

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E INMUNOLOGIA.

CARRERA: TECNICO DE LABORATORIO

PLAN DE ESTUDIOS: 1993 Versión 1

(Consignar Orientación si existiere)

ASIGNATURA: LABORATORIO III

CÓDIGO: 2154

DOCENTE RESPONSABLE: Adriana Mabel Torres, Dra. en Ciencias Biológicas (PT-DSE- CIC-CONICET)- **Co-responsable:** Cristina Torres, MSc. en Biotecnología. Dra. en Ciencias Biológicas (PAD-DE)

EQUIPO DOCENTE:

Verónica Alonso, Dra. en Ciencias Biológicas (AY Primera DS; CIC – CONICET)

Sofía A. Palacios, Dra. en Ciencias Biológicas (JTP-DE)

Nicolás Pastor, Dr. en Ciencias Biológicas (CIC-CONICET)

Mauricio Ganuza, Lic. en Biotecnología (Becario CONICET)

Franco Escobar (CIC-CONICET).

AÑO ACADÉMICO: 2018

REGIMEN DE LA ASIGNATURA: Cuatrimestral

RÉGIMEN DE CORRELATIVIDADES: (para cursado)

<i>Aprobada</i>	<i>Regular</i>
Laboratorio I	Laboratorio II
	Microbiología Gral

CARGA HORARIA TOTAL: 112 hs.

TEÓRICO-PRÁCTICOS de Laboratorio: 112 hs.

CARÁCTER DE LA ASIGNATURA: Obligatoria

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA ASIGNATURA

Segundo Cuatrimestre

Ciclo Superior VI cuatrimestre

A. OBJETIVOS PROPUESTOS

Objetivo General

- Esta asignatura pretende dar una formación básica y actualizada sobre las herramientas metodológicas para el desempeño del técnico en un laboratorio de Microbiología clínica y alimentaria.

Objetivos Parciales

- Brindar las bases teóricas de los métodos y técnicas utilizadas en el laboratorio microbiológico con el fin que el estudiante pueda contribuir a utilizar y aplicar las técnicas de diagnóstico en el laboratorio de Microbiología, de tal forma que se garantice la máxima fiabilidad, idoneidad y calidad de las mismas en virtud de su formación profesional.
- Ejercitar la habilidad y la destreza manual conjuntamente con la comprensión de los procedimientos metodológicos empleados.

B. CONTENIDOS BÁSICOS DEL PROGRAMA A DESARROLLAR

Medios de cultivo, soluciones y reactivos empleados en el diagnóstico bacteriológico, micológico. Métodos y técnicas empleados en el diagnóstico microbiológico. Métodos para la conservación de cepas bacterianas. Materiales y reactivos empleados en el inmunodiagnóstico. Métodos y técnicas empleados en el inmunodiagnóstico. Métodos y técnicas para la valoración de la inmunidad mediada por células (IMC). Métodos y técnicas empleados en ensayos virológicos. Cultivos celulares. Detección viral.

C. FUNDAMENTACIÓN DE LOS CONTENIDOS

La asignatura Laboratorio III comprende clases teórico-prácticas, en las que fundamentalmente se pretende transmitir los conocimientos de manera integrada de forma interactiva con los alumnos, como así también aplicar los conocimientos adquiridos en asignaturas anteriores y en la presente para lograr el mejor desempeño del profesional en el laboratorio. El objetivo de esta asignatura consiste en explicar los conceptos básicos necesarios para realizar la selección, recolección, transporte y procesamiento de muestras clínicas y de alimentos para el análisis microbiológico. Además se complementa con el empleo de métodos de siembra, esterilización, de diagnóstico rápido y de serodiagnóstico que se utilizan actualmente en laboratorios o centros de referencia. Se pretende brindarles las herramientas necesarias para poder desempeñarse de manera satisfactoria en laboratorios de análisis bacteriológico, micológico, virológico empleando técnicas microbiológicas, inmunológicas y moleculares.

