******

Universidad Nacional de Rio Cuarto

***Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales***

******

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR**

**CARRERA/S: TÉCNICO DE LABORATORIO**

**PLAN DE ESTUDIOS: Carrera Nº 08 – Plan año 1993**

**ASIGNATURA: LABORATORIO II CÓDIGO: 2146**

**DOCENTE RESPONSABLE: Elizabeth Agostini**

**DOCENTE CO-RESPONSABLE: Paola S. González**

**EQUIPO DOCENTE:**

**Pablo C. Bogino**

**Natalia Nocelli**

**AÑO ACADÉMICO: 2016**

**REGIMEN DE LA ASIGNATURA: cuatrimestral**

**RÉGIMEN DE CORRELATIVIDADES: (para cursado)**

|  |  |
| --- | --- |
| ***Aprobada*** | ***Regular*** |
| **Anatomía e Histología** | **Laboratorio I** |
|  | **Fisiología Animal** |
|  |  |

**CARGA HORARIA TOTAL: 112 hs**

**TEÓRICAS: 4 hs semanales LABORATORIO: 4 hs semanales**

**CARÁCTER DE LA ASIGNATURA: Obligatoria**

1. **CONTEXTUALIZACIÓN DE LA ASIGNATURA**

**Primer cuatrimestre del tercer año del plan de estudio.**

1. **OBJETIVOS PROPUESTOS**

El objetivo general de esta asignatura es capacitar al alumno para trabajar en laboratorios de análisis clínicos y/o biológicos. Tal sentido es enfocado no sólo desde el punto de vista técnico sino también teórico, familiarizándolo con la terminología adecuada y los conceptos químicos, metabólicos y fisiológicos involucrados en cada práctica.

Se pretende que el alumno sea capaz de desempeñarse en un laboratorio en forma responsable, respetando en todo momento las normas de bioseguridad.

En el desarrollo de la materia se prioriza el conocimiento previo de los fundamentos de la metodología y/o técnica a aplicar, a fin de que el alumno adquiera un equilibrado criterio que garantice un correcto desempeño en los diferentes tipos de laboratorios al que puede acceder.

La metodología aplicada tiende a capacitar adecuadamente al estudiante de manera que su inserción en el campo laboral inmediato sea eficiente y reconocida.

1. **CONTENIDOS BÁSICOS DEL PROGRAMA A DESARROLLAR**

Sangre: Hemograma. Velocidad de sedimentación globular. Pruebas de coagulación.

Orina: Recolección. Diferentes exámenes.

Proteínas: Métodos de cuantificación. Proteinograma electroforético.

Hígado: Pruebas para evaluar su funcionalidad.

Lípidos: Cuantificación. Lipoproteínas.

Hidratos de carbono: Cuantificación. Alteraciones metabólicas.

Nitrógeno no proteico: Determinaciones en sangre y orina.

Inmunología: Generalidades. Aplicaciones diagnósticas.

Hormonas: Generalidades. Diferentes métodos de cuantificación.

Cultivo *in vitro* vegetal: Condiciones. Aplicaciones.

Bioterio: Organización. Manejo de ratas y ratones.

1. **FUNDAMENTACIÓN DE LOS CONTENIDOS**

Durante el período asignado para el desarrollo de la asignatura se abordan temas relacionados con las pruebas de laboratorio que ayudan al diagnóstico y pronóstico de las alteraciones más frecuentes que afectan la condición de normalidad de los seres vivos. Dicha temática se desarrolla en las clases teóricas, en las que el alumno se interioriza acerca de los procesos fisiológicos, bioquímicos, y físico-químicos, que sustentan las condiciones de salud y enfermedad, las pruebas diagnósticas recomendadas en cada situación, la metodología a aplicar, las precauciones que debe tener para llegar a un resultado confiable y los cuidados necesarios para preservar su salud y la del medio en su ambiente laboral.

