



**Microbiología y Parasitología
General**

Guías de Laboratorio



Visión

Ser la mejor organización de educación superior posible para unir personas e ideas que buscan hacer realidad sueños y aspiraciones de prosperidad en un entorno incierto

Misión

Somos una organización de educación superior que conecta personas e ideas para impulsar la innovación y el bienestar integral a través de una cultura de pensamiento y acción emprendedora.



Índice

VISIÓN	2
MISIÓN	2
ÍNDICE	3
Primera unidad	
Bioseguridad	4
Reconocimiento de materiales del laboratorio de microbiología	5
Coloración Gram	15
Coloración Ziehl-Neelsen	17
Morfología Bacteriana	19
Segunda unidad	
Preparación Agar Sangre	22
Preparación Agar Mac Konkey Manitol Salado	25
Urocultivo	28
Antibiograma	30
Tercera unidad	
Dosaje de hepatitis B	34
Preparación Agar Sabouraud	36
Morfología De Los Hongos Estructura	38
Células Sanguíneas Y Coloración Wright	40
Cuarta unidad	
Método Concentrado De Faust	42
Examen Directo	44
Técnica De Gota Gruesa	46



Guía de práctica N° 01:

Bioseguridad en el laboratorio de Microbiología

Sección :Docente:

Fecha : / / Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Los estudiantes usan lo EPP, antes de ingresar al salón de clases
- Aplican las normas de bioseguridad en todo momento de la práctica.
- Los estudiantes conforman grupos de 5 estudiantes y siguen las indicaciones de la guía de práctica

1. Propósito /Objetivo:

Identificar las medidas de bioseguridad para evitar accidentes en el laboratorio de Microbiología.

Fundamento Teórico

Explica el manejo y manipulación de equipos, material de laboratorio teniendo en cuenta el correcto uso de métodos de barrera y protección personal.

2. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1			
2			
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Guardapolvo		
2	Mascarilla		
3	Guantes		
4	Gorra		
5	Lentes		
6	Botas descartables		
7			

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1			
2			

3. Indicaciones/instrucciones:

Tomar Las precauciones estándar con el objetivo de disminuir el riesgo de transmisión de



microorganismos de fuentes conocidas o desconocidas, entre pacientes y personal de salud. El conjunto de medidas que deben aplicarse frente a la atención de todos los pacientes. En el laboratorio de microbiología se debe aplicar para la manipulación de toda muestra clínica, independiente de su clasificación de riesgo.

Las precauciones estándar incluyen:

- Lavado o higiene de manos
- Uso de equipo de protección personal cuando es necesario

4. Procedimientos:

Evite el contacto de la piel o membranas mucosas con sangre y otros líquidos de precaución universal.

Utilice siempre los elementos de protección personal durante la realización de disecciones, si se realizan: gorro, bata, tapa bocas, gafas de seguridad, botas, guantes, mascarilla.

Use delantal impermeable cuando haya posibilidad de salpicaduras o contacto con fluidos de precaución universal.

Los estudiantes, docentes y trabajadores del Laboratorio de Anatomía deberán lavarse las manos antes y después de cada procedimiento.

Evite accidentes con agujas y elementos cortopunzantes.

Los estudiantes, docentes y trabajadores del Laboratorio de Microbiología que presenten lesiones exudativas o por quemadura, deben evitar contacto con el material de estudio.

Utilice guantes en todo procedimiento donde pueda existir riesgo de contacto con sangre y líquidos de precaución universal.

Desarrollar el hábito de mantener las manos lejos de la boca, nariz, ojos y cara. Esto puede prevenir la autoinoculación.

Deberá vacunarse todo el personal que desarrolle su labor en ambientes que tengan contacto, tanto directo como indirecto, con la sangre u otros fluidos biológicos de otras personas infectadas, o en los cuáles se desconoce si están enfermas o portadoras de algún microorganismo que puede ser prevenible por vacunación.

5. Resultados

6. Conclusiones

7. Sugerencias y /o recomendaciones

Tener en cuenta siempre los



Principios de la Bioseguridad:

- A) **Universalidad:** Las medidas deben involucrar a todas las muestras de tejidos y reactivos con los que se trabaje en el Laboratorio. Todo el personal debe seguir las medidas de precaución estandarizadas con el fin de prevenir la exposición de la piel y de las membranas mucosas, en todas las situaciones que puedan dar origen a accidentes de trabajo, estando o no previsto el contacto con las muestras.
- B) **Uso de barreras:** Comprende el concepto de evitar la exposición directa a fluidos orgánicos que se consideren de riesgo contaminante, mediante la utilización de materiales adecuados que se interpongan al contacto de los mismos. La utilización de barreras (Ej.: Guantes) no evitan los accidentes por exposición a estos fluidos, pero disminuye las consecuencias de dicho accidente.
- C) **Medios de eliminación de material contaminado:** Comprende el conjunto de dispositivos y procedimientos adecuados, a través de los cuales los materiales utilizados son depositados en los recipientes adecuados y eliminados sin riesgo.

8. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/1408/Medidas_HuatucoJulca_Jim.pdf?sequence=1&isAllowed=y



Guía de práctica N° 02:

RECONOCIMIENTO DE MATERIALES DEL LABORATORIO

Sección :Docente:

Fecha : / /

Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Deben mantener los mandiles abrochados, ya que nos van a ofrecer protección frente a salpicaduras y derrames de sustancias
- En el laboratorio siempre es recomendable llevar recogidos los cabellos, ya que el pelo largo puede engancharse en los montajes y equipos y también es más fácil que se contamine con los productos
- No se debe comer ni beber dentro del laboratorio, tampoco es aconsejable mascar chicle mientras se realicen las prácticas, ya que los alimentos o bebidas pueden contaminarse con productos químicos.
- Está prohibido fumar dentro de los laboratorios, ya que son zonas donde hay bastantes productos químicos inflamables
- No llevar pulseras, colgantes o mangas anchas que puedan engancharse en los montajes. Es aconsejable lavarse las manos siempre que se tenga contacto con algún producto químico y antes de salir del laboratorio.

1. Propósito /Objetivo:

Reconocer el material de laboratorio y adquirir habilidad en el manejo del mismo y
Clasificar estos materiales de acuerdo a las distintas categorías conocidas

2. Fundamento Teórico:

Es necesario que antes de comenzar cualquier trabajo experimental, el alumno conozca el material que se utiliza. Cada uno de los materiales tiene una función y su uso debe ser acorde con la tarea a realizar. La utilización inadecuada de este material da lugar a errores en las experiencias realizadas y aumenta el riesgo en el laboratorio.

3. Equipos, Materiales y Reactivos:

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio		
2	Horno		
3	Autoclave		
4	Luz rayo ultravioleta		
5	Estufa		
6	Mechero bunsen		



3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Trípode y rejilla		
2	Porta tubos	13 x 15	
3	Pinza		
4	Mortero		
5	Cronometro		
6	Pizeta		
7	Termómetro		
8	Vaso de precipitación	250 ml	
9	Matraz Erlenmeyer		
10	Embudo de vidrio		
11	Tubo de ensayo		
12	Placa Petri		

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1			
2			

4. Indicaciones/instrucciones:

MICROSCOPIO DE LUZ (ver esquema)

El microscopio es uno de los instrumentos más frecuentemente usados en el laboratorio. Está compuesto básicamente por:

- El sistema óptico
- El sistema de iluminación
- El sistema de ajuste

El sistema óptico:

1.- Los objetivos: Se encuentran entornillados al revólver. Son las lentes principales y están compuestos a su vez de una serie de lentes. Se distinguen según sus equivalentes de distancia focal. Los microscopios están provistos de 3-4 objetivos de bajo poder o secos 5x, 10x y 40x y el objetivo de inmersión 90x o 100x. La apertura numérica (AN) se encuentra grabada en el tubo del objetivo, a mayor AN mayor es el poder de resolución (capacidad de hacer perceptibles detalles adyacentes muy cercanos, separándolos y acercándolos).

2.- El ocular: Lente que amplifica la imagen formada por el objetivo. El microscopio debe estar provisto de dos oculares de preferencia de 10x y 5x.