D. ACTIVIDADES A DESARROLLAR

Durante el cursado de la asignatura se pondrá énfasis en el desarrollo de actividades prácticas, aportando de manera sincronizada los contenidos teóricos básicos necesarios para una adecuada interpretación; se pretende lograr que el estudiante adquiera la capacidad resolutoria necesaria frente a situaciones relacionadas a su práctica profesional. Por lo tanto, el curso se desarrollará mediante clases teórico-prácticas (discusiones teóricas y prácticas de laboratorio).

Las clases se desarrollarán con la participación activa del alumno mediante la discusión de los temas previamente estudiados y la elaboración de un informe de la práctica de laboratorio al final de cada Unidad. Los alumnos distribuidos en grupos, realizan las actividades previstas para el logro de los objetivos de las clases teórico-prácticas.

Para cumplir con los objetivos planteados, el curso se desarrolla en teórico-prácticos, durante 12 semanas. Los temas teóricos son introductorios a las clases prácticas para lograr que el alumno entienda los conceptos básicos de las metodologías que aprenderá, pero tendiendo siempre a que las clases sean mayormente prácticas donde los alumnos puedan desenvolverse en el laboratorio y familiarizarse con la metodología y equipamientos necesarios. Para el desarrollo de las clases prácticas se le brinda al alumno una guía de trabajos prácticos y todos los elementos necesarios para que puedan realizar las técnicas en grupos pequeños.

Considerando el número de alumnos que cursan la asignatura (30 a 40), durante el desarrollo de la sección práctica se subdivide al grupo en dos que realizan el práctico en forme paralela, bajo la supervisión del responsable del módulo y un ayudante a fin de facilitar la disponibilidad de equipos de microscopía y otros materiales requeridos para las experiencias de laboratorio.

Posteriormente se solicita a los alumnos un informe sobre el laboratorio, donde debe describir los objetivos, las técnicas utilizadas, los resultados obtenidos y sus propias conclusiones al respecto.

Se brindarán de cada temática, seminarios que los alumnos deberán presentar sobre diferentes metodologías que no pueden realizarse en el laboratorio por cuestiones de bioseguridad o infraestructura. También se realizaran sesiones de videos formativos en estas temáticas.

CLASES TEÓRICAS: (modalidad y carga horaria)

- Introducción de la asignatura con sus contenidos y cronograma de actividades. Presentación de las Competencias y funciones profesionales de los Técnicos en un laboratorio de análisis microbiológico. Responsabilidades del Técnico en un equipo de trabajo en diferentes laboratorios.

- **UNIDAD I:** Importancia del diagnóstico de las infecciones de etiología bacteriana, fúngica y viral.
- **UNIDAD II.** Métodos y Técnicas empleados en ensayos virológicos-Preparación de materiales para uso virológico.
- **UNIDAD III.** Detección Viral: Metodologías empleadas en el diagnóstico virológico para detección de replicación viral en cultivos celulares. Cultivos Celulares.
- **UNIDAD IV:** Medios de cultivo, soluciones y reactivos empleados en el diagnóstico bacteriológico y micológico.
- **UNIDAD V:** Métodos y técnicas empleados en el diagnostico bacteriológico y micológico.
- **UNIDAD VI.** Métodos para la conservación de cepas bacterianas y Fúngicas
- **UNIDAD VII:** Materiales y reactivos empleados en el inmunodiagnóstico.

- **UNIDAD VIII:** Métodos y técnicas empleados en el inmunodiagnóstico. Métodos para diagnosticar una enfermedad infecciosa. Indicadores empleados en el Inmunodiagnóstico.
- **UNIDAD IX.** Detección de metabolitos secundarios de cepas fúngicas.
- **UNIDAD X:** Diagnóstico Molecular en Microbiología

CLASES PRÁCTICAS: (modalidad y carga horaria)

CLASES DE TRABAJOS PRÁCTICOS DE LABORATORIO: (modalidad y carga horaria)