La práctica en el laboratorio, que desarrolla durante todo el cursado de la asignatura, le permite al alumno: adquirir confianza en el manejo de los distintos materiales e instrumental que serán las herramientas de trabajo diario en su futuro, afianzar sus conocimientos a los fines de detectar y minimizar posibles errores, poder relacionar los resultados obtenidos con los conocimientos teóricos adquiridos, en definitiva, poder contribuir en forma responsable a la resolución de situaciones en el ámbito al que pertenezca el laboratorio donde se desempeña.

1. **ACTIVIDADES A DESARROLLAR**

La asignatura se implementa mediante el desarrollo teórico necesario de los temas en primera instancia, luego los mismos son abordados en los trabajos prácticos de laboratorio.

Las clases teóricas tienen lugar dos veces por semana, con una duración de dos horas cada una. En días posteriores, con una duración de cuatro horas semanales, se realizan las actividades de Laboratorio relacionadas al tema cuyo teórico se desarrolló en esa semana.

Las actividades de Laboratorio se desarrollan del siguiente modo: - *Introducción*: el docente jerarquiza los principales aspectos relacionados al tema motivo de la práctica. Los alumnos plantean sus dudas. - *Evaluación*: el alumno responde en forma escrita un breve cuestionario a los fines de demostrar que posee los conocimientos mínimos del tema, los cuales debe adquirir mediante la lectura previa de una guía de trabajos prácticos. – *Desarrollo de la práctica*: consiste en la puesta en marcha del Trabajo Práctico, la cual se realiza basándose en instrucciones técnicas contenidas en la guía de TP. - *Análisis de resultados*: se analizan los resultados de cada alumno, se comparan entre sí y se discuten conclusiones.

**CLASES TEÓRICAS:** Presentación y desarrollo de los temas.

Carga horaria: 4 hs semanales.

**CLASES DE TRABAJOS PRÁCTICOS DE LABORATORIO:** Introducción, evaluación, desarrollo de la práctica y análisis de los resultados.

Carga horaria: 4 hs semanales

1. **NÓMINA DE TRABAJOS PRÁCTICOS**

**Trabajo Práctico 1. Hemograma completo:** Obtención de muestras de sangre, recuento de glóbulos rojos y blancos. Determinación del volumen globular.

**Trabajo Práctico 2. Hemograma completo (Continuación). VSG:** Recuento de plaquetas. Frotis sanguíneo: coloración, identificación de los distintos elementos celulares. Velocidad de sedimentación globular (VSG), distintos métodos.

**Trabajo Práctico 3. Pruebas de coagulación. Orina:** Tiempo de coagulación, de sangría y de protrombina. Orina Completa. Recolección de muestras. Examen físico y químico. Observación microscópica del sedimento urinario.

**Trabajo Práctico 4. Proteínas:** Confección de una curva de calibración, obtención de la pendiente y el factor, cálculo de la concentración de proteínas totales en una muestra problema. Proteinograma por electroforesis sobre acetato de celulosa de muestras de suero humano y posterior cuantificación de las distintas fracciones por elución de las mismas.

**Trabajo Práctico 5. Funcionalismo Hepático:** Determinación de la actividad sérica de las siguientes enzimas: alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina. Métodos cinéticos y de punto final. Determinación de bilirrubina directa, indirecta y total.

**Trabajo Práctico 6. Hidratos de carbono y lípidos:** Glucosa, determinación por método enzimático. Determinación enzimática de colesterol y triacilglicéridos. Determinación de HDL-colesterol y LDL-colesterol. Cálculo del índice de riesgo de enfermedad cardiaca coronaria (ECC).

**Trabajo Práctico 7. Nitrógeno no proteico:** Determinación de urea en sangre y orina. Determinación de ácido úrico por método enzimático. Creatinina: dosaje en sangre y orina. Cálculo de la depuración endógena (clearance de creatinina).

**Trabajo Práctico 8. Serología:** Reacción de V.D.R.L. cuali y cuantitativa.. Determinación del título de antiestreptolisina O. Reacción de Huddleson. Reacción de Paul-Bunnel-Davidsohn y reacción del látex A.R.