3.- El condensador: Su misión es concentrar la luz sobre el objeto colocado sobre la platina, consiguiendo así una iluminación adecuada. Se construyen generalmente con un sistema de dos lentes y tienen un diafragma, el cual permite reducir o ampliar al ángulo y por lo tanto la cantidad de luz que entra en el condensador.

Son comúnmente el tipo no acromático según la designación de Abbe; en los microscopios modernos se usan condensadores aplanáticos y acromáticos.

El sistema de iluminación

Se consigue mediante el espejo, el cual refleja la luz hacia el condensador. La fuente ideal de iluminación es la luz natural del día, empleándose en este caso el espejo plano, sin embargo se obtiene también una buena iluminación con una lámpara apropiada usando el espejo convexo.



Los microscopios binoculares y modernos cuentan con el sistema de iluminación incorporada.

El sistema de ajuste

Este sistema comprende:

1. El tornillo micrométrico: Se utiliza para lograr la aproximación del enfoque.
2. El tornillo micrométrico: Permite que el objetivo se deslice lentamente. Se emplea para conseguir un enfoque perfecto del objeto.
3. El tornillo del condensador: Se utiliza para elevar el condensador y aumentar la iluminación o descenderlo y reducir la misma.
4. Los tornillos de centrado del condensador: Puede haber tres tornillos situados alrededor del condensador exactamente en relación con el objeto.
5. Reguladores de la platina: Se usan para mover la lámina portaobjeto hacia a derecha o izquierda, hacia delante o atrás.
6. El elevador del diafragma: Se encuentra fijo al condensador. Se puede cerrar o abrir el diafragma reduciendo el ángulo y la intensidad de la luz.

HORNO (ver figura)

En cualquier proceso de esterilización por el calor es absolutamente esencial que el objeto sea calentado por todas partes por igual y que la temperatura de su "centro" sea sostenida a un grado bastante elevado para matar y destruir las bacterias tanto la forma vegetativa como esporulada. El horno es un aparato de forma rectangular que posee paredes dobles revestidas de amianto o fibras de vidrio para mantener el calor generado. En el interior y en la parte exterior tiene orificios para la ventilación y un dispositivo donde se encuentra fijo el termómetro graduado hasta 200°C. Se utiliza para la esterilización de material de vidrio como: placas Petri: tubos, pipetas e instrumentos metálicos.

Funcionamiento

1. El material que se esteriliza en el horno debe estar completamente seco.
2. Se coloca en canastillas o recipientes y se deja durante 1 hora a 170 – 180°C
3. Transcurrido dicho tiempo, se deja enfriar el horno por sí solo, ya que la apertura del aparato caliente produce rotura o daño del material por el cambio brusco de temperatura.

AUTOCLAVE (ver esquema)

La autoclave provee un medio eficaz y práctico de esterilización, por cuanto destruye tanto las formas vegetativas como esporuladas, en un tiempo comprendido entre 15 a 30 minutos. Como se sabe el agua hierve a 100°C según la presión atmosférica, pero si se aumenta esta, la temperatura será más alta, lo que se logra con la autoclave.

Componentes de la autoclave

1. Caldera: Consiste en un cilindro amplio y profundo de paredes muy gruesas.
2. Canasta: Es un cilindro de paredes delgadas donde se coloca el material a esterilizar
3. Soporte de la canasta: Se encuentra en el fondo de la autoclave y sostiene la canasta por encima del nivel del agua.
4. Drenaje: Llave de paso colocada en la base de la caldera, por donde sale el exceso de agua.
5. Tapa: Esta cubre y cierra herméticamente la caldera, se ajusta mediante una arandela de jebes.
6. Sujetadores de la tapa: Se encuentran fijos a la caldera y conjuntamente con la arandela de jebes cierran herméticamente la tapa e impiden el escape del vapor.
7. Válvula de salida del aire: Se encuentra en la parte superior de la tapa, se emplea para dejar que salga el aire cuando empieza el agua a calentarse.
8. Válvula de seguridad: Esta válvula deja escapar el vapor cuando la presión se eleva demasiado, evitando que ocurra una explosión.
9. Manómetro: Se ubica en la parte superior de la tapa, indica las libras de presión de vapor de agua.
10. Termómetro: Indica la temperatura en grados centígrados, se encuentra en la parte superior de la tapa.



Funcionamiento

1. Llenar con agua el fondo del autoclave hasta el soporte de la canasta. Estar seguro que el agua no sobrepase ese nivel, si hay exceso eliminar a través del drenaje.
2. Introducir el material a esterilizar el autoclave, colocándolo sobre la canasta.
3. Cerrar la tapa del autoclave, atornillar los sujetadores a niveles iguales, con firmeza pero sin apretar demasiado.
4. Abrir la válvula de salida del aire.
5. Encender el mechero de gas o conectar la llave de corriente, para calentar el autoclave.
6. Vigilar la válvula de salida del aire hasta que aparezca un chorro de vapor. Dejar salir por 3 – 4 minutos hasta que este sea uniforme y continuo. Esto indicara que todo el aire ha sido reemplazado por vapor.
7. Cerrar la válvula de salida del aire, ajustar los sujetadores de la tapa y reducir la temperatura ligeramente.
8. Observar el manómetro (libras de presión) y el termómetro hasta ajustar a la temperatura deseada regulando el calor.
9. Una vez alcanzada la temperatura y presión necesaria, empezar a medir el tiempo.
10. Apagar la fuente de calor cumplido el tiempo.
11. Cuando la temperatura descienda a menos de 100°C abrir la salida del aire para igualar las presiones dentro y fuera del autoclave.
12. Cuando cese el silbido, aflojar los sujetadores de la tapa. Abrir la tapa y a continuación retirar el material estéril cuidadosamente.
13. Si se han formado gotas de agua sobre o dentro del material esterilizado, secarlos en una estufa a 37°C.

LUZ O RAYO ULTRAVIOLETA

La luz ultravioleta es un agente bactericida, siendo su longitud de onda más efectiva entre 2500 y 3200 a. Las radiaciones determinan cambios fotoquímicos al ser absorbidos por las proteínas y los ácidos nucleicos, interfiriendo en la replicación del DNA de los microorganismos.

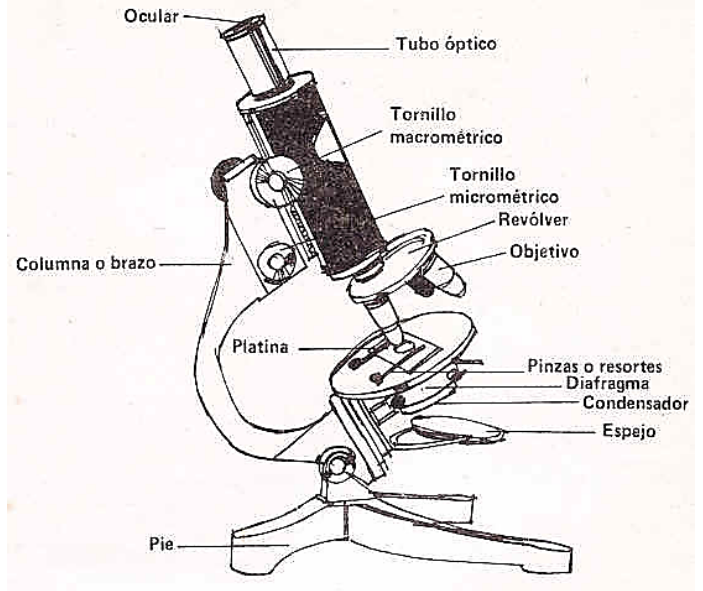
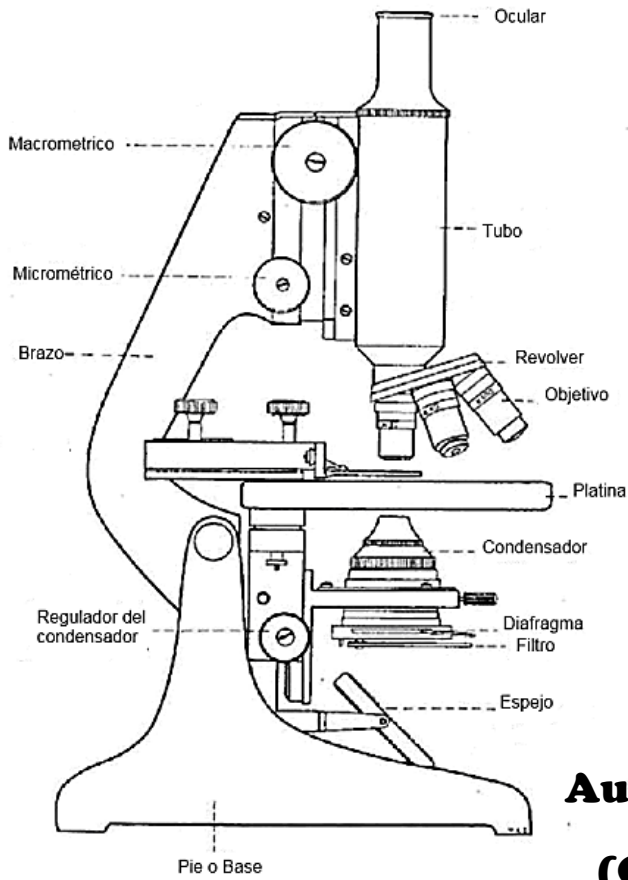
La luz ultravioleta tiene escasa capacidad de penetración por lo que se aplica sobre superficies. Su acción sobre los microorganismos depende de la longitud de onda, de la intensidad y de la duración de su aplicación.

