



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE MEDICINA**

**2º UNIDAD ACADÉMICA DE MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA E  
INMUNOLOGÍA**

*Profesor Consulto Titular: Dr. Norberto Sanjuan  
Jefe de Trabajos Prácticos: Médico Ignacio Palomino*

**GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS  
DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**SEGUNDO CUATRIMESTRE 2025**

### **OBJETIVO GENERAL:**

Lograr que los alumnos conozcan las bases del trabajo en un laboratorio de Microbiología Médica.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Aprendizaje de las técnicas básicas de coloración empleadas en microbiología.
- Conocimiento de los diferentes medios y sistemas de cultivo microbianos.
- Reconocimiento macroscópico y microscópico de parásitos.
- Adquisición de destrezas básicas para las tomas de muestras, su traslado al laboratorio y la interpretación de los resultados.

### **METODOLOGÍA:**

- Se realizarán trabajos prácticos reales, con activa participación de los estudiantes, bajo la guía de un ayudante docente y de acuerdo a las disponibilidades y a la importancia de cada tema.
- Cuando fuere necesario, se realizarán mostraciones de materiales ya cultivados o fijados en formol.
- Se llevarán a cabo, en la medida de lo posible y prudente, prácticas para adquirir destreza en tomas de muestras clínicas o procedimientos que eventualmente se practiquen en pacientes.
- Los ayudantes sólo abordarán aspectos teóricos al FINALIZAR el trabajo de laboratorio -que será prioritario- y exclusivamente como discusión de temas puntuales del trabajo práctico en curso o para esclarecer dudas planteadas por los estudiantes.

### **MEDIDAS DE SEGURIDAD**

- Los estudiantes serán informados en el PRIMER trabajo práctico acerca de su ubicación en el edificio de la Facultad, las rutas de evacuación previstas y cómo actuar en caso de accidentes o incendios.
- Todas las personas presentes en un trabajo práctico deberán usar guardapolvo, llevar el cabello recogido y lavarse las manos con agua y jabón al final de la actividad.
- CUALQUIER incidente, aún el más elemental, deberá ser reportado por los alumnos a su ayudante y este al jefe de turno, quien resolverá al respecto.
- En caso de accidentes, incendio o cualquier otra contingencia, comunicarse al teléfono 5950-9500 (Conmutador de la Facultad) Interno 2170 (oficina de Seguridad ubicada en la Planta Baja).
- **RECONOCIMIENTO DEL SIGNO DE ALERTA POR RIESGO BIOLÓGICO**



# TRABAJO PRÁCTICO N° 1: BACTERIOLOGÍA

## TAREAS A DESARROLLAR:

1. **OBSERVACIÓN DE CULTIVOS BACTERIANOS.** Se describirán las colonias desarrolladas en placas con agar base semisólido: su distribución, forma, límites y colores.

2. **DESCRIPCIÓN Y OPERACIÓN DEL MECHERO DE BUNSEN.** Se observarán los distintos tipos de llamas, de seguridad y de trabajo. Se describirán las medidas de seguridad para evitar quemaduras.

3. **EXPERIMENTO DE LAVADO DE MANOS:** Se tomará una placa de Petri con medio de cultivo, sin abrir. Ésta funcionará como CONTROL NEGATIVO.

A continuación, un alumno tomará una placa de Petri y, con la supervisión del ayudante, dejará la impronta de las yemas de cada uno de los dedos de una de sus manos sobre el medio semisólido. Esta placa se nombrará a continuación PLACA 1.

Posteriormente TODOS LOS ALUMNOS se lavarán las manos con agua y jabón blanco de la manera que lo realizarían normalmente cuando se llega a casa desde el exterior o antes de comer. Luego uno de ellos procederá a dejar la impronta de sus dedos de la misma manera que el punto anterior en una nueva placa que pasará a llamarse PLACA 2 (por fines prácticos, se utilizará la misma placa)

Seguido a esto, TODOS LOS ALUMNOS se lavarán las manos de la siguiente manera: Enjabonarán la esponja y comenzarán a limpiarse las manos, primero las palmas, luego el dorso, luego las uñas y luego, con movimientos rotatorios, cada uno de los dedos: cara externa, cara palmar, cara interna y cara dorsal. Continuarán ascendiendo en forma circular hacia la muñeca SIN VOLVER A PASAR LA ESPONJA HACIA LA MANO, seguirán subiendo hasta el pliegue del codo. Hará lo mismo con el otro brazo. Enjuagarán ambos brazos al mismo tiempo bajo el chorro del agua de la canilla desde la punta de los dedos hasta el codo. Repetirán una segunda vez esta operación, pero cepillando hasta el tercio inferior del antebrazo. Repetirán una vez más, pero llegando hasta las muñecas. A continuación, un alumno abrirá nuevamente la placa y apoyará sus dedos, llamará a ésta: PLACA 3.