**Trabajo Práctico 9. Enfermedad de Chagas – VIH (SIDA):** Detección de anticuerpos contra *Tripanosoma cruzi* por la técnica de hemaglutinación indirecta y enzimoinmunoanálisis (ELISA). Detección de anticuerpos anti VIH-1 y VIH-2 por el método de ELISA y de aglutinación de partículas.

**Trabajo Práctico 10. Hormonas:** Detección de gonadotrofina coriónica urinaria por el método de aglutinación directa e indirecta. Cuantificación de una hormona en suero por radioinmunoanálisis. Construcción de diferentes curvas de calibración y cálculo de la concentración de la hormona en la muestra. Comparación y discusión de los resultados.

**Trabajo Práctico 11. Cultivo in vitro de tejidos y órganos vegetales:** Preparación de medios para cultivos celulares de origen vegetal. Obtención de plántulas *in vitro*. Inducción de callos. Obtención de cultivos de raíces transformadas y subcultivos. Aplicación de cultivos *in vitro* vegetales: producción de peroxidasas y determinación de actividad enzimática por método espectrofotométrico.

**Trabajo práctico 12. Bioterio:** Manejo de pequeños animales de laboratorio. Técnicas de contención. Sexado y marcado de ratas. Eutanasia con CO2. Anestesia de animales, diferentes tipos. Distintos métodos de extracción de sangre.

**Trabajo Práctico 13.** Autoevaluación de la práctica adquirida durante el desarrollo de los Trabajos Prácticos. Cuantificación de los distintos metabolitos y enzimas en muestras previamente valoradas por el equipo docente. Integración de conceptos y criterios aplicados.

**Trabajo práctico 14. Salida de campo:** Visita al Laboratorio Central del Hospital San Antonio de Padua de la ciudad de Río Cuarto para participar de una clase teórico-práctica sobre el tema “Autoanalizadores”

1. **HORARIOS DE CLASES:**

**Teóricas:** martes de 10 a 12 hs y miércoles de 14 a 16 hs

**Prácticos de laboratorio:** jueves de 8.30 a 12.30 hs (comisión 1)

jueves de 13.30 a 17.30 hs (comisión 2)

viernes de 8.30 a 12.30 hs (comisión 3)

**HORARIO DE CLASES DE CONSULTAS:** Cinco horas semanales distribuidas de lunes a viernes en diferentes horarios.

1. **MODALIDAD DE EVALUACIÓN:**

**Evaluaciones Parciales:** dos exámenes escritos (no acumulativos) con respuestas para desarrollar y de múltiple opción.

**Evaluación Final:** examen oral sin sorteo de temas; que comprende todos los temas desarrollados.

**Evaluación final** **en condición de alumno Libre:** No está contemplada esta instancia de evaluación. Esto se fundamenta por las características especiales de la asignatura, particularmente teniendo en cuenta la cantidad de trabajos de prácticos de laboratorio íntimamente relacionados con la práctica profesional y que se deben desarrollar siguiendo estrictas normas de bioseguridad, requiriendo de un proceso de enseñanza progresivo con la supervisión de los docentes en todo momento.

* **CONDICIONES DE REGULARIDAD:**

Asistencia y aprobación del 80% de los trabajos prácticos y aprobación de los 2 exámenes parciales.

* **CONDICIONES DE PROMOCIÓN:** no se contempla.

PROGRAMA ANALÍTICO

1. **CONTENIDOS**

**Tema 1:** Normas básicas de bioseguridad para trabajar en un laboratorio de análisis clínicos. Etapas del análisis clínico: preanalítica, analítica y post analítica.Sangre: composición, propiedades e importancia fisiológica. Obtención de muestras de sangre, separación de plasma y suero. Anticoagulantes: tipos y mecanismos de acción. Cámara y pipetas cuentaglóbulos: descripción y manejo. Hemograma. Recuento de glóbulos rojos, blancos y plaquetas. Líquidos de dilución. Volumen globular (hematocrito). Extendido sanguíneo y coloración del mismo: Giemsa y May-Grunwald-Giemsa. Fórmula leucocitaria absoluta y relativa. Determinación de hemoglobina: método de la cianometahemoglobina. Indices hematimétricos: cálculos e interpretación. Anemia, policitemia, leucocitosis, leucopenia, trombocitosis y trombocitopenia. Velocidad de sedimentación globular. Pruebas de coagulación: tiempo de hemorragia, coagulación, protrombina y KPTT.

