schenckii</i>	33
Semana 11 – Sesión 22	36
Examen de preparaciones microscópicas de <i>h. capsulatum</i> y <i>p. brasiliensis</i>	36



Semana 12 – Sesión 24	38
Aislamiento de hongos de fuentes naturales	38
<b>Cuarta unidad</b>	
Semana 13 – Sesión 26	42
Examen y procesamiento de muestras clínicas	42
Semana 14 – Sesión 28	45
Susceptibilidad Antifúngicos por disco difusión (m44-a-2004)	45
Lista de referencias	48
Anexos	49



## Primera Unidad

### Semana 1 – Sesión 1

# OBSERVACIÓN DE COLONIAS FÚNGICAS Y PREPARACIONES MICROSCÓPICAS

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 1	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

#### 1. Propósito:

Inspeccionar la morfología y estructura de los hongos sobre láminas patrón y medios de cultivo.

#### 2. Fundamento Teórico

En el área de Microbiología los hongos son observados de dos maneras, bajo el microscopio (microscópicamente) y como una colonia sobre una placa de agar (macroscópicamente). Indicado en la PPT de la semana.

#### Figura 1.

#### Características macroscópicas de las colonias



Forma	Elevación	Margen o borde	Superficie	Pigmento anverso
circular 	plana y extendida 	liso o entero 	plegada 	rojo 
irregular 	elevada y limitada 	ondulado 	sectorizada 	violeta 
filamentosa 	convexa umbilicada 	lobado 	cerebriformes 	amarillo 
radiocal 		destacado 	con surcos radiales 	marcón 

Fuente: Extraído de <https://m.exam-10.com/biolog/23362/index.html?page=7>

### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

#### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Cultivos en placas de levaduras y mohos	Placas descartables	Varios
2	Láminas montadas con microcultivo de hongos	Láminas de vidrio	Varios

### 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.

### 5. Procedimientos:

- Realizar el estudio macroscópico y microscópico con objetivos de 10x, 20x y 40x de aumento, localizando y diferenciando las principales estructuras fúngicas.

### 6. Resultados

- .....  
.....  
.....



.....

- .....  
.....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....  
.....

**7. Conclusiones**

.....  
.....  
.....  
.....

**8. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....





## Primera Unidad

### Semana 2 – Sesión 1

#### PREPARACIÓN DE REACTIVOS, COLORANTES Y MEDIOS DE CULTIVO

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 1	Fecha:...../...../ Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

#### 1.-Propósito:

- Adiestrar en la preparación de los diferentes medios de cultivo utilizados en micología.
- Aprender los procedimientos de preparación de colorantes y reactivos usados en micología.

#### 2.-Fundamento Teórico

- El estudiante debe de revisar el siguiente enlace:  
<https://www.ugr.es/~cjl/medios%20de%20cultivo.pdf>

#### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

##### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1

##### 3.2. Materiales



Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Tubos con tapa rosca	vidrio	1
2	Probeta	vidrio	1
3	Matraz	vidrio	1
4	Beaker	vidrio	1
5	Papel filtro	circular	1
6	Rejilla de asbesto	metal	1
7	Trípode	metal	1

### 3.3. Equipos

Ítem	Equipos	Característica	Cantidad
1	Mechero de bunsen	metal	1
2	Autoclave	metal	1

### 3.4. Insumos

Ítem	Insumos	Característica	Cantidad
1	Peptona	proteína	10g
2	Glucosa	carbohidrato	400 ml
3	Agar micosel o agar micobiotic	Medio selectivo	36 g
4	Avena	proteina	40g
5	Papa	carbohidrato	20g
6	Granos de arroz blanco no enriquecido	carbohidrato	8g
7	Harina de maiz	carbohidrato	40g
8	Arroz no fortificado	carbohidrato	200g
9	Agua destilada	diluyente	1000 ml
10	Glicerina		400 ml
11	Fenol	antiséptico	20 g
12	Azul de metileno	colorante	2g
13	Azul de algodón o sol. Acuosa 1%	colorante	2g
14	Hidróxido de potasio	aclarante	20g
15	Tween 80°	inhibidor	50ml

### 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.

### 5. Procedimientos:

#### Medios de cultivo



1. Recuperar hongos que se encuentren en muestras contaminadas con bacterias u hongos ambientales.
2. Con una probeta llenar 200ml de agua destilada en un matraz agregarle 36 gramos del agar y completar con 800ml de agua destilada, hervir hasta disolver el medio completamente. Ajustar el pH a  $6.5 \pm 0.2$  y dispensar porciones en placas Petri de 20 ml. O en tubos tapa rosca, esterilizar en una autoclave durante 15 min. a 121 °C. o 1.5 atmosferas después inclinar los tubos hasta que el agar se solidifique.