$$\text{Dosis de radiación} = \frac{\text{Energía UV}}{\text{Área irradiada}} \times \frac{\text{Tiempo UV Sec}}{\text{cm}}$$

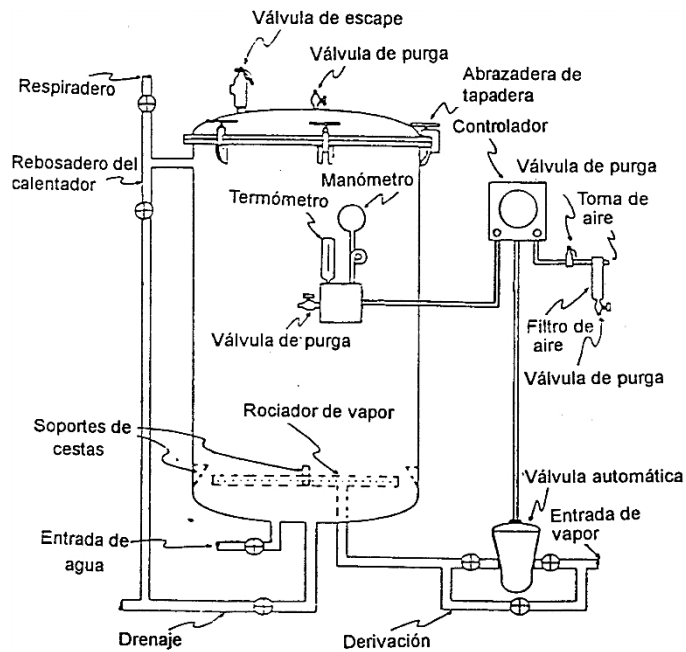
Su aplicación está limitada para la inactivación de microorganismos en la preparación de vacunas en la esterilización de ambientes (quirófanos, salas de hospitales) y en aire suministrado a los laboratorios. Se emplean comúnmente lámparas de arco de vapor mercurial que emiten luz de una longitud de onda de 2537 A.



MICROSCOPIO COMPUESTO



Autoclave Vertical (Calor húmedo)









Estufa (Calor seco)




CRISTALERIA Y OTRO MATERIALES

<p>Mechero de Bunsen (llama fuerte)</p>	<p>Mechero de Bunsen</p>	<p>Mechero de Meker</p>	<p>Trípode con tapa de amianto</p>
<p>Lámpara de alcohol</p>	<p>Porta tubos de madera</p>	<p>Pinzas para portaobjetos</p>	<p>Mortero de mano</p>



			
Cronómetro	Frascos goteros	Frasco de lavado	Termómetro

CRISTALERÍA Y OTROS APARATOS PEQUEÑOS

			
Vaso de precipitación	Matraz de Erlenmeyer	Matraz de fondo plano (matraz de Florencia)	Matraz de fondo redondo
			
Vaso cónico para análisis	Embudo para filtro de papel	Plato para evaporaciones	Plato cóncavo de cristal
			
Tubo de ensayo	Tubo de precipitación o de Kahn	Tubo redondo para centrifuga	Tubo cónico para centrifuga



			
Placa de Petri	Cristalizador	Secador	Cubeta para tinciones

5. Resultados

6. Conclusiones

7. Sugerencias y /o recomendaciones

Se sugiere a los estudiantes leer la guía práctica antes de comenzar a utilizar los materiales para su reconocimiento y su buen uso

8. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

http://www.ing.unp.edu.ar/asignaturas/quimica/practicos_de_laboratorio_pdf/lab1.pdf



Guía de práctica N° 03: COLORACION GRAM

Sección :Docente:

Fecha : / /

Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- 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.
- La coloración Gram Es un tipo de tinción diferencial que nos permite diferenciar las bacterias según sus características morfológicas. por lo tanto, es de vital importancia seguir los pasos correctamente ya establecidos con los diferentes reactivos, para lograr una buena coloración
- Utilizar la guía práctica y seguir los pasos y tiempos correctamente

1. Propósito /Objetivo:

Identificar a las bacterias Gram positivas y Gram negativas
Reconocer las formas de las bacterias como son los Cocos, bacilos, espirilos

2. Fundamento Teórico:

Cristal Violeta: Tiñe a los Gram positivos, debido a la capa gruesa de peptidoglucanos. **Lugol:** Mordiente, retiene al cristal violeta. **Alcohol acetona:** Decolora a los Gram negativos por la poca cantidad de peptidoglucanos. **Safranina:** Tiñe a los Gram negativos.

3. Equipos, Materiales y Reactivos:

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio		
2	Mechero de bunsen		
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Laminas porta objeto		
2	Coloreador		
3	Hisopos		
4	Asa de cool		

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Cristal violeta		
2	Lugol Alcohol acetona		



3	Safranina		
4	Aceite de inmersión		
5	Alcohol de isopropílico		

4. Indicaciones/instrucciones:

1. Es una técnica muy sencilla que se basa en el uso de un colorante (tinción) y que tiene una gran utilidad en medicina y que permite observar las bacterias mejor que bajo el microscopio.
2. La gran aportación práctica de la tinción de **Gram** es que permite determinar el tipo de antibiótico, así como su eficacia

5. Procedimientos:

Hacer frotis y fijarlo

Agregar:

Cristal violeta x 2 minutos. Y enjuagar con agua corriente.

Lugol x 1 minutos. Y enjuagar con agua corriente.

Alcohol acetona x 15 - 30 segundos. Y enjuagar con agua corriente.

Safranina x 1 minutos. Y enjuagar con agua corriente.

Dejar secar a temperatura ambiente

Leer con aceite de inmersión con el objetivo de 100 X

6. Resultados

7. Conclusiones

8. Sugerencias y /o recomendaciones

La tinción de Gram se utiliza en microbiología desde finales del siglo XIX. Es una técnica muy sencilla que se basa en el uso de un colorante (tinción) y que tiene una gran utilidad en medicina para lograr el objetivo se sugiere a los estudiantes realizar siguiendo los pasos y colorantes correctamente.