Por último, un alumno sumergirá por completo ambas manos en una solución iodada y se dejará secar sin tocar nada. Cuando se encuentren secas por completo, repetirá la impronta de los dedos sobre una nueva placa de Petri que llamará: PLACA 4. Y se dejará incubando

**MOSTRACIÓN DE LAS PLACAS YA CULTIVADAS: ELABORACIÓN DE HIPÓTESIS.**

4. **EXPERIMENTO DE CLORACIÓN DE AGUA:** múltiples infecciones bacterianas son transmitidas a partir del consumo de agua contaminada. La cloración del agua potable para su consumo, ha sido un hito histórico en salud pública. A continuación el ayudante explicará de manera teórica el proceso de un experimento para evaluar la efectividad de la cloración de agua, haciendo énfasis en volúmenes y concentraciones.

Se tomarán 5 botellas limpias de 1 litro, en cada una de ellas se agregará 1 litro de agua destilada NO ESTERIL y se rotularán cada una de esas botellas del 1 al 5. En las botellas de 2

a 5 se añadirá 2 ml de un caldo de cultivo en donde se han desarrollado bacterias. La botella número uno permanecerá sin añadidos. En la botella número 2 sólo permanecerá el agua y el cultivo añadido. En las botellas número 3, 4 y 5 se añadirá 1, 2 y 3 gotas de lavandina pura, respectivamente y se dejará actuar durante 30 minutos. Posteriormente se tomarán 7 placas de Petri con medio de cultivo 2xYT y se numerarán del 1 al 7. En cada placa de Petri se añadirá 100 microlitros de la botella correspondiente a la misma numeración del 1 al 5. La placa número 6 permanecerá sin añadidos y a la placa número 7 se le añadirá la solución inicial bacteriana. Se incubarán todas las placas en una estufa a 37 grados durante 24 a 48 hs.

**MOSTRACIÓN DE LAS PLACAS YA CULTIVADAS: ELABORACIÓN DE HIPÓTESIS.** ¿ Para qué se deja la botella 1 sin añadir bacterias ? ¿ Por qué se cultiva el contenido de la botella número 2 sin cloración ? ¿ Se observó crecimiento en las placas 3 a 5 ? ¿ Fue el mismo en todas ellas ? ¿ Para qué se cultiva la placa número 6 sin añadirle líquido ? ¿ Para qué se cultiva una placa de Petri sólo con medio de cultivo y suspensión de bacterias ?

## **TRABAJO PRÁCTICO N° 2: BACTERIOLOGÍA**

### **TAREAS A DESARROLLAR:**

1. **REALIZACIÓN DE UN PREPARADO.** Se describirá el asa (o ansa) montada en un mango de Kolle. Con el ansa, se tomará una gota de agua de la canilla, que será depositada EN EL CENTRO de un portaobjetos perfectamente limpio (lavado previamente con cepillo, agua y jabón). Se realizará la apertura de la placa cerca de la llama, se quemará al rojo el ansa, se la dejará enfriar; se tocará parte de una colonia bacteriana y se la suspenderá homogéneamente sobre la gota de agua, EN NO MÁS DE 1 cm<sup>2</sup>. Luego, colocando el preparado alto sobre la llama del mechero, se lo deshidratará, controlando que no haya demasiado calor cuando toca el dorso de la mano. En este paso las bacterias aún están vivas. Por último, usando un broche o sosteniéndolo con los dedos, se pasará el preparado DIRECTAMENTE sobre la llama de trabajo del mechero, 3 veces. A esto se le llama FIJACIÓN y luego del procedimiento, las bacterias estarán muertas. Este método es el equivalente a la fijación que se usa en histología para preservar tejidos con formol.