#### AGAR PAPA DEXTROSA

3. Medio que estimula la formación de conidios, como *T. rubrum*, *M. audouinii*, *M. canis*. También utilizado en la realización de micro cultivos o cepario.
4. Lavar, pelar y cortar la papa en trozos pequeños, agregar agua y autoclavar. Colar con gasa estéril, agregar el agar y la glucosa, hervir hasta disolver. Llevar el volumen a 1000 ml con agua destilada si fuera necesario. Dispensar en tubos tapa rosca limpios. Esterilizar en autoclave e inclinar los tubos hasta que el agar se solidifique.

#### AGAR HARINA DE MAIZ – TWEEN 80 (Agar morfología)

5. Para la identificación de la morfológica de levaduras.
6. Mezclar la harina de maíz con el agua y calentar por 1 h a 65 °C., filtrar a través de gasa esteril y luego con papel de filtro Whatman nº 2. Adicionar el agar, hervir. Enrazar a 1000 ml con agua destilada, adicionar el tween 80 y homogenizar. Esterilizar en autoclave. Dispensar en placas Petri estériles.
7. Deshacer el fenol previamente a 60 °C. en baño maría y mezclar con el ácido láctico, glicerina y el agua, luego agregar el azul de algodón (azul de Poirrier y azul de anilina son análogos al azul de algodón).

#### HIDROXIDO DE POTASIO 20%

8. Aclarante utilizado en la detección de estructuras fúngicas en muestras por examen microscópico. Su concentración varía entre el 10 y 40%.



9. Los cristales de KOH se añaden lentamente en agitación hasta su completa disolución.

**6. Resultados**

- .....  
.....  
.....  
.....
  
- .....  
.....  
.....  
.....
  
- .....  
.....  
.....  
.....

**7. Conclusiones**

.....  
.....  
.....  
.....

**8. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Primera Unidad

### Semana 3 – Sesión 1

## OBSERVACIÓN DE ESTRUCTURAS FÚNGICAS

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 1	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

### 1.-Propósito:

Identificar la morfología microscópica de algunos hongos y tipo de conidiogénesis estudiados en micología médica.

### 2.-Fundamento Teórico

Repasar las PPT y grabación de la clase.

### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

#### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1



### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Láminas con microcultivos de diferentes mohos	Láminas de vidrio	Varios
2	Láminas con levaduras de diferentes géneros	Láminas de vidrio	Varios

### 3.3. Equipo

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	electrónico	1

### 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.

### 5. Procedimientos:

- Realizar el estudio macroscópico y microscópico con objetivos de 10x, 20x y 40x de aumento, localizando y diferenciando las principales estructuras fúngicas.

### 6. Resultados

- .....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....

### 7. Conclusiones

.....  
.....  
.....



.....  
.....

**8. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Primera Unidad

### Semana 4 – Sesión 1:

# MANEJO DE CLAVES DE IDENTIFICACIÓN DE HONGOS, AISLAMIENTO DE HONGOS DE FUENTES NATURALES

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 1	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

#### 1.-Propósito:

Conocimiento y práctica del manejo de claves o llaves de identificación de hongos de importancia médica.

#### 2.-Fundamento Teórico

Luego de identificar estructuras somáticas y reproductivas de los hongos, así como también la morfología macroscópica de sus colonias, se debe recurrir al manejo de claves o llaves de identificación de hongos.

#### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

##### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1

##### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
------	----------	----------------	----------





1	Láminas con microcultivos de diferentes mohos	Láminas de vidrio	Varios
2	Láminas con levaduras de diferentes géneros	Láminas de vidrio	Varios

### 3.3. Equipo

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	metal	Uno

### 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.
- Uso de claves o llaves de identificación de hongos de importancia médica,

### 5. Procedimientos:

- Examinar macroscópicamente una colonia fúngica problema.
- Examinar microscópicamente una preparación con azul de lactofenol, de la misma colonia.
- De acuerdo a sus observaciones anteriores proceder a emplear la llave de identificación de géneros de hongos anexa.

### 6. Resultados

- .....
- .....
- .....



.....

**7. Conclusiones**

.....  
.....  
.....  
.....

**8. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Segunda Unidad

### Semana 5 – Sesión 1

#### EXAMEN DE CULTIVOS (FRAGMENTACIÓN DEL TALO, CINTA ADHESIVA, MICROCULTIVOS)

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente: .	Nombres : .....
Unidad: 2	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

#### 1.-Propósito:

Conocer y comparar las ventajas y desventajas del montaje por fragmentación del talo, con cinta scotch y microcultivos para el examen de los crecimientos fúngicos.

#### 2.-Fundamento Teórico:

El estudiante deberá de venir a las prácticas habiendo repasado la clase de la semana.

#### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

##### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	KN 95	1
4	Lentes protectores	Visores	1



### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Asas micológicas	metal	Dos
2	Láminas portaobjetos	Láminas de vidrio	Varios
3	Láminas cubreobjetos	vidrio	Cinco
4	Pinzas	Metal	Dos
5	Cinta scotch	Grueso	Uno
6	Placa	Vidrio	Cinco
7	Papel filtro	Papel	Uno
8	Papel	Hoja	Uno
9	Varillas de vidrio	vidrio	Dos

### 3.3. Equipo

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	Metal	1
2	Mechero	Metal	1

### 3.4. Insumos

Ítem	Insumos	Característica	Cantidad
1	Azul de lactofenol	Líquido	200 ml
2	Lactofenol de Aman	Líquido	200 ml

## 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.
- Seguir en orden los procedimientos

## 5. Procedimientos:

### 5.1. Montaje por fragmentación del talo:

- a. Colocar una gota de azul de lactofenol al centro de la lámina portaobjetos limpia.
- b. Con el asa de siembra inocular, este después de haber tomado del medio de cultivo una colonia específica entre la mitad del centro y borde de la colonia. Colocar el material en el lactofenol.
- c. Con el asa, homogenizar suavemente la porción de colonia hasta diseminarla finamente en el azul de lactofenol.



- d. Colocar el cubreobjetos en un ángulo de 45° por el borde del azul de lactofenol, y presionar suavemente.
- e. Sellar los bordes del cubreobjetos con esmalte de uñas para preservar el montaje.

5.2. Microcultivos:

Recordar la clase de la semana y poner en práctica.

**6. Resultados**

- .....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....

**7. Conclusiones**

.....  
.....  
.....  
.....

**8. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....



## Segunda Unidad

### Semana 6 – Sesión 1

# IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS (TUBO GERMINATIVO, MORFOLOGÍA FISIOLÓGICA), PROCESAMIENTO DE MICROCULTIVOS

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 2	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

### 1.-Propósito:

Conocer, manejar e identificar las levaduras de importancia médica.

### 2.-Fundamento Teórico:

La identificación de levaduras de importancia médica cada vez se hace más necesaria, por ello recurrimos a pruebas que nos garanticen su correcta identificación. Entre estas pruebas tenemos a la prueba del tubo germinativo, estudio de la morfología y pruebas fisiológicas entre otras.

### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

#### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1



### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Plasma o suero estéril (alícuotas de 0.5 ml almacenados a -20°C)	nutriente	cinco
2	Asas Khole	nitron	cinco
3	Láminas cubreobjetos	vidrio	Diez
4	Láminas portaobjetos	vidrio	Diez
5	Tubos de 16 x 150 mm	vidrio	cinco
6	Agua estéril	liquido	200ml
7	Pipetas de rango múltiple de 50 – 200 ul	Equipo	cinco
8	Punteras	material	Diez

### 3.3. Equipo

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Baño María a 35°C	Equipo	Uno
2	Cámara de incubación	Equipo	Uno

### 3.4. Insumos

Ítem	Insumos	Característica	Cantidad
1	Organismos control (C. albicans, C. tropicalis)	Cepa	Uno
2	Harina de Maiz con Tween 80 (AHM-T80)	Medio de cultivo	Cinco
3	Ampolla de API C Medium	Insumo	Cinco
4	Galería API 20 C AUX	Insumo	Cinco

## 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.

## 5. Procedimientos:

### 5.1. Tubo germinativo:

- Tocar ligeramente una colonia con el asa de Khole.
- Suspender las levaduras en el plasma o suero.
- Incubar en baño maría a 35 °C por 2.5 h.
- Colocar 2 a 3 asadas de la suspensión sobre un portaobjetos rotulado con el número de muestra.
- Cubrir la suspensión con laminilla cubreobjetos.
- Examinar a 40x y 100x para la detección o ausencia de tubos germinativos.



5.2. Morfología:

- a. Preparar placas con Agar Harina de Maiz con Tween 80 (AHM-T80).
- b. Con un lápiz para vidrio dividir la placa en 4 sectores y utilizar cada sector rotulando con el número de muestra de cada levadura aislada.
- c. Con una aguja de inoculación tocar ligeramente la colonia a probar, practicar dos estrías de aproximadamente 1.5 cm. de longitud separadas por 1 cm., sin excavar el medio.
- d. Después de flamear y enfriar la aguja de inoculación, practicar una estría en forma de "S" cruzando las dos estrías realizadas anteriormente, el aspecto final del preparado es similar al signo de dólares "\$".
- e. Finalmente cubrir el preparado con una laminilla cubreobjetos previamente flameada y enfriada.
- f. Incubar la placa a 28 °C y examinar a 24, 48 y 72 h. bajo el microscopio retirando la tapa, empleando objetivo de bajo (10x) y alto (40x) poder.

