|  |
| --- |
| **GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO** |
| **PERÍODO ACADÉMICO** | Noviembre 2020 - abril 2021 |
| **ASIGNATURA** | **MICROBIOLOGÍA II** | **SEMESTRE: 4** | **PARALELO: A** |
| **NOMBRE DEL DOCENTE** | **ANA CAROLINA GONZÁLEZ R** |
|  **FECHA** | **15/01/2021** |
| **NÚMERO DE PRÁCTICA** |  | **HORA: 10:00-13:00H** | **DURACIÓN: 3H** |
| **NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES.** | **GRUPO 1** | **GRUPO 2** |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  **LUGAR DE LA PRÁCTICA** | Aula virtual |
| **TÍTULO DE LA UNIDAD** | BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS |
| **TEMA DE LA PRÁCTICA** | Secreción ótica |
| **RESULTADO DE APRENDIZAJE.** |
| Diagnostica e identifica las infecciones de bacterias Gram positivas y Gram negativas en órganos y Sistemas. Evalúa la sensibilidad y resistencia bacteriana con la ayuda del antibiograma. |
| **OBJETIVO GENERAL** | Aplicar los métodos convencionales para el diagnóstico microbiológico de las infecciones óticas. |
| **Objetivos específicos** | 1.-Describir las condiciones adecuadas para la toma de muestra en los sitios anatómicos relacionados con el cuadro clínico.2. Cultivar la muestra obtenida para el aislamiento de los agentes patógenos.3. Identificar los microorganismos de interés clínico.4. realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana a los agentes etiológicos bacterianos.5. Elaborar el reporte de los resultados. |

|  |
| --- |
| **GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO** |
| **PERÍODO ACADÉMICO** | MAYO 2020 - OCTUBRE 2020 |
| **ASIGNATURA** | **MICROBIOLOGÍA II** | **SEMESTRE: 4** | **PARALELO: B** |
| **NOMBRE DEL DOCENTE** | **ANA CAROLINA GONZÁLEZ R** |
|  **FECHA** | **24/08/2020** |
| **NÚMERO DE PRÁCTICA** | **4** | **HORA: 10:00-13:00H** | **DURACIÓN: 3H** |
| **NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES.** | **GRUPO 1** | **GRUPO 2** |
| ALMACHI CHUQUILLA RICARDO ALONSO  | MUÑOZ GUEVARA ALEJANDRO  |
| AMPUDIA ARIAS ANA BELEN | PALOMO MASABANDA LESLIE PAMELA  |
| ANALUISA MEJIA NORMA PAOLA - LEGALIZADA (DEFINITIVA) | PUJOS AGUALONGO ARIANA  |
| BARRIGAS PEÑAFIEL EVELYN KATHERYNE - | QUINTANILLA QUINTANILLA ANA ELIZABETH  |
| CAMPOVERDE JAYA NICOLE ESTEFANIA  | RIOFRIO MONGE VERONICA ESTEFANIA  |
| CARRILLO BECERRA JENNIFER IVETTE  | ROBLES REYES ROSA ANGELICA -  |
| CHARCO VARGAS JHEISON VINICIO - LEGALIZADA (DEFINITIVA) | ROJAS LIZCANO LUCERO NAYLETH -  |
| CUENCA GAONA HEYDI CRISTINA | SALAZAR MARROQUIN ALEJANDRA ELIZABETH  |
| MALACATUS VALDIVIEZO JOEL ALEXANDER  | SAMANIEGO PARRA THALIA XIOMARA -  |
| MEJIA CHICAIZA ANTHONY JAVIER - | SANGOTUÑA PILAGUANO MARYURI GUADALUPE  |
|  | MINA VASQUEZ KIARA STEFANIA - | SILVA DURAN NATALIA ESTEFANIA -  |
|  | MULLO ANILEMA GEORGINA NOEMI  | TANGUILA ANDY MIRKA ROCIO - |
|  | VEINTIMILLA SOLIZ KELY JACQUELINE  | YUGCHA VERDESOTO ARACELLY IBETH |
|  **LUGAR DE LA PRÁCTICA** | Aula virtual |  |
| **TÍTULO DE LA UNIDAD** | BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS |
| **TEMA DE LA PRÁCTICA** | Secreción ótica |
| **RESULTADO DE APRENDIZAJE.** |
| Diagnostica e identifica las infecciones de bacterias Gram positivas y Gram negativas en órganos y Sistemas. Evalúa la sensibilidad y resistencia bacteriana con la ayuda del antibiograma. |
| **OBJETIVO GENERAL** | Aplicar los métodos convencionales para el diagnóstico microbiológico de las infecciones óticas. |
| **Objetivos específicos** | 1.-Describir las condiciones adecuadas para la toma de muestra en los sitios anatómicos relacionados con el cuadro clínico.2. Cultivar la muestra obtenida para el aislamiento de los agentes patógenos.3. Identificar los microorganismos de interés clínico.4. realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana a los agentes etiológicos bacterianos.5. Elaborar el reporte de los resultados. |