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

<https://biolprocariotas.files.wordpress.com/2010/03/microbiologia-general.pdf>



Guía de práctica N° 04: COLORACION ZIEHL-NEELEN

Sección :Docente:

Fecha : / /

Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Es importante efectuar el extendido fino sobre un portaobjeto limpio y perfectamente desengrasado
- Encender el mechero, para crear un ambiente aséptico.
- Colocarse guantes y material de bioseguridad.
- es importante seguir y cumplir con los tiempos establecidos en cada etapa de los colorantes para lograr una buena coloración.
- Utilizar la guía práctica para seguir los pasos correctamente

1. Propósito /Objetivo:

Identificar los bacilos alcohol ácido resistentes

2. Fundamento Teórico:

Fucsina: Interactúa con los ácidos grasos de la pared celular, su tinción mejora con el calor por su aspecto ceroso. **Alcohol ácido:** Elimina la fucsina en aquellos que su membrana no es afín al colorante. **Azul de Metileno:** Las estructuras decoloradas absorben el colorante.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

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

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Laminas porta objeto		
2	Coloreador		
3	Hisopos		
4	Asa de col		

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Fucsina fenicada		
2	Alcohol ácido		
3	Azul de metileno		



4. Indicaciones/instrucciones:

El diagnóstico definitivo de las enfermedades infecciosas causadas por micobacterias se basa en la demostración de su agente etiológico. Esto se consigue, entre Las técnicas de coloración y el buen estado de los colorantes para lograr teñir al micobactenas, esta técnica es conocida desde hace más de un siglo y han sido ampliamente difundidas.

Por lo tanto, las indicaciones serían que los estudiantes sigan correctamente la técnica y el uso de los colorantes

5. Procedimientos:

Muestra: esputo

Hacer frotis de esputo de 2cm x 1 cm. Y fijarlo.

agregar

Fucsina x 4 minutos. y flamear la muestra hasta obtener 3 vapores; enjuagar.

luego

Decolorante x 4 minutos; enjuagar.

luego

Azul de metileno x 4 minutos; enjuagar

6. Resultados

7. Conclusiones

8. Sugerencias y /o recomendaciones

Utilizar todas las medias de bioseguridad

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

file:///D:/Descargas%20de%20Google/1964-

Texto%20del%20manuscrito%20completo%20(cuadros%20y%20figuras%20insertos)-7352-1-10-20130819.pdf



Guía de práctica N° 5: MORFOLOGIA BACTERIANA

Sección :Docente:

Fecha :/...../ Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Estudiantes tener en consideración que los cultivos y muestras tienen que ser frescos para que no cambien las características tintoriales y morfológicas de las bacterias.
- No se puede fumar ni comer en el laboratorio
- Es obligatorio la utilización del mandil
- La ropa y los objetos personales no deben mantenerse cerca de las zonas de trabajo
- Al comenzar las prácticas conviene colocar un papel de filtro sobre la zona de manipulación, y retirarlo al terminar el día.
- Lavarse las manos cuidadosamente antes de salir del laboratorio

1. Propósito/objetivo:

Identificar las características morfológicas mediante el uso de coloraciones como Gram, azul de metileno, Ziehl-Neelsen.

2. Indicaciones/instrucciones:

Realizar coloraciones: simples, diferenciales

Diferenciar que tipos de muestras se utilizan para cada coloración.

Interpretar y evaluar correctamente los resultados obtenidos en las distintas coloraciones y discernir si la coloración fue bien realizada.

3. Equipos y materiales a utilizar:

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio		
2			
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Laminas portaobjeto		
2	Varillas de coloración		
3			

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Coloración Gram		
2	Coloración de azul de metileno		
3	Aceite de inmersión		



3.3. Muestras

Ítem	Muestras	Característica	Cantidad
1	Muestras de esputo		
2	Muestras de secreción vaginal		

4. Indicaciones /Instrucciones

- Cumplir con las medidas de bioseguridad como es: Uso de material de barrera como son guantes guardapolvo, mascarilla, cofia, gorro.

5. Procedimiento experimental:

- o Dividir la lámina en 3 partes: 1/3 para rotular el N° de muestra y 2/3 para la preparación del frotis.
- o Tomar una porción de la muestra con el asa de siembra estéril.
- o Colocar el asa sobre el portaobjeto y presionar ligeramente sobre éste.
- o Mover el asa trazando un espiral del centro a la periferia.
- o Dejar cierta distancia entre el frotis y cada uno de los lados del portaobjeto.
- o Dejar secar la muestra completamente a temperatura ambiente o pasar 3 veces a través de la llama del mechero con el frotis hacia arriba.
- o Aplicar la tinción utilizando el procedimiento correcto para cada coloración.

6. Resultados:

7. Observaciones:

Distinguir la diferencia entre una coloración dicromica y monocromica

8. Conclusiones:

Anotar los hallazgos importantes y realizar el informe

9. Sugerencias y /o recomendaciones



10. CUESTIONARIO:

1. Cuáles son las formas bacterianas observadas en la práctica
2. Según la coloración de se les denomina Gram positivas y Gram negativas ¿por qué?

11. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Koneman E.W., Allen S.D., Dowell S.R.Jr., Sommers H.M. 2000. Diagnóstico. Microbiológico. 6th edition. Ed. Panamericana, B. Aires



Guía de práctica N° 6: PREPARACION AGAR SANGRE

Sección :Docente:

Fecha :/...../ Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Evitar ingerir microorganismos por accidente, al llevarse los dedos o el lápiz a la boca.
- No frotarse los ojos o la nariz con las manos contaminadas.
- Las heridas en las manos deben vigilarse, ya que pueden ser una puerta de entrada a la infección. En caso de tenerlas, deben cubrirse adecuadamente con guantes quirúrgicos
- La preparación de los medios de cultivos como el agar sangre son muy sensibles a la contaminación ambiental, Por lo tanto, tenemos que seguir las instrucciones de cada medio de cultivo para lograr un buen preparado de los medios.

1. Propósito /Objetivo:

Identificar e Aislar de bacterias Gram positivas, negativas y hongos bacterias patógenas en los seres humanos.

2. Fundamento Teórico

El **agar sangre** es un medio de cultivo sólido enriquecido, diferencial pero no selectivo. Es utilizado para la recuperación y crecimiento de una gran variedad de microorganismos provenientes de muestras clínicas o para subcultivos.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1 Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Balanza eléctrica		
2			
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Placas Petri		
2	Laminas porta objetos		
3	Laminas cubre objeto		
4	Matraz	250 ml	
5	Espátula		
6	Papel Graff		
7	Hilo pabilo		
8	Mechero de bunsen		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
------	----------	----------------	----------



1	Agar tripticasa soya		
2	Agua destilada		

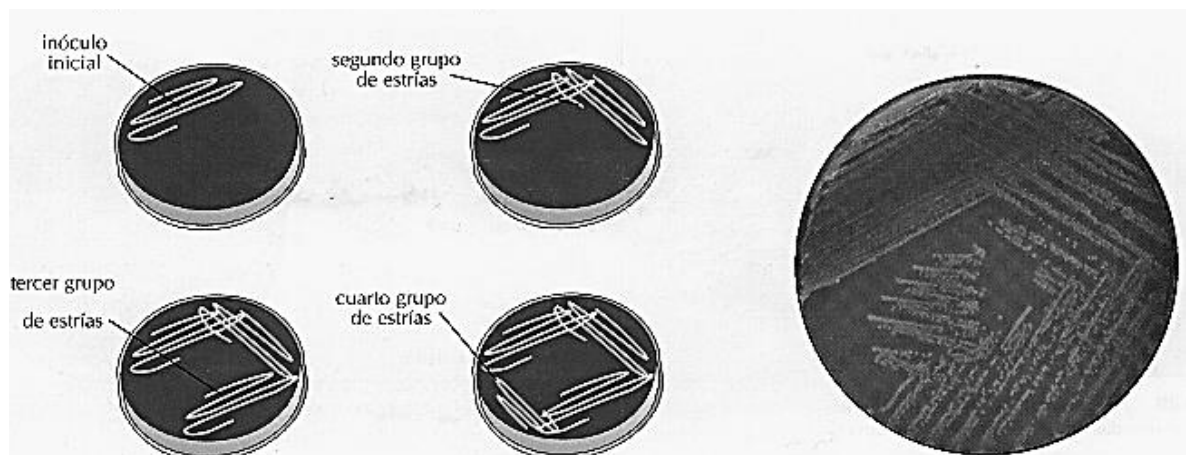
4. Indicaciones/instrucciones:

5. Procedimientos:

1. Preparar 100 ml del agar tripticasa soya y esterilizar a la autoclave.
2. Colocarlo en Baño María y mantenerlo a una temperatura de 45°C.
3. Retirar del Baño María y adicionar a 5 ml de sangre citratada o desfibrinada, trabajando siempre junto a la llama del mechero.
4. Mezclar con movimientos rotatorios suaves, para obtener un buen homogenizado.
5. Repartir la mezcla en placas Petri estériles, aproximadamente 20 a 25 ml en cada una.
6. Dejar solidificar y realizar el control de esterilizar, durante 24 – 48 horas a 37 °C
7. Conservar refrigerado a 4°C hasta su empleo.