5.3. Fisiología:

- a. Preparar una suspensión de la levadura problema correspondiente al tubo 2 de la escala de Mc. Farland.
- b. Verter 5 ml de agua destilada estéril en la cámara de incubación.
- c. Tomar 100 ul de la suspensión e inocular la ampolla de API C Médium, agitar y dispensar aproximadamente 197 ul en cada cúpula de la galería API 20 C AUX, hasta su llenado horizontal no exceder.
- d. Colocar la galería dentro de la cámara de incubación y tapar.
- e. Incubar a temperatura ambiente 48 – 72 horas.
- f. Registrar las lecturas de las 48 y 72 hrs. Respectivamente en la hoja de resultados.

Continuar con el procesamiento de los mohos que han fructificado de la práctica anterior.

**6. Resultados**

- .....
- .....
- .....
- .....





- .....  
.....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....  
.....

### 7. Conclusiones

.....  
.....  
.....  
.....

### 8. Sugerencias y /o recomendaciones

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Segunda Unidad

### Semana 7 – Sesión 1

#### IDENTIFICACIÓN DE MALASSEZIA SP.

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 2	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

#### 1.-Propósito:

Identificar y conocer las especies del género Malassezia.

#### 2.-Fundamento Teórico:

Las levaduras del género Malassezia son capaces de producir diferentes patologías que van desde su ubicación en la parte más superficial de la piel hasta sistémicas, por ello su identificación es importante para los clínicos. Son levaduras lipofílicas y la mayoría lipodependientes.

#### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

##### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1



### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Asas Khole	Nitron	Cinco
2	Placa petri estéril de 15 x 90 mm	Plástico	Cinco
3	Láminas cubreobjetos	Vidrio	Diez
4	Láminas portaobjetos	Vidrio	Diez
5	Tubos de 16 x 150 mm	Vidrio	Diez
6	Agua estéril	Líquido	Diez
7	Pipeta automática de 5ul	Material	Cinco
8	Punteras	Material	Diez
9	Pipetas de 5 ml estériles	Material	Cinco

### 3.3. Equipo

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Baño María a 35°C	Equipo	Uno
2	Cámara de incubación	Equipo	Uno

### 3.4. Insumos

Ítem	Insumos	Característica	Cantidad
1	Organismos control (Malassezia furfur)	cepa	Uno
2	Frasco con 60 ml de Agar Saboraud Dextrosa 2% con Cloranfenicol – Cicloheximida (ASDCC)	Medio de cultivo	Cinco
3	Tween 20, 40, 60 y 80	Inhibidores	Uno
4	Peróxido de Hidrógeno 10 vol.	Antiséptico	10ml
5	Agar esculina en tubo	Agar - inhibidor	Cinco

## 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.

## 5. Procedimientos:

### 5.1. Prueba de utilización de Tween:

- Derretir el frasco con los 60 ml. de agar y enfriarlo a 50 °C.
- Hacer una suspensión del cultivo problema en 5 ml. de agua destilada estéril, ajustar a una concentración de aproximadamente 10<sup>5</sup> células / ml.
- Coger 2 ml. de la suspensión indicada anteriormente y agregar al agar derretido.
- Mezclar vigorosamente y verter en una placa petri de 90 mm de diámetro y dejar que solidifique.



- e. Practicar sobre el agar cuatro hoyos equidistantes con la ayuda de un sacabocado de 2 mm de diámetro y luego llenarlos con 5 ul de los Tween 20, 40, 60 y 80.
  - f. Incubar por siete días a 32 °C.
  - g. Anotar el "Patrón de Tween específico" del cultivo problema, muchos aislamientos pueden darlo dentro de 2 ó 3 días de incubación.
  - h. Confrontar los resultados obtenidos con la tabla adjunta para la identificación del cultivo problema, tomado del J. Clin Microb, 2003, 41(10):4695–4699.
- 5.2. Prueba de la catalasa:
- a. Con el asa de Khole, hacer un frotis del cultivo sobre una lámina portaobjetos
  - b. Adicionar una gota de peróxido de hidrógeno 10 vol.
  - c. Prueba de hidrólisis de esculina
  - d. Con el asa de Khole, inocular el agar esculina por puntura profunda con un cultivo fresco.
  - e. Incubar por 5 días a 32 °C.
  - f. Enfocar y esquematizar láminas patrones de lesiones provenientes de Pitiriasis Versicolor.