### **2. COLORACIONES.**

#### **COLORACIÓN DE GRAM.**

Se colocará el preparado sobre un soporte y se agregará una solución de Violeta de Genciana o Cristal Violeta al 0,5% en agua durante 3 minutos. Se escurrirá el colorante SIN LAVAR y se le agregará al preparado reactivo de Lugol (solución acuosa de Iodo y Ioduro de potasio) como mordiente durante 1 minuto. En este paso, todas las bacterias tomarán el colorante violeta. Luego, ALEJADOS COMPLETAMENTE DE LA LLAMA DEL MECHERO, se lavará el preparado con alcohol-acetona o con alcohol solo (etanol 96°) hasta que no salga más colorante. En

este punto, las bacterias Gram negativas perderán el colorante violeta. Se lavará la preparación con agua de la canilla y se agregará el colorante de contraste (Fucsina o Safranina) de color rojizo, que ya estará diluido 1:5. Se dejará actuar al colorante durante 3 minutos, durante los cuales las bacterias Gram negativas tomarán un color rojizo. Se lavará el exceso de colorante con agua de la canilla y se volverá a deshidratar el preparado alto sobre la llama del mechero. El ayudante irá explicando los fundamentos de cada uno de los pasos **AL MISMO TIEMPO QUE SON REALIZADOS**.

**OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA.** De los 3 objetivos que tiene un microscopio óptico estándar, uno tiene una banda negra (o blanca) y dice “Oil” u “Oel” 100 X. Es el más largo de los 3 y se le llama “objetivo de inmersión”. Para realizar la observación con objetivo de inmersión (es decir, el que tiene más aumento) primero se coloca una gota de aceite de inmersión directamente sobre el preparado (puede ser aceite de cedro o monobromuro de naftaleno) se coloca el preparado en la platina del microscopio y **MIRANDO DE COSTADO**, se baja el tubo hasta que la parte inferior del objetivo **TOQUE** el aceite. Por último, mirando por el ocular, se desciende el tubo **LENTAMENTE** con el tornillo macrométrico y luego se ajusta la imagen con el tornillo micrométrico.

**RESULTADOS:** Las bacterias Gram positivas se verán de color violeta y las Gram negativas de color rojo. **EL TRABAJO ESTARÁ APROBADO SI CADA ESTUDIANTE PUEDE RECONOCER:** a). La forma de las bacterias (si son cocos o bacilos) y su agrupación (en racimos, lineales, etc) b) Si son Gram positivas o Gram negativas.

### **COLORACIÓN DE ZIEHL-NEESEN**

Se colocará el preparado sobre un soporte y se agregará fucsina fenicada de Ziehl sin diluir durante 3 minutos. Sobre un soporte se flameará el preparado desde la cara inferior y a una distancia prudencial, hasta evidenciar la aparición de vapores blanquecinos. Una vez observados, se alejará el mechero por unos instantes para luego repetir el procedimiento hasta un total de 3 veces. El calor funciona como un **FIJADOR FÍSICO**, inicialmente aumentando la fluidez de los ácidos grasos de cadena larga de la pared micobacteriana y permitiendo el pasaje del colorante; al enfriarlo los lípidos retomarán su fluidez habitual, confinando el colorante al interior de la pared. Posteriormente se lavará el preparado con agua de la canilla. A continuación se aplicará una solución de ácido clorhídrico al 4% en etanol hasta que no salga más colorante. En este punto, cualquier otro microorganismo que no presente ácido-alcohol resistencia, perderá el colorante y solo permanecerán teñidas aquellos que sí la presenten. Se lavará el preparado con agua de la canilla.

Luego se añadirá, a modo de contraste, una solución acuosa de azul de metileno al 1% y se lo dejará actuar durante 5 minutos. Finalmente se lavará nuevamente el preparado en agua de la canilla y se lo deshidratará con el mechero de Bunsen. **ESTA COLORACIÓN SERÁ LLEVADA A CABO SÓLO POR EL AYUDANTE, QUIEN PRESENTARÁ LOS FUNDAMENTOS DE LA TINCIÓN MIENTRAS LA REALIZA.**