**Tema 2:** Orina: métodos de recolección para los distintos tipos de análisis (cuali y cuantitativos). Examen físico y químico. Proteinuria, hematuria, glucosuria, hemoglobinuria, cetonuria. Examen microscópico del sedimento urinario: elementos normales y patológicos. Examen bacteriológico: urocultivo, recuento de colonias y antibiograma.

**Tema 3:** Proteínas: tipos, funciones e importancia fisiológica. Reacciones de reconocimiento y cuantificación. Determinación de proteínas totales (Biuret), curva de calibración. Albúmina (Bromo cresolsulfon ftaleína) y globulinas en sangre. Proteinograma químico. Relación Alb/Glob. Electroforesis, fundamentos, parámetros modificables. Proteinograma por electroforesis: metodología e interpretación. Diferentes soportes y sus perfiles (acetato de celulosa y poliacrilamida).

**Tema 4:** Nociones anatómicas y fisiológicas del hígado. Pruebas para determinar el funcionalismo hepático. Bilirrubina: síntesis y conjugación. Bilirrubina total, directa e indirecta. Ictericias: pre-hepáticas, hepáticas y post-hepáticas. Importancia en el recién nacido, eritroblastosis fetal y kernicterus.

Nociones de enzimología, medición de la actividad enzimática por punto final y método cinético. Actividades enzimáticas en suero: alanina aminotransferasa (ALT/GPT), aspartato aminotransferasa (AST/GOT), fosfatasa alcalina, 5'nucleotidasa y gamma-glutamil-transferasa (γGT). Hepatitis virales.

**Tema 5:** Lípidos: propiedades generales e importancia fisiológica. Clasificación. Lipoproteínas: QM, HDL, IDL, LDL y VLDL. Composición y función. Relación entre colesterol y aterosclerosis. Hipercolesterolemia familiar, hetero y homocigota. Análisis de lípidos: colesterol, triglicéridos, HDL-colesterol y LDL-colesterol. Su importancia en las patologías circulatorias. Indice de riesgo de enfermedades cardiovasculares.

**Tema 6:** Glúcidos: importancia fisiológica de la glucosa. Alteraciones metabólicas: generalidades. Diabetes mellitus: tipos, conceptos generales, síntomas, factores de riesgo y diagnóstico. Diabetes tipo I; tipo II y gestacional. Insulina. Hormonas hiperglucemiantes. Síndrome metabólico. Biomarcadores. Prueba de tolerancia a la glucosa: objetivo, metodología e interpretación clínica. Métodos químicos y enzimáticos para la valoración de la glucosa. Obtención y conservación de las muestras.

**Tema 7:** Nitrógeno no proteico: urea, creatinina y ácido úrico. Síntesis y excreción. Importancia en la eliminación de nitrógeno. Determinaciones en sangre y orina: métodos químicos y enzimáticos. Valoración del funcionalismo renal. Depuración endógena de creatinina. Procesos fisiopatológicos asociados a función renal: insuficiencia renal aguda, insuficiencia renal crónica, síndrome urémico. Procesos fisiopatológicos asociados a hiperuricemia: gota y litiasis renal.

**Tema 8:** Nociones de inmunología. Aparato inmunocompetente. Respuesta Inmunológica. Memoria inmunológica. Inmunidad adquirida. Respuesta inmune primaria y secundaria. Antígeno: definición y determinantes antigénicos. Anticuerpos: su estructura y función. Respuesta humoral. Período ventana.

Inmunoglobulinas: tipos. Reacción antígeno-anticuerpo y su importancia en el campo de la inmunología diagnóstica. Efecto de zona. Reacciones cruzadas.