**Tabla 1.**

TABLE 3. Physiological characteristics of *M. japonica* sp. nov. and other *Malassezia* species<sup>a</sup>

Species	Growth on SA <sup>b</sup> at 32°C	Growth on mDixon <sup>c</sup> at			Catalase reaction	Utilization of:			
		32°C	37°C	40°C		10% Tween 20	0.5% Tween 40	0.5% Tween 60	0.1% Tween 80
<i>M. japonica</i> sp. nov.	–	+	+	–	+	–	±	+	–
<i>M. slooffiae</i> <sup>d</sup>	–	+	+	+	+	± or +	+	+	–
<i>M. sympodialis</i> <sup>d</sup>	–	+	+	+	+	–	+	+	+
<i>M. furfur</i> <sup>d</sup>	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. dermatis</i>	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. globosa</i> <sup>d</sup>	–	+	± or –	–	+	–	–	–	–
<i>M. obtusa</i> <sup>d</sup>	–	+	± or +	–	+	–	–	–	–
<i>M. restricta</i> <sup>d</sup>	–	+	+	–	–	–	–	–	–
<i>M. pachydermatis</i> <sup>d</sup>	+	+	+	+	± or +	–	+	+	+

<sup>a</sup> +, positive; –, negative; ±, weakly positive.

<sup>b</sup> SA, Sabouraud dextrose agar.

<sup>c</sup> mDixon, modified Dixon agar.

<sup>d</sup> Data are from Guého et al. (7).

Fuente: Extraído de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172017000300022](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000300022)

## 6. Resultados

- .....
- .....



.....  
.....

- .....  
.....  
.....  
.....

### 7. Conclusiones

.....  
.....  
.....  
.....

### 8. Sugerencias y /o recomendaciones

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Tercera Unidad

### Semana 9 – Sesión 1:

## EXAMEN E IDENTIFICACIÓN DE CULTIVOS DE DERMATOFITOS

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 3	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

### 1.-Propósito:

Reconocer e identificar dermatofitos causantes de tiñas en nuestro país.

### 2.-Fundamento Teórico:

Los dermatofitos son un grupo de hongos causantes de la dermatofitosis, se les agrupa en tres géneros (trichophyton, epidermophyton y microsporum)

### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

#### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Asas Khole	Nitron	
2	Placa petri estéril de 15 x 90 mm	Vidrio	Cinco
3	Láminas cubreobjetos	Vidrio	Diez
4	Láminas portaobjetos	Vidrio	Diez
5	Tubos de 16 x 150 mm	Vidrio	Diez
6	Agua estéril	Líquido	100ml



7	Pipeta automática de 5ul	Equipo	Cinco
8	Punteras	Plástico	Diez
9	Pipetas de 5 ml estériles	Vidrio	Cinco

### 3.3. Equipo

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Autoclave	olla	Uno

### 3.4. Insumos

Ítem	Insumos	Característica	Cantidad
1	Cepa de <i>Microsporum canis</i>	Cepa	Uno
2	Cepa de <i>Microsporum gypseum</i>	Cepa	Uno
3	Cepa de <i>Trichophyton rubrum</i>	Cepa	Uno
4	Cepa de <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Cepa	Uno
5	Cepa de <i>trichophyton tonsurans</i>	Cepa	Uno
6	Azul de lactofenol	Colorante	10ml
7	Agar urea de Christensen	Medio de cultivo	Cinco
8	Medio arroz	Medio de cultivo	Cinco
9	Agar papa dextrosa	Medio de cultivo	Cinco

### 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.

### 5. Procedimientos:

- De las cepas suministradas realizar exámenes directos con ALF.
- Visualizar y esquematizar estructuras propias de las diferentes especies de dermatofitos.
- Inocular los dermatofitos sobre Agar urea de Christensen, Medio de arroz y Agar papa Dextrosa, registrar los resultados desde los tres días hasta las dos semanas.

### 6. Resultados

- .....
- .....
- .....
- .....



- .....  
.....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....  
.....

**7. Conclusiones**

.....  
.....  
.....  
.....

**8. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....





## Tercera Unidad

### Semana 10 – Sesión 1:

# EXAMEN E IDENTIFICACIÓN DE CULTIVOS DE HONGOS DEMATEACEOS, SPOROTHRIX SCHENCKII

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 3	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

#### 1.-Propósito:

Reconocer e identificar a mohos demateaceos de importancia médica y a *Sporothrix schenckii*.

#### 2.-Fundamento Teórico

Revisar las PPT de la clase teórica que se ubica en el aula virtual.

#### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

##### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1

##### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Asas Khole	Nitron	Cinco
2	Placa petri estéril de 15 x 90 mm	Vidrio	Cinco
3	Láminas cubreobjetos	Vidrio	Diez
4	Láminas portaobjetos	Vidrio	Diez
5	Tubos de 16 x 150 mm	Vidrio	Diez



6	Agua estéril	Líquido	100ml
7	Pipeta automática de 5ul	Equipo	Cinco
8	Punteras	Plástico	Diez
9	Pipetas de 5 ml estériles	Vidrio	Cinco

### 3.3. Insumos

Ítem	Insumos	Característica	Cantidad
1	Cepa de demateaceos	Cepa	Uno
2	Cepa de <i>Sporothrix schenckii</i>	Cepa	Uno
3	Azul de lactofenol	Colorante	10ml
4	Agar urea de Christensen	Medio de cultivo	Cinco
5	Medio arroz	Medio de cultivo	Cinco

### 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.

### 5. Procedimientos:

- De las cepas suministradas realizar exámenes directos con ALF.
- Visualizar y esquematizar estructuras propias de las diferentes especies de demateaceos y *Sporothrix schenckii*.
- Enfocar y esquematizar láminas patrones de microcultivos y cortes histológicos.

### 6. Resultados

- .....
- .....
- .....



.....  
.....

**7. Conclusiones**

.....  
.....  
.....  
.....

**8. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Tercera Unidad

### Semana 11 – Sesión 1:

## EXAMEN DE PRERACIONES MICROSCÓPICAS DE H. CAPSULATUM Y P. BRASILIENSIS

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 3	Fecha:...../...../.....Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

### 1.-Propósito:

Reconocer e identificar a H. capsulatum y P. brasiliensis

### 2.-Fundamento Teórico

La Histoplasmosis es una infección aguda, subaguda ó crónica producida por especies del género Histoplasma. Revisar clase de la semana.

### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

#### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Montaje permanente de cultivos de H. capsulatum	Lamina preparada	Cinco
2	Cortes histológicos de H. capsulatum	Lamina preparada	Cinco



3	Montaje permanente de cultivos de <i>P. brasiliensis</i>	Lamina preparada	Cinco
4	Cortes histológicos de <i>P. brasiliensis</i>	Lamina preparada	Cinco

**3. Indicaciones/instrucciones:**

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.

**4. Procedimientos:**

- Enfocar y esquematizar láminas patrones de microcultivos y cortes histológicos.

**5. Resultados**

- .....  
.....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....  
.....

**6. Conclusiones**

.....  
.....  
.....  
.....

**7. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Tercera Unidad

### Semana 12 – Sesión 1:

#### AISLAMIENTO DE HONGOS DE FUENTES NATURALES

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 3	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

#### 1.-Propósito:

Conocer y utilizar las diferentes técnicas empleadas en la recuperación de hongos a partir de fuentes naturales.

#### 2.-Fundamento Teórico:

Los hongos son organismos cosmopolitas, se encuentran sobre una gran diversidad de hábitat (suelo, aire, agua, plantas, animales, etc.).

Los hongos por su hábitat natural específico, se clasifican como geofílicos, acuáticos, zoofílicos, fitofílicos o antropofílicos. Se les puede aislar de fuentes no naturales como superficies de mesas, catéteres, estufas, aire acondicionado, microscopios, entre otros.

Existen diversidad de técnicas que nos permiten aislar diferentes especies de hongos a partir de variados sustratos. En determinados casos es necesario utilizar medios especiales que faciliten el aislamiento de dichos hongos.



### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

#### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Tubérculos y frutas contaminadas	Colonias naturales	Cinco
2	Tierra de jardín	Tierra natural	200g
3	Solución salina fisiológica	Líquido con electrolitos	200ml
4	Agua destilada	Líquido	200ml
5	Tubos de 13 x 100 mm	Vidrio	Cinco
6	Pipetas	Vidrio	Cinco
7	Asas de Khole	Nitron	Cinco
8	Gradilla	Plástico	Cinco
9	Placas petri	Vidrio	Cinco

#### 3.3. Equipo

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	metal	Uno

#### 3.4. Insumos

Ítem	Insumos	Característica	Cantidad
1	A. Micobiotic	Medio de cultivo	Cinco
2	A. Papa dextrosa	Medio de cultivo	Cinco
3	A. Extracto de malta-cloranfenicol	Clado de cultivo	Cinco

### 4. Indicaciones/instrucciones:

- Mantener las normas básicas de bioseguridad.

### 5. Procedimientos:

#### 5.1. Inoculación directa

- a. Con el asa micológica coger una pequeña porción de la muestra, proveniente de fruta o tubérculo infectado por hongos.
- b. Inocular por puntura con el asa micológica sobre el agar papa dextrosa.
- c. Incubar a temperatura ambiente por una semana.

#### 5.2. Exposición de placas al medio ambiente



- a. Las placas de A. Sabouraud y micobiotic exponerlas al medio ambiente elegido, por 15 minutos.
- b. Incubar a temperatura ambiente por una semana.