E. NÓMINA DE TRABAJOS PRÁCTICOS

- **Laboratorio I:** Materiales y técnicas empleados en ensayos virológicos.
- **Laboratorio II:** Detección viral. Cultivos celulares.
- **Laboratorio III:** Medios de cultivo, soluciones y reactivos empleados en el diagnóstico bacteriológico y micológico.
- **Laboratorio IV:** Materiales y métodos empleados en el aislamiento e identificación de bacterias en muestras de alimentos.
- **Laboratorio V:** Materiales y métodos empleados en el aislamiento e identificación de bacterias en muestras de origen clínico.
- **Laboratorio VI:** Materiales y métodos empleados en el aislamiento e identificación de hongos en muestras de alimentos y de origen clínico.
- **Laboratorio VII:** Métodos de conservación de cepas bacterianas y fúngicas.
- **Laboratorio VIII:** Inmunodiagnóstico. Pruebas de interacción secundaria en muestras clínicas humanas y animales y en el análisis de muestras de alimentos
- Procesamiento, toma y conservación de muestras.
- **Laboratorio IX:** Inmunodiagnóstico. Pruebas de interacción primaria en muestras clínicas humanas y animales y en el análisis de muestras de alimentos.
- **Laboratorio X:** Detección de metabolitos secundarios.
- **Laboratorio XI:** Diagnóstico molecular en microbiología

F. HORARIOS DE CLASES: Martes 14:00 a 17:30 hs- Jueves 9 a 12:30 hs.

HORARIO DE CLASES DE CONSULTAS: Lunes de 10 a 12 hs.

G. MODALIDAD DE EVALUACIÓN:

Evaluaciones Parciales: (Características y/o modalidad)

Los estudiantes serán evaluados por el desempeño, participación individual y por la presentación de un protocolo individual donde se registran los materiales y metodología empleados, como así también los resultados obtenidos y su interpretación.

Exámenes parciales

En número de 2 (dos), abarcan conceptos teóricos y consisten en pruebas objetivas desarrolladas en forma individual y escrita por los alumnos.

Evaluación Final: Examen oral de conceptos teóricos y teórico-prácticos. Los alumnos que presenten la condición de libre no podrán rendir el examen final de la asignatura. Este punto se fundamenta en el hecho de que la materia es de carácter netamente práctico, en donde también se plantean situaciones problemáticas con discusiones tendientes a

resolverlas, en relación a la rutina profesional. Además es importante tener en cuenta que uno de los objetivos principales es el de reafirmar los conocimientos metodológicos, enseñar nuevas técnicas y métodos como así también incentivar la habilidad práctica durante el desarrollo de las clases correspondientes a cada uno de los módulos de la asignatura. En consecuencia, en el caso de los alumnos libres, los docentes no tendrían la posibilidad de evaluar lo anteriormente descripto.

CONDICIONES DE REGULARIDAD: Los alumnos deben cumplimentar con el 80% de asistencia y aprobación de los Teórico-Prácticos y aprobar con una calificación mínima de cinco puntos las dos instancias evaluativas parciales. Tendrán opción a recuperar ambos parciales para mantener la condición de regular.

CONDICIONES DE PROMOCIÓN: La asignatura no tiene sistema de promoción.

PROGRAMA ANALÍTICO

A. CONTENIDOS

Introducción de la asignatura con sus contenidos y cronograma de actividades. Presentación de las Competencias y funciones profesionales de los Técnicos en un laboratorio de análisis microbiológico. Responsabilidades del Técnico en un equipo de trabajo en diferentes laboratorios.

UNIDAD I: Importancia del diagnóstico de las infecciones de etiología bacteriana, fúngica y viral. Generalidades del diagnóstico microbiológico y serológico. Detección directa de antígenos microbianos en muestras biológicas. Métodos moleculares. Métodos para el cultivo y aislamiento de bacterias, hongos y virus. Técnicas serológicas. Medidas de bioseguridad en el laboratorio de Bacteriología, Micología y Virología Médica. Tratamiento y eliminación de los materiales infectados. Organización del laboratorio y control de calidad.