**Tema 9:** Enfermedades de transmisión sexual. Sífilis: Agente etiológico, formas de contagio. Distintas etapas de la infección. Pruebas diagnósticas treponémicas y no treponémicas. Microscopía y serología. Reacción V.D.R.L. cuali y cuantitativa. Determinación en líquido cefalorraquídeo. Gonorrea: agente etiológico, contagio, diagnóstico: exudado uretral y vaginal. Tratamiento y prevención. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), conceptos generales, ciclo de replicación, vías de transmisión. Transmisión vertical del VIH. Evolución de la infección por VIH. Análisis serológico: enzimoinmunoanálisis (ELISA de primera a cuarta generación), aglutinación de partículas de gelatina, Western blot. Fundamento de los métodos. Nuevos algoritmos de diagnóstico.

**Tema 10:** Brucelosis: agentes etiológicos, vías de transmisión, patogenia, manifestaciones clínicas, métodos diagnósticos, pruebas de aglutinación en placa (Huddleson, RB y BPA) y en tubo (Wright) Mononucleosis infecciosa: agente etiológico, patogenia, manifestaciones clínicas, diagnóstico serológico: determinación de anticuerpos heterófilos (prueba de Paul-Bunnel-Davidsohn) y determinación de anticuerpos específicos. Fiebre reumática: etiología, curso de la enfermedad, diagnóstico:título de antiestreptolisina O (AELO), fundamento e interpretación. Artritis reumatoidea: fisiopatología (factor reumatoideo), diagnóstico: reacción del látex.

**Tema 11:** Enfermedad de Chagas-Mazza, agente etiológico y vector. Distintos períodos de la infección. Métodos directos e indirectos para su diagnóstico. Hemaglutinación indirecta, enzimoinmunoanálisis (ELISA). Técnicas de inmunofluorescencia directa e indirecta: generalidades, fundamento y aplicaciones.

**Tema 12:** Hormonas: generalidades e importancia fisiológica. Estructura química. Mecanismo general de acción. Propiedades generales. Clasificación. Gonadotrofina coriónica humana (GCH), su importancia en el diagnóstico del embarazo. Determinación en orina, interpretación clínica. Hormonas tiroideas: importancia clínica, determinación en suero e interpretación. Progesterona: importancia clínica, determinación en suero e interpretación.

**Tema 13: Métodos para determinación de hormonas: Inmunoensayos.** Radioinmunoanálisis: fundamento del método y su aplicación. Enzimoinmunoanálisis; Fluoroinmunoanálisis; Quimioluminoinmunoanálisis. Fundamentos y principales aplicaciones.

**Tema 14:** Nociones básicas sobre autoanalizadores: descripción y principales características. Ventajas y desventajas. Importancia de los controles internos y externos. Mantenimiento.

**Tema 15:** Métodos generales de cultivo *in vitro* vegetal. Concepto de *cultivo in vitro*. Ventajas respecto del cultivo a campo. Totipotencia celular. Infraestructura para el cultivo *in vitro*: instalaciones, equipos, materiales, cabina de flujo laminar. Esterilización/desinfección. Sistemas de esterilización, vapor húmedo, microfiltración. Medios de cultivo, composición. Fitohormonas. Medios sólidos y líquidos. Desinfección del material vegetal. Obtención de plantas en condiciones asépticas.

**Tema 16:** Diferentes tipos de cultivo *in vitro* vegetales y su aplicación. Cultivo de callos y suspensiones celulares. Inducción, mantenimiento y subcultivo. Ventajas y desventajas. Cultivo de raíces transformadas. Obtención. Transformación mediada por *Agrobacterium rhizogenes*. Mecanismo, mantenimiento y subcultivo. Aplicaciones de cultivos *in vitro*: producción de compuestos de interés farmacológico, enzimas (peroxidasas), micropropagación, conservación de germoplasma, fitorremediación. Plantas transgénicas, concepto, métodos de obtención, principales campos de aplicación.