5.3. Técnica de dilución en placa

- a. Se usa 1 ml. de suspensión como inóculo sobre agar extracto de malta-cloranfenicol en placa.
- b. 1 ml de dil. 2 en 9 ml de agua estéril =  $1/1000 \times 1/10$ , dilución 1: 10,000
- c. Cuando las placas y el agua destilada estéril estén preparadas, hacer las diluciones prescritas. Agitar cada una de las suspensiones vigorosamente para romper agregados de suelo y extraer la muestra rápidamente cuando la suspensión esté en movimiento.
- d. Dispensar la dilución final, 1 ml por placa, de 4-6 placas.
- e. Después de 3-6 días de periodo de incubación a temperatura ambiente, contar las colonias por placa que tengan entre 10 y 100 colonias y promediar (para el cálculo de propágulos en 1 gramo de suelo); entonces aislar una colonia por picado de la punta de una hifa a tubos inclinados con agar extracto de malta.
- f. Vigilar los cultivos hasta dos semanas.
- g. Cálculo de Número por gramo de suelo: número promedio de propágulos por placa X factor de dilución

**6. Resultados**

- .....  
.....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....  
.....
- .....





.....  
.....  
.....

**7. Conclusiones**

.....  
.....  
.....  
.....

**8. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Cuarta Unidad

### Semana 13 – Sesión 1:

## EXAMEN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS CLÍNICAS

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 4	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

### 1.-Propósito:

Aislar e identificar agentes productores de micosis superficial y cutánea.

### 2.-Fundamento Teórico

Las micosis tienen como agentes a mohos y levaduras, siendo las micosis más frecuentes en el laboratorio de micología las micosis superficiales y cutáneas, se pone énfasis especial en el aislamiento e identificación de estos agentes; para lograr este objetivo complementamos el diagnóstico clínico con los hallazgos en el laboratorio de micología.

### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

#### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1

#### 3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Aceite de oliva	aclarante	Cinco



2	Láminas portaobjetos	Vidrio	Diez
3	Láminas cubreobjetos	vidrio	Diez

### 3.3. Equipo

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopios	metal	Uno
2	Estufa 35 °C	metal	Uno

### 3.4. Insumos

Ítem	Insumos	Característica	Cantidad
1	A. Saboraud	Medio de cultivo	Cinco
2	A. Micobiotic	Medio de cultivo	Cinco
3	Tinta china	Colorante	20ml
4	KOH 20%	Aclarante	20ml
5	Azul de lactofenol	Colorante	20ml

## 4. Indicaciones/instrucciones:

Mantener las normas básicas de bioseguridad.

## 5. Procedimientos:

De acuerdo a los conocimientos y destrezas adquiridos, aislar e identificar los agentes productores de micosis en las muestras clínicas asignadas.

## 6. Resultados

- .....  
.....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....  
.....
- .....  
.....  
.....  
.....



**7. Conclusiones**

.....  
.....  
.....  
.....

**8. Sugerencias y /o recomendaciones**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Cuarta Unidad

### Semana 14 – Sesión 1:

#### SUSCEPTIBILIDAD ANTIFÚNGICA POR DISCO DIFUSIÓN (M44-A-2004)

Sección: .....	Apellidos : .....
Docente:	Nombres : .....
Unidad: 4	Fecha:...../...../..... Duración: 60 min

**Instrucciones:** Tener a la mano los materiales solicitados en forma individual y tener mucho cuidado con la manipulación de los simuladores. Hacer uso en todo momento del guardapolvo, mascarilla, guantes y cofia.

#### 1.-Propósito:

Describir los procedimientos de laboratorio para la determinación de susceptibilidad antifúngica para especies de *Candida* mediante el método de disco difusión.

#### 2.-Fundamento Teórico:

En los últimos años se ha vuelto una necesidad realizar pruebas de susceptibilidad antifúngica de más fácil disponibilidad, la prueba de susceptibilidad antifúngica por disco difusión (M44-A-2004), provee y establece la metodología por disco difusión para especies de *Candida*, interpretación de resultados para fluconazol y rangos de control de calidad para fluconazol y voriconazol.

#### 3. Equipos, Materiales y Reactivos

##### 3.1. Prendas y Accesorios

Ítem	Prendas	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo	Mandil de drill	1
2	Guantes	Quirúrgicos	1
3	Mascarillas	N.95	1
4	Lentes protectores	Visores	1

##### 3.2. Materiales



Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Estándar de turbidez Mc Farland 0.5	Medio estándar de turbidez	Cinco
2	Hisopos de algodón	Esteril	Cinco
3	Solución salina fisiológica	Líquido con electrolitos	200ml
4	Regla	Plástico de 20 cm	Cinco

### 3.3. Equipo

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Estufa de 35 °C	Metal	Uno
2	Turbidímetro de Mc Farland	Fotómetro	Uno

### 3.4. Insumos

Ítem	Insumos	Característica	Cantidad
1	A. Mueller – Hinton con glucosa 2% y 0.5 ug/ml de azul de metileno (AMH+GMB)	Medio de cultivo	Cinco
2	Fluconazol	Fármaco de 25 mg	Cinco
3	Variconazol	Fármaco de 25mg	Cinco

## 4. Indicaciones/instrucciones:

Mantener las normas básicas de bioseguridad.