UNIDAD II. METODOS Y TECNICAS EMPLEADOS EN ENSAYOS VIROLÓGICOS

Preparación de materiales para uso virológico. Desinfección de materiales contaminados. Criterios a considerar en la preparación de soluciones y reactivos. Métodos de esterilización, mecanismos de acción. Control de calidad de la esterilización.

UNIDAD III. DETECCIÓN VIRAL.

Metodologías empleadas en el diagnóstico virológico para detección de replicación viral en cultivos celulares. Cultivos Celulares. Tipos de cultivos celulares empleados en el diagnóstico virológico. Mantenimiento de los cultivos celulares. Técnicas de dispersión celular. Recuento de células viables. Metodología para congelación de células. Infección viral de una monocapa celular. Conservación de cepas virales. Técnicas empleadas en microscopía electrónica.

UNIDAD IV: Medios de cultivo, soluciones y reactivos empleados en el diagnóstico bacteriológico y micológico. Formulación y preparación de colorantes y reactivos para la observación microscópica de bacterias y hongos. Formulación, preparación, esterilización y

conservación de diferentes medios de cultivo (moderadamente y marcadamente selectivos y diferenciales) y soluciones para el aislamiento e identificación de bacterias y hongos a partir de muestras clínicas y de alimentos.

UNIDAD V: Métodos y técnicas empleados en el diagnóstico bacteriológico y micológico. Recepción e identificación de las muestras. Recolección, transporte y procesamiento de muestras clínicas y de alimentos para su análisis microbiológico. Métodos ópticos empleados para el diagnóstico. Técnicas microbiológicas convencionales y rápidas empleados en el aislamiento e identificación de bacterias y hongos en muestras clínicas y de alimentos. Métodos de enriquecimientos selectivos y no selectivos para bacterias. Características generales de los hongos patógenos y contaminantes de alimentos. Marcha diagnóstica para distintos tipos de alimentos. Métodos de recuento. Métodos de estudio para determinar la susceptibilidad a antimicrobianos. Informes de laboratorio.

UNIDAD VI. METODOS PARA LA CONSERVACION DE CEPAS BACTERIANAS y FÚNGICAS

Principales métodos de conservación de cepas bacterianas y fúngicas. Métodos de mantenimiento por sub-cultivo, desecación, congelación, en nitrógeno líquido y liofilización. Criterios considerados para la elección de un método adecuado. Colecciones internacionales.

UNIDAD VII: Materiales y reactivos empleados en el inmunodiagnóstico. Conceptos generales del inmunodiagnóstico. Conceptos de antígeno e inmunógeno. Clasificación de las reacciones Ag-Ac in vitro. Concepto de sensibilidad y especificidad. Serodiagnóstico. Consideraciones sobre las pruebas de inmunidad humoral. Principales interferencias en las muestras. Antígenos: Procesamiento de los antígenos para su empleo como reactivo en el serodiagnóstico. Procesamiento, toma y conservación de las muestras. Problemas técnicos en el procesamiento de las muestras. Materiales y reactivos empleados en el inmunodiagnóstico.

UNIDAD VIII: METODOS Y TECNICAS EMPLEADOS EN EL INMUNODIAGNÓSTICO

Métodos para diagnosticar una enfermedad infecciosa. Indicadores empleados en el Inmunodiagnóstico. Interpretación de las pruebas serológicas. Modos de expresar los resultados de una prueba. Métodos para demostrar la presencia de anticuerpos o antígenos. Fallas en la detección de anticuerpos. Técnicas de marcación isotópica y enzimática. Técnica de marcación mediante el empleo de anticuerpos conjugados con fluoresceína.

UNIDAD IX. DETECCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE CEPAS FUNGICAS.

Precusores y vías del metabolismo secundario. Producción de penicilinas y micotoxinas. Pruebas de detección de metabolitos secundarios. Métodos de cuantificación. Técnicas biológicas y químicas.

UNIDAD X: Diagnóstico Molecular en Microbiología: Los ácidos nucleicos como elementos de análisis. Extracción de ADN. Técnicas de Hibridación. Métodos de amplificación y su utilización en diagnóstico.