**Tema 17:** Animales de laboratorio: definición, factores ambientales para la reproducción de animales. Nutrición. Calidad genética. Manejo reproductivo: sexado, ciclo estral, sistemas monogámico y poligámico. Marcado de animales: marcadores temporarios y permanentes. Anestesia general, elección del anestésico según la especie animal, edad, peso. Clasificación de los tipos de anestesia. Vías de administración. Métodos de eutanasia: físicos y químicos. Rutina de trabajo en el bioterio: jaulas, densidad de población, lechos, limpieza, desinfectantes.

1. **CRONOGRAMA DE CLASES Y PARCIALES**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Semana** | **Día/**  **Fecha** | **Teóricos** | **Día/**  **Fecha** | **Prácticos** | **Día/**  **Fecha** | **Laboratorios** | **Parciales /**  **Recuperatorios** |
| **1** | **martes y miércoles** | **X** |  |  | **jueves y viernes** | **X** | **Son consensuados durante el cuatrimestre** |
| **2** |  |  |  |  |  |  |  |
| **3** |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |

1. **BIBLIOGRAFÍA**

**De consulta**:

"Atlas de orina". (GRAFF). <http://librosmvz.blogspot.com.ar/2011/07/analisis-de-orina-atlas-color.html>

“Agua, electrolitos y equilibrio acido-base” (2007) Ayus, Caramelo y Tejedor. EMP

“Análisis de orina y de los liquidos corporales” (2011) Graff-Mundt- Shanahan EMP

“Aspectos básicos de bioquímica clínica” (1997)

“Bioquímica: texto y atlas” (2003) J. Díaz Portillo. Edit. Médica Panamericana (E.M.P).

“Biotecnología y Mejoramiento Vegetal”(2004). Echenique V; Rubinstein C; Mroginski L. Ediciones INTA, ISBN 987-521-138-9

“Biotecnología” (2007) Muñoz de Malajovich MA. Edit. Univ Nac. de Quilmes

“Cultivo de tejidos vegetales” (1991). Hurtado D y Merino ME eds, primera edición. Ed.Trillas, Méjico.

"Diagnóstico clínico de laboratorio". 3ra. edición. Levinson Macfate. Editorial El Ateneo.

"Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio. Tomo I y II. Séptima edición. John Berbard Henry. Editorial Jims. Barcelona.

“Diagnóstico citológico de la hemopatías” Grignaschi VJ. EMP (1991)

“El laboratorio de diagnóstico clínico” (2005) Henry- Editorial Marban

“El sedimento urinario” Althof, Kindler, Heintz. E. M. P. (2003).

"El Laboratorio en el diagnóstico de la enfermedad" Ióvine-Selva-Ióvine. (EMP).

"El Laboratorio en la Clínica". Ióvine-Selva, 2da. edición. Editorial Panamericana.

“Fundamentos de Interpretación clínica de los exámenes de laboratorio” (2010) Ruiz- Reyes. EMP

“Hemograma: Manual de Interpretación” (2012) Failace R; 5ta edición EMP

“Hemograma” (2012) Oliveira. Editorial Amolca

“Inmunología: Fundamentos” (2008) Roitt- 11va edicion. EMP

“Inmunologia” (2008) Kindt . Editorial Mc Graw-Hill

“Inmunopatología Molecular: nuevas fronteras de la medicina” (2004) Rabinovich. EMP

"Interpretación clínica del Laboratorio" 8va. edición (2014). Angel. Editorial Médica Panamericana.

"Manual de Análisis Clínicos" Tomo I y II. Federico Aiquel.

"Manual para Técnicos de laboratorio" (OPPENHEIM). Editorial Panamericana.

"Química Biológica". Antonio Blanco. 6ta. edición. Editorial El Ateneo.

"Química Clínica" Kaplan, L. A. y Pesce, A. J. Editorial Médica Panamericana.

“ Principios de Bioquimica Clinica y Patología Molecular (2010) González- Hernández. EMP

**De lectura obligatoria:** Las guías de trabajos prácticos de la asignatura.