## 5. Procedimientos:

- Preparar un inóculo de la levadura a testar y ajustar a la escala 0.5 Mc Farland, equivale a  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6$  células por ml.
- Sumergir y humedecer el hisopo de algodón estéril en la suspensión del inóculo.
- Remover el exceso de humedad por rotación del hisopo en el interior de la pared del tubo por encima del nivel del fluido.
- Estriar el hisopo sobre el medio AMH+GMB dos o más veces, rotando aproximadamente  $60^\circ$  cada vez.
- Los discos se dispensan sobre la superficie del agar, presionando ligeramente.
- Las placas se invierten y se colocan en la estufa a  $35^\circ\text{C}$ . por 24 hrs.

## 6. Resultados



- Medir los diámetros de las zonas de inhibición completa, usando una regla, interpretando con los rangos establecidos (fluconazol 25 ug, sensible 19 mm y resistente menor o igual a 14 mm).

- .....  
.....  
.....  
.....

- .....  
.....  
.....  
.....

### 7. Conclusiones

.....  
.....  
.....  
.....

### 8. Sugerencias y /o recomendaciones

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



## Lista de referencias

Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. (2000). *Atlas of clinical fungi. 2nd Ed.* Utrecht & Reus, Centraalbureau loor Schimmelcultures / Universitat Rovira i Virgili

Kern E, Martha y Blevins S., K. (1997). *Medical Mycology: a self-instructional text.* Segunda Edition. F.A. Davis Company. Philadelphia.

Koneman, E y Roberts, G. (1987). *Micología: práctica de laboratorio.* Traducido por Editorial Médica Panamericana s.a. ed. editorial médica panamericana s.a. Bs. As. ed. Tercera.



ANEXOS

ATLAS MICOLÓGICO

Figura 2

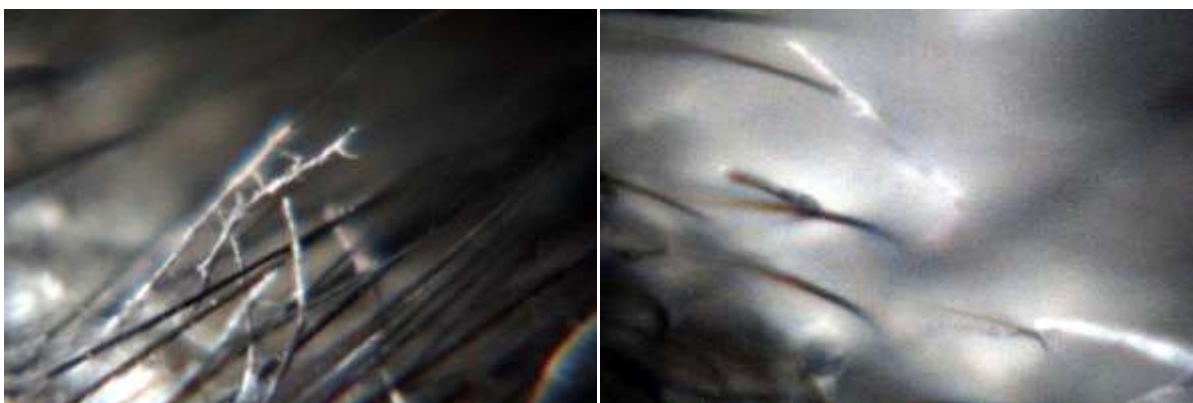
*Lesión del cuero cabelludo producido por un dermatofito*

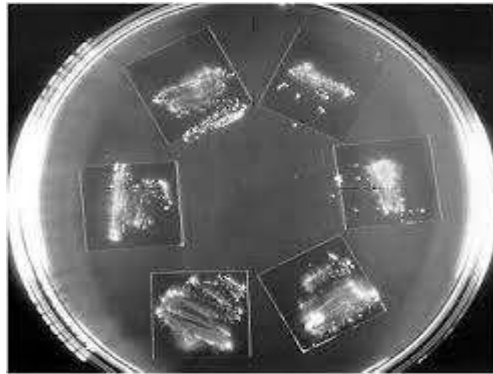


Nota: Lesión del cuero cabelludo producido por un dermatofito, tiña capitis, agente *Trichophyton tonsurans*. <https://www.webconsultas.com/belleza-y-bienestar/afecciones-esteticas/por-que-se-descama-el-cuero-cabelludo>

Figura 3.

Técnica de Dalmau





<http://www.higiene.edu.uy/parasito/trabajos/identlev.pdf>