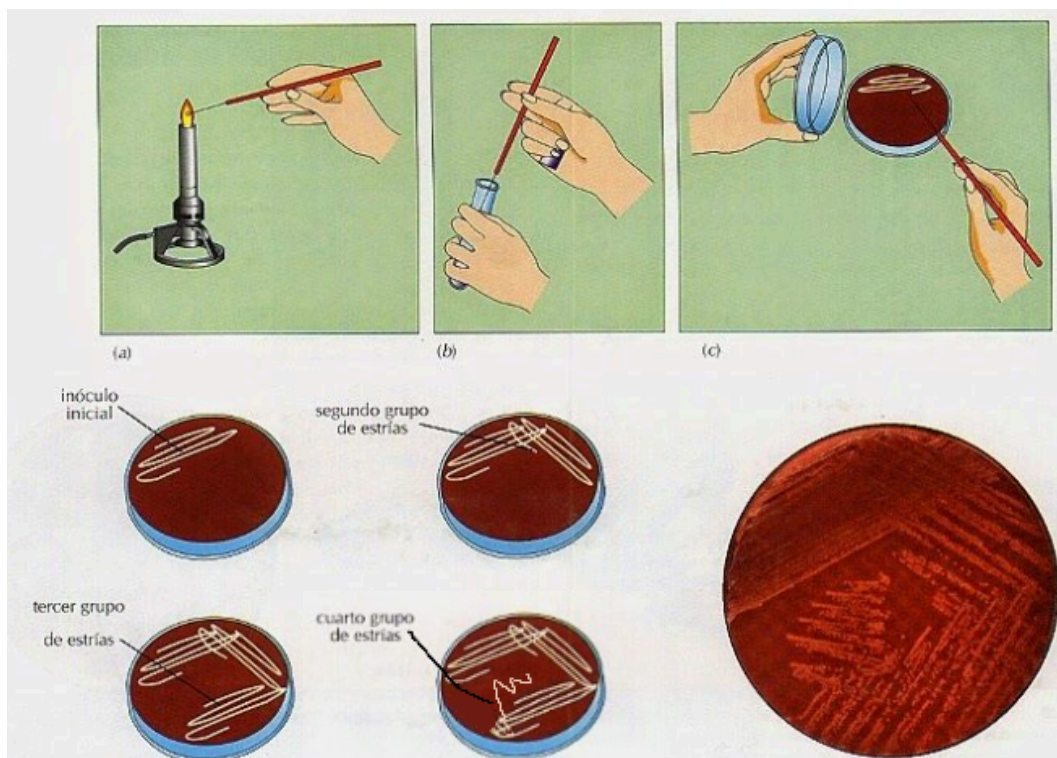
**OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA:** de la misma manera que en la tinción de Gram, los preparados se observarán con el objetivo de inmersión habiendo colocado previamente una gota de aceite de cedro o mono bromuro de naftaleno sobre el portaobjetos.

**RESULTADOS:** Las bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR) se observarán de un color rojizo, mientras que el fondo tomará una coloración azulada.

**NOTA:** Esta coloración se utiliza en mayor medida para visualizar micobacterias particularmente el patógeno *Mycobacterium tuberculosis*. En dicho caso la preparación de la muestra se realizaría en una cabina de flujo laminar para evitar la propagación del patógeno por el aire, tomando en cuenta su vía de transmisión.

3.  **AISLAMIENTO EN PLACA.** Las bacterias pueden crecer en caldos de cultivo o en medios semisólidos. Estos últimos no son más que caldos de cultivo a los cuales se les agrega agar-agar, que es un polisacárido estructural extraído de algas marinas. Se obtiene así los denominados “medios semisólidos” o “medios sólidos”. La importancia de estos medios es que permiten el aislamiento de poblaciones bacterianas que derivan de UNA sola bacteria y se denominan “colonias” formadas por entre 100.000 y 1.000.000 de bacterias procedentes de una sola progenitora. Se emplea para la realización de diagnósticos bacteriológicos o en Biología Molecular, para experimentos de clonación. El objetivo a superar es que se logre obtener colonias aisladas. Para ello hay varios métodos y en este punto se empleará el más clásico.