PROGRAMA PRÁCTICO

Laboratorio I: Materiales y técnicas empleados en ensayos virológicos. Procedimientos generales de lavado, preparación y esterilización de materiales para uso virológico. Material nuevo de vidrio o de goma: procesamiento, lavado, preparación y esterilización. Tratamiento e inactivación de material contaminado. Preparación y esterilización de soluciones y reactivos para uso virológico: criterios a considerar.

Laboratorio II: Cultivos celulares. Dispersión celular. Recuento de células viables. Obtención y mantenimiento de monocapas celulares. Observación de monocapas celulares al microscopio óptico invertido. Infección viral de un cultivo celular. Visualización del efecto citopático y de la formación de placas de lisis. Detección viral. Cosecha y preparación de la muestra viral para la observación por microscopía electrónica. Elaboración de informe.

Laboratorio III: Medios de cultivo, soluciones y reactivos empleados en el diagnóstico bacteriológico y micológico. Formulación y preparación de colorantes y reactivos para la observación microscópica de bacterias y hongos. Formulación, preparación, esterilización y conservación de diferentes medios de cultivo y soluciones para el aislamiento e identificación de bacterias y hongos en muestras clínicas y de alimentos.

Laboratorio IV: Materiales y métodos empleados en el aislamiento e identificación de bacterias en muestras de alimentos. Procesamiento de muestras de alimentos. Métodos y técnicas empleados en la observación microscópica, aislamiento e identificación de bacterias en alimentos. Técnicas de recuento.

Laboratorio V: Materiales y métodos empleados en el aislamiento e identificación de bacterias en muestras de origen clínico. Muestras clínicas. Métodos y técnicas empleados para la observación microscópica, aislamiento e identificación de bacterias a partir de orina. Métodos de estudio para determinar la susceptibilidad a antimicrobianos de las cepas bacterianas. Prueba de sensibilidad por difusión en agar.

Laboratorio VI: Materiales y métodos empleados en el aislamiento e identificación de hongos en muestras de alimentos y de origen clínico. Procesamiento de muestras de alimentos. Métodos y técnicas empleados en la observación microscópica, aislamiento e identificación de hongos en alimentos y muestras clínicas. Técnicas de recuento.

Laboratorio VII: Métodos de conservación de cepas bacterianas y fúngicas. Métodos de mantenimiento por subcultivo, congelación y liofilización.

Laboratorio VIII: Inmunodiagnóstico. Pruebas de interacción secundaria en muestras clínicas humanas y animales y en el análisis de muestras de alimentos. Procesamiento, toma y conservación de muestras. Métodos para diagnosticar una enfermedad infecciosa.

Reacción Ag-Ac de interacción secundaria. Precipitación y aglutinación. Demostración de la presencia de anticuerpos y/o antígenos. Interpretación de las pruebas serológicas.

Laboratorio IX: Inmunodiagnóstico. Pruebas de interacción primaria en muestras clínicas humanas y animales y en el análisis de muestras de alimentos. Métodos para identificar la presencia de antígeno y/o anticuerpo por reacciones de interacción primaria. Inmunofluorescencia directa e indirecta. Enzimoimmunoanálisis, quimioluminiscencia. Materiales y reactivos empleados. Interpretación de las pruebas.

Laboratorio X: Detección de metabolitos secundarios. Análisis para la detección de diferentes micotoxinas por técnicas rápidas y HPLC. Medidas de bioseguridad en un laboratorio de micotoxicología.

Laboratorio XI: Diagnóstico molecular en microbiología, uso de cebadores aleatorios y específicos, técnica de PCR para diagnóstico.