| **FUNDAMENTO TEÓRICO:** |
| La mayor parte de las infecciones del oído afectan el conducto auditivo externo (otitis externa) o la cavidad media (otitis media) que contiene los huecesillos y está rodeada por otras estructuras óseas y la membrana timpánica. La otitis es una enfermedad del oído caracterizada por inflamación de la mucosa del oído externo, medio o interno (mastoides), perforación de la membrana timpánica y otorrea. Esta patología se puede clasificar sobre la base de consideraciones clínicas o histopatológicas. Según su duración se puede subdividir en fase aguda y crónica. La fase aguda se refiere a la infiltración de polimorfonucleares y a los signos clásicos de inicio brusco y duración breve y la fase crónica se refiere a procesos prolongados y con menos signos inflamatorios.Otitis externa: se define como la infección aguda o crónica del oído externo. Los factores de importancia en la patogenia de la otitis externa incluyen: traumatismo local, furunculosis, cuerpos extraños, o humedad excesiva, que causa maceración del epitelio del oído externo (oído del nadador). Algunas veces se desarrolla otitis externa como extensión de una infección del oído medio, con drenaje purulento a través de la membrana timpánica perforada.Otitis media: el término de otitis media se refiere a la inflamación del oído medio e incluye no solo a esa cavidad sino también a la trompa de Eustaquio y mastoides. Se produce infiltración por polimorfonucleares y se observan los signos clásicos de inflamación aguda. Según la duración, puede dividirse en aguda y crónica. La trompa de Eustaquio, que comunica el oído medio con la nasofaringe y realiza tres funciones: ventilación, protección y limpieza a través del transporte mucociliar, parece tener una participación importante en la predisposición de los pacientes a este tipo de infección. Las infecciones virales respiratorias superiores o los trastornos alérgicos pueden causar inflamación y edema de la trompa de Eustaquio o su orificio alterando sus funciones, la más importante puede ser la ventilación, cuando ésta se pierde se absorbe oxígeno del aire hacia el oído medio y se genera presión negativa. La presión a su vez permite la entrada de bacterias potencialmente patógenas de la nasofaringe hacia el oído medio y el fracaso de su eliminación normal puede ocasionar colonización e infección. Otros factores que pueden llevar a afecciones de la función de la trompa de Eustaquio son anomalías anatómicas, como hipertrofia tisular o cicatrización alrededor del orificio, disfunción muscular vinculada con paladar hendido y falta de rigidez de la pared de la trompa. Esta última, es frecuente en la lactancia y la niñez temprana, mejora con la edad y puede explicar en parte por qué la otitis media aparece más a menudo en lactantes de seis a 18 meses de edad y después disminuye de frecuencia al establecerse la permeabilidad de la trompa de Eustaquio.Otitis media aguda (OMA): es una inflamación de la cavidad del oído medio asociada a una infección aguda, con acúmulo de líquido generalmente purulento y que se asocia a signos como: membrana timpánica opaca o hiperémica, que puede estar abombada y con poca movilidad a la neumatoscopia y síntomas como: otalgia, fiebre, irritabilidad, anorexia, vómito y disminución de la audición.Es una complicación frecuente (30%) de las infecciones agudas de las vías respiratorias en niños de 3 meses a 3 años de edad, que se incrementa en aquellos que asisten a guardería. Existen varias entidades nosológicas dentro de la otitis media aguda y del adecuado reconocimiento de cada una de ellas dependerá el