**Procedimiento:** Se quema el ansa, se la enfría abriendo una placa que tiene ya colonias, apoyándola sobre la cara interna de la tapa, se toca una colonia y se la desplaza sobre el medio de cultivo de otra placa estéril, en un sector circular. Luego se quema el ansa, se toma solo un extremo de la estría ya realizada y se la desplaza con el ansa sobre el agar en otro sector circular. Se repite la operación por tercera vez, siempre quemando el ansa entre cada una de las estrías y, por último, se hace la cuarta estría hacia el centro de la placa SIN QUE TOQUE LA PRIMERA ESTRÍA. Se incuba la placa a 37° en la estufa, con la tapa para abajo y rotulada.



4. **MOSTRACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS ENRIQUECIDOS, SELECTIVOS Y DIFERENCIALES.** Se mostrarán bacterias cultivadas en medios de cultivo Agar Sangre, Agar Chocolate, Agar Mac Conkey, Agar Manitol Salado, TSI y Simmons. El ayudante irá explicando los fundamentos de cada uno de los medios AL MISMO TIEMPO QUE SON OBSERVADOS.

## **TRABAJO PRÁCTICO N° 3: MICOLOGÍA**

### **TAREAS A DESARROLLAR:**

1. **OBSERVACIÓN MACRO Y MICROSCÓPICA DE CULTIVOS DE HONGOS UNICELULARES Y FILAMENTOSOS. PREPARADOS POR DISOCIACIÓN**

Se tomarán tubos tapados con torundas de algodón con medio de cultivo Agar Sabouraud en pico de flauta que contienen hongos levaduriformes y filamentosos con el objetivo de realizar preparados para ser observados al microscopio óptico. El ayudante repasará brevemente las características macroscópicas de las colonias de ambos tipos de hongos y las características del medio y de los ganchos y agujas AL MISMO TIEMPO QUE SON OBSERVADOS.

**Procedimiento:** HONGOS LEVADURIFORMES: Se tomará un portaobjetos limpio, se aplicará una gota de agua en el centro del mismo y se lo dejará apoyado sobre la mesada, delante del mechero de Bunsen. Se encenderá el mechero. A continuación se tomará el ansa con la mano derecha como si fuera una lapicera; y con la mano izquierda se tomará un tubo. Se quema el ansa, se acerca la mano izquierda con el tubo hacia la mano con el ansa, y se retira la torunda de algodón, utilizando la función prensil del dedo meñique. Una vez abierta, se flamea la boca del tubo. Seguidamente se inserta el ansa por la abertura y se levanta material, de preferencia una colonia aislada, se vuelve a flamear la apertura del tubo y, con cuidado de no quemarse, se vuelve a tapar con la torunda. A continuación se genera la suspensión acuosa, la desecación y la fijación de la misma manera que se realiza con preparados bacterianos (recordando quemar el ansa luego de la suspensión). Se realizará, luego, una tinción de Gram. HONGOS FILAMENTOSOS: Se tomará un portaobjetos limpio, se aplicará una pequeña gota de azul de metileno en el centro del mismo y se lo dejará apoyado sobre la mesada, delante del mechero de Bunsen ya encendido. A continuación se tomará EL GANCHO con la mano derecha y un tubo con la izquierda. Se quema el gancho, se destapa y se flamea el tubo de la misma manera que antes, a continuación se toma con el gancho y se pasa de manera superficial, sin tocar el agar, intentando tomar el material filamentoso correspondiente al thalo aéreo del hongo con características similares a una tela de araña. Se vuelve a flamear el tubo y se tapa con la torunda. A continuación se deja de lado el tubo y se toma con esa misma mano la AGUJA. Se apoyará el gancho con el material micótico en el portaobjetos, sobre la gota de azul de metileno y, valiéndose de ambas manos de manera similar a la que se utilizarían el cuchillo y el tenedor para cortar el alimento, se utilizarán la aguja y el gancho para ir despegando y disgregando el material, intentando no dejar grandes acúmulos del mismo y formando una superficie no mayor a 1 cm<sup>2</sup>. Se queman el

gancho y la aguja. Finalmente se colocará un cubreobjetos sobre el preparado, teniendo cuidado de no romperlo. A esto se le llama preparado por DISOCIACIÓN o DISGREGACIÓN.