El color normal del medio preparado debe ser rojo cereza.

METODOS DE SIEMBRA MICROBIANA



6. Resultados

7. Conclusiones

8. Sugerencias y /o recomendaciones

Utilizar las medidas de bioseguridad



9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Koneman E.W., Allen S.D., Dowell S.R.Jr., Sommers H.M. 2000. Diagnóstico. Microbiológico. 6th edition. Ed. Panamericana, B. Aires



Guía de práctica N° 7:

PREPARACION AGAR MAC KONKEY MANITOL SALADO

Sección :Docente:

Fecha :/...../ Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- En estas prácticas vamos a utilizar especialmente el calor como método de esterilización
- La presencia de microorganismos en todos los medios ambientales hace imprescindible que para estudiar una bacteria determinada sea necesario destruir todas aquellas que pudieran encontrarse contaminando los medios o los instrumentos de trabajo. Esto se consigue mediante la ESTERILIZACION, usando el mechero de bunsen
- Los medios con contenido acuoso han de ser esterilizados en el AUTOCLAVE mediante calor húmedo, a 121 (2 atm) o 111 °C (1.5 atm) difunde muy rápidamente, haciendo que los elementos termosensibles de las células se desnaturalicen, especialmente sus enzimas.
- estudiante debe tener en consideración de seguir las indicaciones correctamente ya que la siembra es el procedimiento por el cual un microorganismo en contacto con un medio de cultivo puede desarrollar y multiplicarse, dando lugar a la formación de colonias aisladas,

1. Propósito /Objetivo:

Aislamiento e identificación de bacterias Gram positivas, negativas bacterias patógenas en los seres humanos

2. Fundamento Teórico

El **agar MacConkey** es un medio de cultivo sólido que permite el aislamiento exclusivo de bacilos Gram negativos.

El **agar sal y manitol** o manitol salado es un medio de cultivo sólido, selectivo y diferencial. Fue creado por Chapman para el aislamiento de cocos Gram positivos patógenos, especialmente *Staphylococcus aureus*.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Balanza eléctrica		
2	Autoclave		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Placa Petri		
2	Laminas porta objeto		
3	Laminas cubre objeto		
4	Matraz	250 ml	
5	Espátula		
6	Papel Graff		
7	Hilo pabilo		



8	Mechero de bunsen		
---	-------------------	--	--

3.2. Reactivos

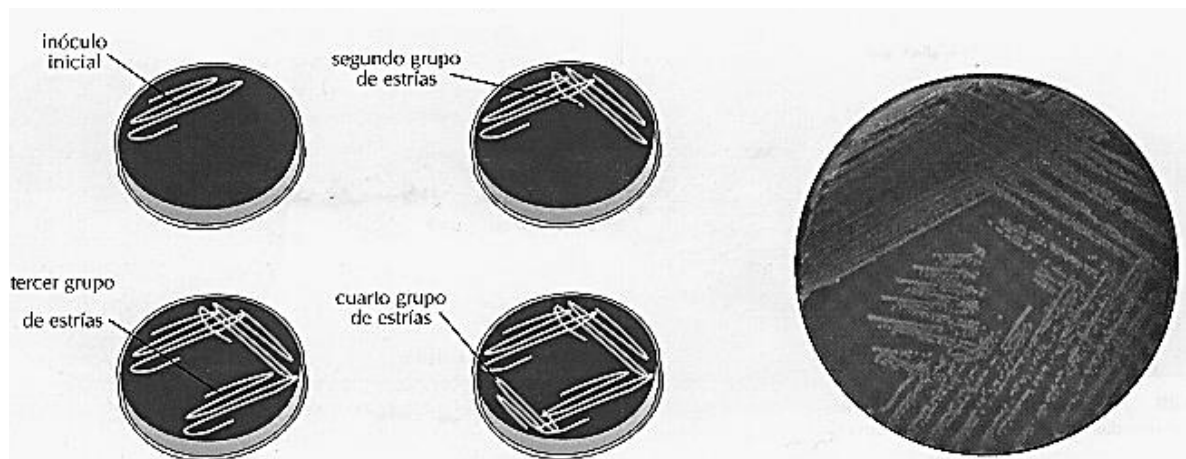
Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Agar mac konkey		
2	Agar manitol salado		
3	Agua destilada		

4. Indicaciones/instrucciones:

5. Procedimientos:

Preparar 100 ml del mac konkey y manitol salado esterilizar a la autoclave. 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. Dejar solidificar y realizar el control de esterilizar, durante 24 – 48 horas a 37 °C. Conservar refrigerado a 4°C hasta su empleo.

MÉTODOS DE SIEMBRA MICROBIANA



6. Resultados

7. Conclusiones

8. Sugerencias y /o recomendaciones



Utilizar las medidas de bioseguridad

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Koneman E.W., Allen S.D., Dowell S.R.Jr., Sommers H.M. 2000. Diagnóstico. Microbiológico. 6th edition. Ed. Panamericana, B. Aires



Guía de práctica N° 8:

UROCULTIVO

Sección :Docente:

Fecha :/...../..... Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Estudiante Los cuidados en la toma de muestra, conservación y transporte de la misma son muy importantes para lograr un correcto aislamiento de los microorganismos
- Utilizar la guía practica para seguir los pasos del procedimiento correctamente
- Utilizar con mucho cuidado el material del laboratorio

1. Propósito/objetivo:

Conocer las bacterias patógenas que causan infecciones del tracto urinario

2. Fundamento Teórico:

El urocultivo es el cultivo de orina para diagnosticar infección sintomática del tracto urinario o infección asintomática (bacteriuria asintomática) en pacientes con riesgo de infección. Está basada en la presencia de un número significativo de bacterias (generalmente >100.000 bacterias/ml.) La piuria, junto con la bacteriuria, es un dato muy importante para el diagnóstico de infección del tracto urinario, ya que prácticamente está presente en todas las infecciones urinarias. Una excepción es la bacteriuria asintomática en la que la piuria puede estar ausente.

3. Equipos, Materiales y reactivos:

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Horno		
2	Autoclave		
3	Microscopio		
4	Balanza de Sensibilidad		
5			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Mechero		
2	Placas Petri descartables		
3	Tubos de ensayo	13 x 100	
4	Asa calibrada	1/ 1000	
5	Hisopos largos de algodón		
6	Discos de sensibilidad		
7	Escala de Mc Farland		
8	Papel filtro		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Agar Mack Conkey o agra EMB		
2	Agar Manitol salado		



3	Medio de TSI, LIA, Citrato de Simmons		
4	Reactivo de koyacks		

4.

5. Indicaciones e instrucciones:

Cumplir con las medidas de bioseguridad como es:

Uso de material de barrera como son guantes guardapolvo, mascarilla, cofia, gorro.

6. Procedimiento experimental:

- Con el asa calibrada flameada coger la muestra de orina y sembrar en los medios de Agar Mack conkey y Agar Manitol salado, llevar a incubar a 37° grados por 24 horas.
- Llevar unas gotas de orina a una lámina portaobjeto y cubrir con una lámina cubreobjetos para el examen directo y observar al microscopio.
- Pasadas las 24 horas examinarlo sembrado si no hay crecimiento es un cultivo negativo pero si hubo crecimiento lo primero es:
- Realizar el recuento de colonias
- Resembrar en los medios diferenciales y paralelamente realizar el antibiograma

7. Resultados:

8. Observaciones:

El uso del asa calibrada para el sembrado permite hacer el recuento de colonias de esta manera podremos diferenciar si se trata de un ITU o contaminación.