manejo apropiado del paciente. Otitis media serosa: es la presencia de un trasudado líquido en la cavidad del oído medio en un paciente asintomático (sin datos de infección aguda). Con frecuencia es posible visualizar un trasudado de color ámbar o ligeramente azulado a través de una membrana timpánica translúcida intacta. Sin embargo, el hallazgo más frecuente es una membrana timpánica opaca.Otitis media aguda recurrente: es la presencia de episodios repetidos de OMA con periodos de completa recuperación (sin secreción) del oído medio entre cada uno de éstos. Para que un niño sea diagnosticado con OMA recurrente debe haber tenido tres o más episodios de OMA en los últimos seis meses, o cuatro durante el último año.Otitis media aguda no complicada: es la presencia de OMA en un niño sin la presencia simultánea de otras complicaciones tales como bacteremia, mastoiditis, meningitis, sinusitis o absceso cerebral. Otitis media crónica (OMC): El nombre de otitis crónica se aplica a la infiltración del mucoperiostio por células esféricas, es decir, las de inflamación crónica. Suele ser producto de infección aguda que no se ha resuelto de modo apropiado, ya sea por tratamiento inadecuado en la fase aguda o por factores del huésped que perpetúan el proceso inflamatorio (ej. disfunción continua de la trompa de Eustaquio por factores alérgicos, anatómicos o inmunodeficiencia). FLORA HABITUAL DEL OÍDO EXTERNOLa microbiota general del oído externo es similar a la de la piel, predominando *Staphylococcus* (coagulasa-negativo) y miembros del género *Corynebacterium*. Con menos frecuencia se observan especies de *Bacillus, Micrococcus* y *Neisseria*. En esta localización se han aislado también otros microorganismos que colonizan la piel en forma transitoria como *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y especies de la familia Enterobacteriaceae, entre ellos, los géneros *Proteus, Escherichia, Enterobacter y Klebsiella*. Estudios micológicos demuestran que los siguientes géneros de hongos pertenecen a la microbiota normal: *Aspergillus*, *Alternaria, Penicillium, Candida y Saccharomyces.* AGENTES CAUSALES COMUNESDesde hace décadas, los patógenos bacterianos asociados a OMA han permanecido sin cambios significativos, en los distintos grupos de edad así como en áreas geográficas. Después de los primeros tres meses de vida, *S. pneumoniae* es el agente causal más aislado de otitis media aguda y representa 35 a 40% de los casos. *H. influenzae* también es común (14-27%), en particular, en pacientes menores de cinco años de edad. Casi ningún tipo de *H. influenzae* aislado del oído medio se puede identificar; por tanto, no cabría esperar que la vacuna actual contra la cepa de tipo “b” redujera de manera notoria la incidencia de otitis media aguda.DIAGNÓSTICOEl diagnóstico de las infecciones óticas se establece con base a la exploración clínica. En casos de sospecha de otitis media se puede hacer timpanometría para detectar la presencia de líquido en el oído medio y valorar la función de la membrana timpánica. La causa específica de la otitis externa puede determinarse por cultivo de material obtenido del conducto auditivo afectado; no obstante, debe tenerse en mente que la contaminación superficial y la flora cutánea normal pueden originar cultivos mixtos que son origen de confusión. Por ello, es recomendable tomar muestra del material de ambos conductos auditivos.En la otitis media, el método diagnóstico más preciso es la aspiración cuidadosa con una aguja estéril a través de la membrana timpánica, después de descontaminar el conducto auditivo. La tinción de Gram y el cultivo de tales aspirados son muy confiables; empero, dichos procedimientos se reservan para pacientes en los que las