**RESULTADOS:** Se observarán ambos preparados al microscopio óptico con el objetivo Seco Fuerte y se observarán en los correspondientes a levaduras: estructuras circulares Gram positivas. En los correspondientes a hongos filamentosos se observarán las hifas y los elementos de fructificación correspondientes al hongo cultivado. En conjunto con el ayudante, se describirán estas estructuras y se intentará llegar a un diagnóstico presuntivo de qué hongo podría tratarse **AL MISMO TIEMPO QUE SON OBSERVADOS.**

2. **MOSTRACIÓN DE UN MICROCULTIVO MICOLÓGICO:** el ayudante explicará los fundamentos y la manera de preparar un microcultivo **AL MISMO TIEMPO QUE ES OBSERVADO POR LOS ESTUDIANTES.**

3. **REPIQUES DE CULTIVOS MICOLÓGICOS:** se tomará cada 2 alumnos, 2 tubos con medio agar Sabouraud en pico de flauta, un tubo con hongos filamentosos y un tubo con hongos levaduriformes. **HONGOS LEVADURIFORMES:** En primer lugar se tomará el tubo con hongos levaduriformes y un ansa. Con el mechero de Bunsen encendido, se tomará el tubo con la mano izquierda y un ansa con la mano derecha. Se quema el ansa y se aguarda unos instantes a que se enfríe. Se destapa el tubo retirando la torunda de algodón con el quinto dedo de la mano derecha de la misma manera que se explicó previamente. Se flamea la apertura del tubo y se introduce el ansa, levantando material (de preferencia una colonia aislada). Se vuelve a flamear el tubo, se tapa con la torunda de algodón con cuidado de no quemarse. Se deja de lado el tubo. A continuación se toma un tubo con agar Sabouraud, se destapa quitándole la torunda de algodón, se flamea y se siembra con el ansa, enterrándola hasta el fondo del tubo y posteriormente realizando estrías sobre la superficie del pico de Flauta. Finalmente se vuelve a quemar el ansa. **HONGOS FILAMENTOSOS:** Se toma el tubo con hongos filamentosos con la mano izquierda y un gancho con la mano derecha. Se quema el gancho en el mechero de Bunsen, se destapa el tubo de la misma manera que antes, se flamea la apertura del mismo, se retira material de la superficie del medio de cultivo, sin tocar el agar, se vuelve a flamear el tubo y se tapa con la torunda. A continuación se deja de lado y se toma el tubo con agar Sabouraud con la mano izquierda. Se destapa, se flamea y se introduce el gancho llevándolo hasta el fondo y se clava de manera perpendicular a la superficie en pico de flauta en 3 puntos desde el fondo hacia la boca con 2 cm entre ellos. Se vuelve a flamear la apertura del tubo, se tapa con la torunda y se quema el Gancho.

Ambos tubos sembrados deberán dejarse cultivando a las temperaturas correspondientes.

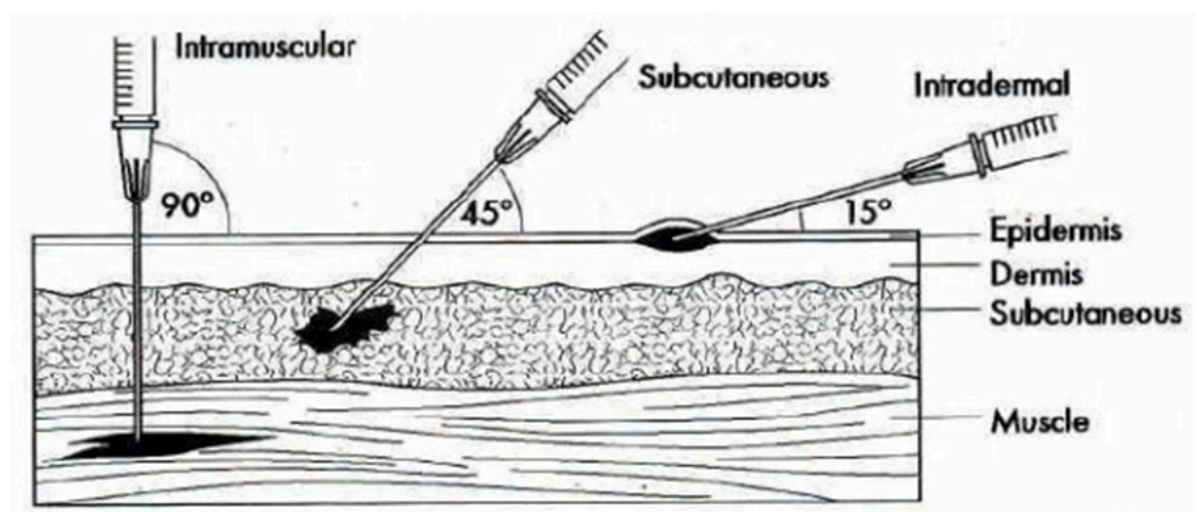
4. **PROCESAMIENTO DE PELOS CON K(OH) AL 40%.** El fundamento es la utilización del hidróxido de potasio para la degradación de queratina, esto facilita la observación en fresco de elementos micóticos por ejemplo en las descamaciones cutáneas.