9. Conclusiones:

Anotar los hallazgos importantes y realizar el informe

10. Sugerencias y/o recomendaciones:

Utilizar las medidas de bioseguridad

11. CUESTIONARIO:

1. Cuantos son los gérmenes más frecuentes causantes de ITU.
2. Es importante realizar el recuento de colonia
3. Qué importancia tiene el examen directo de la orina
4. Que métodos de recolección de orina se usa para cultivo.

12. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Koneman E.W., Allen S.D., Dowell S.R.Jr., H.M. 2000. Diagnóstico. Microbiológico. 6th edition. Ed. Panamerican , Sommers B. Aires



Guía de práctica N° 9:

ANTIBIOGRAMA

Sección :Docente:

Fecha :/...../..... Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Utilizar las medidas de bioseguridad
- No comer ni beber en el laboratorio
- Tener el máximo cuidado al utilizar los materiales del laboratorio
- Utilizar el mechero de bunsen para esterilizar el medio ambiente
- Estudiante tener en cuenta que se debe de tener cultivos puros e identificados mediante las pruebas correspondientes. Y utilizar los antibióticos correctos según cada microorganismo

1. Propósito/objetivo:

Conocer que son los antibióticos, para que sirven, cuáles son sus mecanismos de acción y como se realiza un antibiograma.

2. Fundamento Teórico

Esta prueba se realiza para comprobar la sensibilidad de un microorganismo problema frente a la acción de los antibióticos a los que se somete. Para ello se siembra el microorganismo en cuestión en un medio de Müller-Hinton. E inmediatamente después se sitúan sobre el medio unos discos con antibióticos

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Incubadora		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Placa porta objeto		
2	Placa cobre objeto		
3	Hisopos estériles		
4	Asas microbiológicas		
5	Placas con agar Mueller-Hinton		
6	Caldo BHI o solución salina estéril 9/1000		
7	Discos de antibióticos		

3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Azul de metileno		



2	Safranina		
3	Iodo Gram		
4	Cristal violeta		
	Alcohol cetona		

4. Indicaciones/instrucciones:

Cumplir con las medidas de bioseguridad como es:

Uso de material de barrera como son guantes guardapolvo, mascarilla, cofia, gorro.

5. Procedimiento experimental:

INOCULO:

A partir de un cultivo puro tomar una colonia con un hisopo estéril.

Colocar en el caldo BHI o solución estéril 9/1000 homogenizar por completo.

Comparar con el estándar McFarland 0.5.

ANTIBIOGRAMA EN AGAR:

Ecurrir el hisopo contra las paredes del tubo.

Estriar en una caja de agar Mueller-Hinton horizontalmente, cambiar de posición hacerlo verticalmente, cambiar de posición hacerlo inclinado, cambiar de posición hacerlo nuevamente inclinado, terminar dando la vuelta el hisopo por el borde de la caja.

Colocar los discos en la caja Petri.

GRAM POSITIVOS: oxacilina, penicilina, gentamicina, cotrimoxasol sulfá, ciprofloxacina, Clindamicina, eritromicina, linezolid, vancomicina, teicoplanina.

GRAM NEGATIVOS: amoxicilina ácido clavulánico, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime, aztreonam, ciprofloxacina, gentamicina, ampicilina, cotrimoxasol sulfá.

AMPLIACIONES: carbapenémicos, tetraciclinas, fosfomicinas.

Incubar a 37°C por 24 horas.

Realizar lecturas de halos de discos y comparar con las tablas CLSI.

6. Resultados:

7. Observaciones:

Tener en cuenta las condiciones para la realización del antibiograma

8. Conclusiones:

Anotar los hallazgos importantes y realizar el informe.



9. Sugerencias y/o recomendaciones

Utilizar las medidas de bioseguridad

10. CUESTIONARIO:

1. Grafique los procedimientos y observaciones realizadas en esta práctica.
2. Que es un standard Mcfarland, como se realiza?
- 3.Cuál es la clasificación de las penicilinas?
4. Que antibióticos no pueden utilizarse en pacientes pediátricos y por qué?

11. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Koneman E.W., Allen S.D., Dowell S.R.Jr., Sommers H.M. 2000. Diagnóstico. Microbiológico. 6th edition. Ed. Panamericana, B. Aires



Guía de práctica N° 10:

REACCIÓN ANTIGENO-ANTICUERPO E INMUNOCROMATOGRAFIA.

Dosaje de hepatitis B

Sección :Docente:

Fecha :/...../.....

Duración: 180 minutos

Instrucciones:

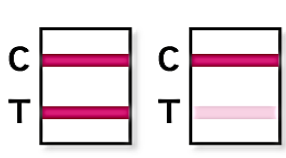
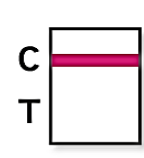
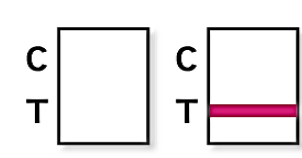
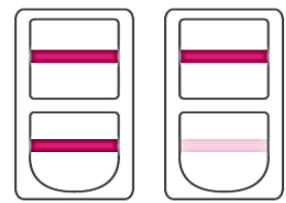
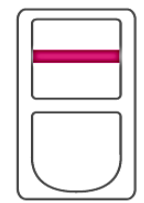
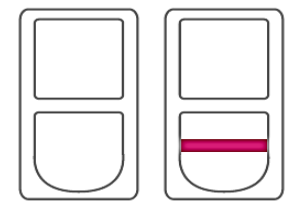
- Estudiante tener en cuenta el uso de las medidas de bioseguridad para la toma correcta de muestra sanguínea y el correcto uso del material para el procesamiento de los análisis respectivos.
- Utilizar la centrifuga para separar los componentes sanguíneos a utilizar en esta practica
- Para realizar la venopunción utilizar guantes y todas las medidas de bioseguridad

1. Propósito /Objetivo:

Explica la utilidad de las pruebas de inmunocromatografía, en el dosaje de la hepatitis B y su uso en Laboratorio Clínico servicio de Inmunología, teniendo como objetivo conocer el fundamento de esta prueba y su importancia en la mencionada área.

2. Fundamento Teórico

La inmunocromatografía es una de las técnicas de inmunodiagnóstico más modernas cuyas principales ventajas son la simplicidad y rapidez de la prueba. Cada vez son más las aplicaciones de esta técnica, tanto en el ámbito de los test, debido a que no es necesario reactivos ni instrumentación adicional, como en el campo clínico. El ejemplo más conocido son los test de embarazo, psa, y recientemente test sobre el VIH.

Positivo (+)	Negativo (-)	Inválido (?)
		
		
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.



3.2. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	test de pruebas rápidas de hepatitis B	X inmunocromatografía	1
2			
3			

4. Indicaciones/instrucciones:

Mantener las normas básicas de bioseguridad.

Redacta tus respuestas con letra clara, sin borrones.

5. Procedimientos:

Primero: toma de muestra sangre venosa centrifugación 5,000 rpm por 5 minutos obtención de suero o plasma.

Cargar muestra y reactivo según inserto de la prueba por el fabricante, observar los resultados.

6. Resultados:

✓ Prueba Negativa:

✓ Prueba Positiva:



7. Conclusiones:

8. Sugerencias y /o recommendations

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados:

Pruebas Rápidas

<http://pruebasrapidasonline.blogspot.pe/2012/10/que-son-las-pruebas-rapidas.html>

Evaluación de un test de inmunocromatografía

<http://www.corisbio.com/pdf/Science/crypto/Evaluacion%20CryptoStrip.PDF>



Guía de práctica N° 11:

PREPARACION AGAR SABOURAUD

Sección :Docente: M.g. T.M. Renee Orrego Cabanillas

Fecha :/...../..... Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Estudiante utilizar las medidas de bioseguridad para La preparación de los medios de cultivos ya que el procedimiento por el cual un microorganismo en contacto con un medio de cultivo puede desarrollarse y multiplicarse, dando lugar a la formación de colonias aisladas.
- Utilizar la autoclave para la preparación del agar
- Utilizar la guía práctica para la correcta preparación

1. Propósito /Objetivo:

Prepara los medios de cultivo agar Sabouraud específico para hongos patógenas en los seres humanos.