CRONOGRAMA 2018

FECHA	TEÓRICO	PRÁCTICO LABORATORIO	PARCIAL / RECUP.
21-08	Introducción a la asignatura		
23-08	Diagnóstico-Bioseguridad-Gral.		
28-08	Diagnóstico-Bioseguridad-Gral.		
30-08	Unidad IV: Medios y Reactivos	Laboratorio III: preparación de medios y reactivos para Bacteriología y Micología	
04-09	Unidad IV: métodos y técnicas diagnósticas. Bacterias	Laboratorio IV (Bacterias en alimentos)	
06-09	Unidad IV	Laboratorio V (bacterias en Alimentos)	
11-09	Unidad IV	Laboratorio V (bacterias Clínica)	
13-09	Unidad IV	Laboratorio V (Bacterias Clínica)	
17 al 21	Semana del estudiante		
25-09	Seminarios Integración	Presentación de informes Laboratorios	
27-09			Primer Parcial
02-10	Unidad I: Métodos y técnicas en Virología	Laboratorio I. Materiales y técnicas empleados en ensayos virológicos	
04-10		Laboratorio I. (Continua)	
09-10	Unidad II Detección Viral	Laboratorio II: Detección viral. Cultivos celulares	
11-10		Laboratorio II continua	
16-10		Laboratorio II. continua	
18-10		Laboratorio II. continua	
23-10	Unidad V: Hongos	Laboratorio VI (Micología Alimentos) Observación Estructuras fúngicas en general. Siembra de los alimentos.	
25-10		Laboratorio VI y evaluación alimentos sembrados.	
30-10		Laboratorio VII (Micología Clínica)	
01-11		Laboratorio VII (Micología Clínica)	
06-11	Unidad VIII: Metabolitos secundarios de cepas fúngicas	Laboratorio XI: Detección de metabolitos secundarios	
08-11	Unidad VI Conservación de cepas.	Práctico Conservación Presentación de informes Grupos análisis de alimentos	
13-11	Unidad VII: materiales inmunodiagnóstico	Laboratorio IX: Técnicas de Interacción Secundaria Laboratorio X: Técnicas de interacción primaria	
15-11	Unidad IX: Diagnóstico Molecular en Microbiología	Laboratorio XII: diagnóstico molecular en microbiología	
20-11			Segundo Parcial
27-11			Recuperatorios

28 de Noviembre Carga en el SIAL

* La fecha de exámenes parciales son tentativas porque se acuerdan con los responsables de las asignaturas del cuatrimestre.

C. BIBLIOGRAFÍA

- Allaert - Escola . 2000. Métodos de Análisis Microbiológicos de Alimentos. Edic. Díaz de Santos, S.A.
- Betty A. Forbes, Daniel Sahm , Alice Weissfeld. Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Edición: 12ª, 2009.
- Bernice M. Martín, 1994. *Tissue Culture Techniques: an introduction*. Birkhäuser. Boston. Basel. Berlin.
- Virología Médica. Carballal, G.; Oubiña, J. R. Librería El Ateneo, 2da edición, 1996.
- Floccari, M.E., 1998. *Métodos de conservación de cultivos bacterianos*. Revista Argentina de Microbiología. 30:42-51.
- Mahy, Brian W.J. and Kangro Hillaw O., 1996. *Virology Methods Manual*. Academic Press Harcourt Brace □ □ Company, Publishers.
- Margni, R.A., 1996. *Inmunología e Inmunquímica*. Editorial Médica Panamericana. 5º edición. Bs.As.
- Pitt, J.I. and Hocking, A.D., 1997. *Fungi and Food Spoilage*. London; New York : Blackie Academic & Professional.
- Prats, Guillem. 2006. Microbiología Clínica, Editorial Médica Panamericana.
- Shors T. 2009. Virus. Estudio Molecular con Orientación Clínica. Editorial Médica Panamericana. 1º Edición.
- Sobol, R., Ruscica, M., Fourcade L., 1995. *Manual de Procedimientos para análisis microbiológico de alimentos*. Cuadernos UADE. Univ. Nac. de la Empresa.
- Richmond J Y. & McKinney, R.W. (ed). Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina. CDC-NIH 4ta edición. (Traducción al español)
- Tizard, I., *Inmunología Veterinaria*. Editorial Interamericana, 8º ed.