**Procedimiento:** Se otorgarán pequeños acúmulos de pelo real, Se tomará un portaobjetos limpio y se colocarán los pelos sobre éste. A continuación se aplicarán

una o dos gotas de K(OH) al 40% ES MUY IMPORTANTE QUE NO TOQUE CONTACTO CON LA PIEL PUES PUEDE GENERAR IRRITACIÓN, EN CASO DE QUE ASÍ OCURRA, LAVAR INMEDIATAMENTE CON ABUNDANTE AGUA FRÍA LA SUPERFICIE CUTÁNEA AFECTADA. Se Colocará un cubreobjetos sobre el preparado. Finalmente, se acercará el portaobjetos muy cuidadosamente al mechero con una pinza o un broche y se observará la reacción de degradación.

5. **INTRADERMORREACCIÓN.** Las intradermorreacciones son técnicas de diagnóstico indirecto que ponen de manifiesto una reacción de hipersensibilidad de tipo IV o granulomatosa y permite inferir si el paciente estuvo en contacto o no con el microorganismo estudiado. Existen suspensiones con antígenos de múltiples patógenos, tomando distintos nombres para cada uno por ejemplo Reacción de Mantoux, prueba de Tuberculina o PPD para *Mycobacterium tuberculosis* *comple*x. La prueba de la Histoplasmina para *Histoplasma capsulatum*. O la reacción de Montenegro o prueba de Leishmanina para *Leishmania* (un parásito protozooario que veremos en su correspondiente módulo) entre otras.

El ayudante describirá brevemente las características y las partes de una aguja y una jeringa y los tipos de inyecciones antes de iniciar el procedimiento.



**Procedimiento:** NOTA: esta actividad será llevada a cabo EXCLUSIVAMENTE por ayudantes, quienes explicarán el procedimiento a medida que lo irán realizando.

En primera instancia se le explica al paciente lo que se le realizará, luego se realizará antisepsia sobre la superficie de la cara anterior del antebrazo (habiendo preguntado al paciente previamente si era alérgico al yodo), se abrirá la ampolla de solución fisiológica (SF), que simulará a la suspensión antigénica en esta demostración. En caso de que sea de vidrio deberá realizarse con un trozo de algodón con alcohol para realizar antisepsia y evitar cortarse. Se sacará la jeringa del estuche y se retirará el capuchón propiciando no retirar la aguja con él, se comprueba el movimiento del émbolo. Se carga con la jeringa 0,1 ml de SF (cargar de más, ponerla vertical, sacar el aire golpeando en la camisa y ajustar el volumen con el émbolo). Poner el bisel de la aguja mirando hacia el operador y paralelo a las dos “orejitas” que tiene la camisa

(sugiero tomar la aguja cargada con el pulgar ya tocando el émbolo, listo para inyectar). Lo que sigue es esencial: con la otra mano rodear por detrás el antebrazo del paciente y traccionar con fuerza estirando la piel. En ese momento apoyar la aguja en 15° y presionar hasta que el orificio de la misma haya entrado por debajo de la epidermis. Inyectar. La aguja se retira y se coloca el algodón con alcohol sobre la punción. Puede haber un puntito de sangre. Descartar la aguja en el descartador ROJO y la jeringa en un cesto con bolsa ROJA.

**RESULTADO:** para que sea exitosa, la inyección debe formar un habón que luego se disolverá migrando por los linfáticos. Si no se formó, la inyección probablemente haya sido subcutánea y NO ES ADECUADA para ser leída. En este caso se debería repetir la inyección en el otro antebrazo. LOS AYUDANTES REPASARÁN LA FORMA DE LECTURA Y LOS CRITERIOS DE POSITIVIDAD DE LA PPD A MEDIDA QUE SE ESTÉ REALIZANDO LA INYECCIÓN.