posibles causas son muy variadas, como en lactantes pequeños o cuando existe respuesta clínica al tratamiento antimicrobiano usual inadecuada. No se puede confiar en los cultivos del aparato respiratorio ni en los de nasofaringe para emitir un diagnóstico causal.Para el análisis de secreción ótica, se debe tomar en cuenta el tipo de otitis que presente el paciente: otitis externa, otitis media serosa con o sin ruptura timpánica. Una vez hecho esto se tomará la muestra dependiendo del caso. Si se trata de una otitis externa se limpia el canal externo con solución salina fisiológica estéril y se introduce un hisopo estéril en el conducto auditivo externo. Los cultivos de canal auditivo externo generalmente no reflejan la causa bacteriana de la otitis media, a menos que haya habido una ruptura reciente de membrana del tímpano.Con respecto a la secreción ótica de oído medio, ésta es una muestra que debe ser obtenida a través de un procedimiento médico; posterior a la limpieza del canal auditivo externo con un antiséptico suave, se recolecta la muestra mediante aspiración, desde el tímpano o más atrás.Si las muestras no son tomadas en el laboratorio éstas pueden ser transportadas en frasco estéril o en medio de transporte Stuart, manteniéndose a temperatura ambiente hasta 2 horas luego de la toma.Para investigar hongos es necesario incluir exámenes en fresco que permitan observar sus estructuras características así como medios de cultivo que permitan su desarrollo y posterior identificación.Si se requiere la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana tener en cuenta la elección del agar Mueller Hinton (Mueller Hinton básico, Mueller Hinton con 5% de sangre y Mueller Hinton con 2% de cloruro de sodio) dependiendo del microorganismo identificado. |
|  |
| **MATERIALES Y MÉTODOS** |
| **Equipos** | **Materiales** | **Reactivos** |
| Microscopios, mecheros | Asas, láminas portaobjeto | Coloración de Gram,  |
| Estufa | Hisopos estériles, Medios de cultivo: agar Sangre, agar manitol salado, agar chocolate | Solución salina estérilKOH al 10% |
| **PROCEDIMIENTO / TÉCNICA:** |
| Toma de muestra del conducto auditivo externo: 1.Limpiar el canal auditivo externo con un hisopo impregnado con SSF. 2.Humedecer varios hisopos estériles con solución salina igualmente estéril y tomar la muestra del conducto auditivo externo de cada oído. Introducir el hisopo siguiendo una dirección oblicua de atrás hacia delante y de abajo hacia arriba. Obtener la muestra del margen activo, incluyendo la secreción fresca de áreas profundas.3.Realizar un examen directo y colorearlo con la tinción de Gram con muestra proveniente de cada oído, los hisopos se descartan una vez utilizados.4.Preparar exámenes en fresco con SSF y KOH si se sospecha de hongos.5.Sembrar la muestra de cada oído por separado en una misma placa. Hacer este procedimiento con cada uno de los agares.6.Diseminar e incubar bajo condiciones de microaerofilia a 37 oC por 24-72 horas los medios de agar Sangre y agar Chocolate suplementado y en aerobiosis el agar MacConkey y el agar manitol salado |
| **RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)** |
|  |
| **OBSERVACIONES** |
|  |
| **CONCLUSIONES** |
| Los estudiantes aplicaron los conocimientos sobre técnicas de toma de muestra y procesamiento adecuado para el diagnóstico de infecciones óticas |
| **RECOMENDACIONES** |
| Aplicar las medidas de bioseguridad en el laboratorio uso de guates, tapabocas, mandil , pelo recogido |
| **BIBLIOGRAFÍA** |
| Microbiologia en Práctica de Jawets, Melnick y Adelberg E. Alche Editorial Atlante s.r.lMicrobiologia Fuerst Nueva Editorial Interamericana |
| **Mgs. Ximena Robalino****DIRECTOR/A DE CARRERA** |  **Ph.D Ana C. González****DOCENTE** |  |