2. Fundamento Teórico

Agar Sabouraud: fundamento, preparación y usos. El **agar Sabouraud**, también conocido como **agar dextrosa Sabouraud**, es un medio de cultivo sólido, especialmente enriquecido para el aislamiento y desarrollo de hongos, como levaduras, mohos y dermatofitos.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Balanza eléctrica		
2	autoclave		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Placas Petri		
2	Laminas porta objeto		
3	Laminas cubre objeto		
4	Matraz	250 ml	
5	Espátula		
6	Papel Graff		
7	Hilo pabilo		
9	Mechero bunsen		

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Agar sabouraud		
2	Agua destilada		
3			



4. Indicaciones/instrucciones:

5. Procedimientos:

Preparar 100 ml del agar Sabouraud y esterilizar a la autoclave.

Colocarlo en Baño María y mantenerlo a una temperatura de 45°C.

siempre junto a la llama del mechero.

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.

Dejar solidificar y realizar el control de esterilizar, durante 24 – 48 horas a 37 °C

Conservar refrigerado a 4°C hasta su empleo.

6. Resultados

7. Conclusiones

8. Sugerencias y /o recomendaciones

Utilizar las medidas de bioseguridad

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Koneman E.W., Allen S.D., Dowell S.R.Jr., Sommers H.M. 2000. Diagnóstico.

Microbiológico. 6th edition. Ed. Panamericana, B. Aires



Guía de práctica N°12:

MORFOLOGIA DE LOS HONGOS ESTRUCTURA

Sección :Docentes: Mg. Renee S. Orrego Cabanillas.

Fecha :/...../..... Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Estudiante utilizar las medidas de bioseguridad y seguir los pasos correctamente teniendo en consideración los tiempos de los reactivos para lograr la observación de las estructuras morfológicas de los hongos.
- Esterilizar el material a utilizar en el laboratorio
- Lavarse las manos después de terminar las practicas
- Utilizar papel filtro y alcohol isopropílico para limpiar los lentes del microscopio

1. Propósito /Objetivo:

Reconoce La identificación taxonómica (morfo taxonómica) de los hongos se basa principalmente en el estudio cultural macroscópico y microscópico de las estructuras vegetativas y/o reproducción, los cuales varían de forma, dimensión, color textura, posición, etc.; y presentan en muchos casos estructuras específicas de función definida.

2. Fundamento Teórico

En la actualidad los datos morfológicos se complementan con los aportes bioquímicos serológicos moleculares para permitir una mejor clasificación de algunos hongos.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Laminas porta objeto		
2	Laminillas		
3	Asa de cool		
4	Mechero bunsen		
5	Fosforo		
6	Hisopos		

3.3. Reactivos

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

3.4. Muestras

Ítem	Muestras	Característica	Cantidad
1	Cultivo de Hongos levaduriformes y Filamentos		



4. Indicaciones/instrucciones:

5. PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO

Se describen básicamente dos tipos de estudios, el examen directo y el cultivo.

Para asegurar una recuperación de hongos a partir de muestras clínicas, éstas deben de procesarse de inmediato mediante su inoculación sobre medios de cultivo.

EXAMEN DIRECTO

Este procedimiento no sustituye al cultivo. Brinda información preliminar o presuntiva al ser una técnica rápida que puede ser útil al clínico y en algunos casos llegar a ser diagnóstica.

Es así, que la presencia de hifas cenocíticas en pacientes con cetoacidosis diabética puede ser de gran valor para iniciar tratamiento contra posible mucormicosis. Entre los principales exámenes directos tenemos:

Hidróxido de potasio (KOH) 20%

Disuelve rápidamente las células permitiendo digerir material proteico, observando con mayor nitidez los elementos fúngicos, su efecto de clarificar puede incrementarse al calentar a la llama ligeramente la preparación. Adicionalmente, se puede emplear colorantes para pigmentar la pared de los hongos y mejorar la visualización. La observación de hifas, permite sugerir la presencia de invasión micótica.

Tinta china

Es un método de contraste. Permite visualizar la cápsula de polisacárido de *Cryptococcus neoformans*, mediante la presencia de un halo claro y nítido alrededor de la levadura.

Existen artefactos (hematíes, burbujas de aire, leucocitos, gotas de grasa y partículas de talco) que pueden interferir y confundir al analista. La sensibilidad de la técnica es de 50% en pacientes sin VIH y se puede incrementar hasta 88% en pacientes VIH con meningitis criptocócica.

Coloración Giemsa

Es de utilidad para el diagnóstico de histoplasmosis, neumocistosis y otras micosis. Permite visualizar blastoconidias intracelulares al polimorfonuclear, como la fase tisular del *H. capsulatum*.

Coloración Gram

Es útil para observar blastoconidias y pseudomicelios de las especies del género *Candida*, *Malassezia* y *Cryptococcus*, las cuales son Gram positivas con variaciones en la intensidad de la coloración.

6. Resultados

7. Conclusiones

8. Sugerencias y /o recomendaciones

Utilizar las medidas de bioseguridad

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Koneman E.W., Allen S.D., Dowell S.R.Jr., Sommers H.M. 2000. Diagnóstico. Microbiológico. 6th edition. Ed. Panamericana, B. Aires



Guía de práctica N° 13:

CELULAS SANGUINEAS Y COLORACION WRIGHT

Sección :Docentes: Mg. Renee S. Orrego Cabanillas.

Fecha :/...../..... Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Estudiante utilizar las medidas de bioseguridad para la toma de muestra sanguínea, seguir los pasos correctos en el uso del colorante para lograr una correcta coloración.
- Utilizar laminas libres de polvo y grasa para una correcta extensión sanguínea
- Trabajar en equipo de 2 Personas para la toma de muestra sanguínea

1. Propósito /Objetivo:

Reconoce la zona de punción capilar para la toma de muestra de sangre la cual será de suma utilidad en los diferentes procesos de Análisis Clínicos se realizará la prueba de hematocrito, hemoglobina y hemograma.

2. Fundamento Teórico

Reconocer la concentración de glóbulos rojos expresado en porcentaje a través de la prueba de hematocrito.
Reconocer la morfología celular de las células sanguíneas.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microcentrifuga	Rev./minut.	1
2	Microscopio		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Lanceta	Punzo cortante	1
2	Algodón	Asepsia	1
3	Alcohol	90°	1
4	Plastilina	Sellador	1
5	Tabla de lectura	Medidor (escala)	1

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Capilares cintillo rojo	Heparinizados	1
	Colorante Wright		

4. Indicaciones/instrucciones:

Mantener las normas básicas de bioseguridad.
Redacta tus respuestas con letra clara, sin borrones.

5. Procedimientos:

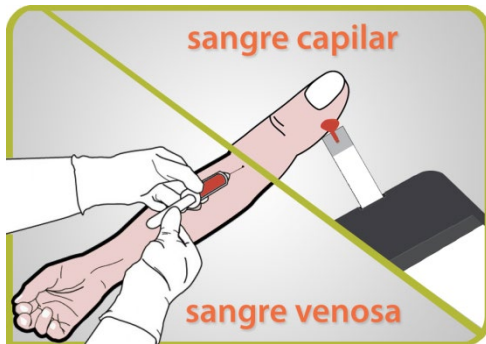
Realiza la asepsia capilar del pulpejo del dedo anular teniendo en cuenta que este es el de mayor zona vascularizada.



Realiza la punción y teniendo en cuenta las normas de bioseguridad

6. Resultados

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



La toma de muestra de sangre capilar está dada en los

casos de:



Respuesta:

7. Conclusiones

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

8. Sugerencias y /o recomendaciones

...mantener las medidas de bioseguridad

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

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados:

- ✓ Centro de estudios de bachillerato 6/12 20dbp0002h villa de etla <http://laboratorio-clinico-612.blogspot.pe/>



Guía de práctica N° 14:

METODO CONCENTRADO DE FAUST

RECONOCIMIENTO DE TÉCNICAS PARA LA BÚSQUEDA DE PARÁSITOS

Sección :Docentes: Mg. Renee S. Orrego Cabanillas.

Fecha :/...../.....

Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Utilizar las medidas de bioseguridad en el manejo de las muestras de heces para evitar accidentes de trabajo y utilizar correctamente el material de vidrio reconociendo el correcto uso
- El material fecal a utilizar debe ser fresca
- Traer la muestra en un frasco de boca ancha
- Utilizar laminas y laminillas porta y cubre objeto

1. Propósito /Objetivo:

Buscar en las muestras biológicas (heces) la presencia de quistes y huevos de los distintos paracitos para tener un conocimiento más amplio sobre ellos.

2. Fundamento Teórico

Este método también es llamado examen coproparasitoscópico (cps) es un conjunto de técnicas diagnósticas que constituyen a la indicación para la identificación de la mayoría de las entero paratosis causadas por protozoarios o helmintos. Faust es el método más usado y efectivo, en este se precipitan los parásitos por centrifugación después de haber filtrado la muestra

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio		
2	Centrifuga		
3			

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Lamina porta objeto		
2	Lamina cubre objeto		
3	Gasa		
4	Tubos de ensayo		
5	Gradilla		
6	Embudo		
7			

3.2. Reactivos

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



3.3. Muestras

Ítem	Muestra	Característica	Cantidad
1	Muestra biológica(heces)		

4. Indicaciones/instrucciones:

5. Procedimientos:

PREPARACION DEL SULFATO DE ZINC

Pesar 330 gramos de sulfato de zinc y disolverlos en 1000 ml de agua destilada

La cantidad varía de acuerdo a la cantidad de solución a utilizar.

El sulfato tiene que tener una densidad de 1.18 con la finalidad de que los huevos y quistes salguen a la superficie después del centrifugado.

PASOS DEL METODO

En un vaso separar una porción de heces tamaño al de una aceituna, agregar agua destilada mover para mezclar bien.

Filtrar dos veces colocando en el embudo una gasa doblada en cuatro. Para evitar el paso de restos de comida esto en un tubo de ensayo.

Centrifugar el filtrado a 2500 rpm (revoluciones por minuto).

Decantar el líquido sobrenadante y completar con la solución de sulfato de zinc en la misma cantidad de la anterior para evitar derrames.

Llevarlo nuevamente a centrifugar a 1500 rpm.

Abrir la centrifuga con mucho cuidado para no mover, luego sacar las partículas que están en la superficie del tubo de ensayo.

Con la ayuda de un asa que mide 5 mm sacar el sobrenadante y ponerlo en un portaobjeto y agregarle una gota de lugol para colorear la muestra y sea más visible los huevos o quistes, cubrirlos con un cubreobjetos y llevarlos al microscopio.

Y observar.

6. Resultados

7. Conclusiones

Mantener las medidas de bioseguridad

8. Sugerencias y /o recomendaciones

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Koneman E.W., Allen S.D., Dowell S.R.Jr., Sommers H.M. 2000. Diagnóstico. Microbiológico. 6th edition. Ed. Panamericana, B. Aires



Guía de práctica N° 15:

EXAMEN DIRECTO

RECONOCIMIENTO DE TÉCNICAS PARA LA BÚSQUEDA DE PROTOZOOS

Sección :Docentes: Mg. Renee S. Orrego Cabanillas.

Fecha :/...../.....

Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Utilizar las medidas de bioseguridad en el manejo de las muestras de heces para evitar accidentes de trabajo y utilizar correctamente el material de vidrio reconociendo el correcto uso.
- Manipular con guantes la obtención, recepción y tratamiento de las muestras frescas.
- Descartar rápidamente el material fresco, o fijar (en caso de conservación).
- Las heces depositadas en el suelo no son las recomendadas para el diagnóstico, debido a que pueden contaminarse con otras formas biológicas.

1. Propósito /Objetivo:

Buscar en las muestras biológicas (heces) la presencia de quistes de los distintos parásitos para tener un conocimiento más amplio sobre ellos.

2. Fundamento Teórico

Observación macroscópica de la muestra: Una vez recibida una muestra, debe observarse las características organolépticas como consistencia (dura, pastosa, diarreica, etc.), forma, color (amarillo, negro, etc.), olor (fétido, rancio, pútrido, etc.), presencia de moco, sangre, segmentos o proglótidos de tenías, nemátodos adultos (Enterovirus, Ascaris, etc.). Estas características se anotan en la ficha de cada muestra. Los parásitos observados macroscópicamente deben colocarse en suero fisiológico, alcohol al 70% o en formol al 10% para su posterior identificación.

Observación microscópica de la muestra:

METODO DIRECTO:

Es el más simple y fácil de realizar.

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

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

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Laminas porta objeto		
2	Laminas cubre objeto		



3	Guantes de látex		
4	Mascarilla		
5	Baguetas o mondadientes		
6	Algodón		

3.2. Reactivos

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

3.3. Muestras

Ítem	Muestra	Característica	Cantidad
1	Muestra biológica(heces) resientes o conservadas en formol al 10%		

4. Indicaciones/instrucciones:

5. Procedimiento

1. Si la muestra es reciente, coloque en una lámina portaobjetos una gota de suero fisiológico y con ayuda de la bagueta o mondadientes tome una pequeña porción de heces y emulsiónela en la gota de suero fisiológico. Trate de que la preparación no sea gruesa.
2. Cubra con una laminilla cubreobjetos y observe al microscopio con objetivos de 10 y luego de 40 x.
3. Este método permite observar trofozoítos de amebas, flagelados, ciliados en movimiento y larvas de helmintos, aunque se les observa incoloros. También se puede observar quistes y huevos.
4. Si la muestra está conservada en formol sal o es reciente, se repite el procedimiento de preparación utilizando una gota de Lugol que colorea los quistes, huevos y larvas así como algunas características morfológicas que ayudan a la identificación.

6. Resultados

7. Conclusiones

8. Sugerencias y /o recomendaciones

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

Koneman E.W., Allen S.D., Dowell S.R.Jr., Sommers H.M. 2000. Diagnóstico. Microbiológico. 6th edition. Ed. Panamericana, B. Aires



Guía de práctica N° 16:

TECNICA DE GOTA GRUESA

Sección :Docente: Mg. Renee S. Orrego Cabanillas

Fecha : / /

Duración: 180 minutos

Instrucciones:

- Estudiante utilizar las medidas de bioseguridad para la toma de muestra sanguínea y así evitar accidentes de trabajo además debe hacerse siguiendo las normas generales de asepsia y antisepsia.
- Utilizar la guía practica para realizar la técnica correctamente
- Utilizar el microscopio para la observación de los parásitos

1. Propósito /Objetivo:

Preparar una muestra de sangre para su estudio microscópico, comprobando la presencia o ausencia de parásitos hematológicos en ella, durante el proceso de observación.

2. Fundamento Teórico

La preparación de gota gruesa es un tipo de técnica que se utiliza para el estudio de parasitosis en sangre, como las distintas especies de *Plasmodium*, responsables de la Malaria o Paludismo, y para la identificación de distintas especies de *Trypanosoma* (*T. gambiense* y *T. rhodesiense*, responsables de la enfermedad del sueño o tripanosomiosis africana; *T. cruzi*, agente responsable de la enfermedad de Chagas).

3. Equipos, Materiales y Reactivos

3.1. Equipos

Ítem	Equipo	Característica	Cantidad
1	Microscopio		
2	Mechero de bunsen		
3	Mechero de Alcohol		

3.2. Materiales

Ítem	Material	Característica	Cantidad
1	Laminas porta objeto		
2	Coloreador		
3	Hisopos		
4	Asa de cool		

3.3. Reactivos

Ítem	Reactivo	Característica	Cantidad
1	Fucsina Fenicada		
2	Alcohol Acido		
3	Azul de metileno		



4. Indicaciones/instrucciones:

5. Procedimientos:

Hacer frotis de 2cm x 1 cm. Y fijarlo.

Fucsina x 4 min. y flamear la muestra hasta obtener 3 vapores; enjuagar.

Decolorante x 4 min; enjuagar.

Azul de metileno x 4 min; enjuagar

6. Resultados

7. Conclusiones

8. Sugerencias y /o recomendaciones

9. Referencias bibliográficas consultadas y/o enlaces recomendados

http://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/163_malaria.pdf