## **TRABAJO PRÁCTICO N° 4: VIROLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

### **TAREAS A DESARROLLAR:**

**NOTA:** durante este trabajo práctico, el material para las demostraciones se encontrará en el laboratorio N°8. cada laboratorio se turnará en períodos de tiempo equitativos para recorrerlos. Mientras otro grupo esté usándolo, el ayudante instruirá en su respectivo laboratorio la toma de muestra para aspirado nasofaríngeo con muñecos, y repasará algunos conceptos a ser expresados a continuación.

El grupo que utiliza habitualmente el laboratorio 8, compartirá el espacio del laboratorio 7 (mitad cada grupo) durante este trabajo práctico.

#### **1. MOSTRACIÓN DE MATERIALES DE VIROLOGÍA**

- Monocapa de células intacta:
- Monocapa de células con evidencia de efecto citopático viral:
- Tacos de microscopía electrónica incluidos.
- Grillas de microscopía electrónica.
- Tubos de cultivo celular con medio DMEM.
- Cabina de bioseguridad.
- Placas de Titulación.

#### **2. MOSTRACIÓN DE MATERIALES DE PARASITOLOGÍA:**

- Nematodos: Ascaris, E. vermicularis
- Cestodos: Taenia solium/saginata, Frasco con trozos de quiste hidatídico
- Trematodos: Fasciola hepática.

- Ectoparásitos: se contará con microscopios enfocados con especímenes (ácaros, artrópodos)
- Vasijas de Xenodiagnóstico de Chagas
- Vectores: Triatoma infestans (huevos, ninfas, adultos) Hemípteros triatominos no hematófagos (diferenciación según probóscides).

**3. ASPIRADO NASOFARÍNGEO (MUÑECA)** Usando una muñeca se medirá con la sonda k-33 que será provista, la distancia que hay desde la sien hasta la narina homolateral, formando un ángulo recto. Se marcará con la uña del dedo pulgar esa distancia y se introducirá lentamente la sonda hasta la marca del dedo. Se colocará una jeringa estéril y se aspirará el moco. A continuación, se retirará la sonda y se la depositará justo con la jeringa en la bolsa de la sonda o en bolsas de transporte de riesgo biológico. Se la rotulará y se la enviará al laboratorio de Virología. El ayudante explicará que el virólogo presionará el émbolo de la jeringa con la punta de la sonda introducida en un tubo cónico, al que luego se le agregarán 2 ml de un buffer (PBS ó buffer de fosfato), se lo mezclará, se centrifugará a 1500 rpm por 10 minutos en centrífuga de mesa, se descartará el sobrenadante y el sedimento, donde están las células infectadas por el virus, se distribuirá en gotas y por duplicado sobre un portaobjetos con “multiwells”. Se dejará secar al aire, se fijará con metanol 15 minutos y en cada par de Wells se agregará un suero primario contra los diferentes virus; RSV, Adenovirus, Parainfluenza, Influenza, metapneumovirus y, recientemente, SARS CoV 2. Luego se practicará una inmunofluorescencia indirecta para hacer el diagnóstico rápido que puede ser informado en el mismo día. También se puede utilizar el aspirado nasofaríngeo para realizar pruebas de biología molecular (PCR End Point, PCR en tiempo real y PCR Múltiplex).

#### **4. CONCEPTOS TEÓRICOS A SER DESARROLLADOS EN LOS RESPECTIVOS LABORATORIO (VIROLOGÍA)**

**Métodos para cultivos de virus** Huevos embrionados, Animales de experimentación, Cultivos celulares.

**Fundamentos de cultivos celulares:** tipos y métodos para obtenerlos.

#### **5. CONCEPTOS TEÓRICOS A SER DESARROLLADOS EN LOS RESPECTIVOS LABORATORIO (PARASITOLOGÍA)**

**Repaso taxonomía de parásitos:** diferencias morfológicas entre helmintos tanto externas como de sus sistemas digestivos y reproductivos.

**Ciclos de vida:** asociar los elementos infectantes y las vías de transmisión de los parásitos con sus respectivos ciclos de vida.

**Explicación de xenodiagnóstico de chagas.**