|  |
| --- |
| **GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO** |
| **PERÍODO ACADÉMICO** | 2025-2S |
| **ASIGNATURA** | **PH II** | **SEMESTRE: 8** | **PARALELO: A** |
| **NOMBRE DEL DOCENTE** | **ANA CAROLINA GONZÁLEZ R** |
|  **FECHA** | **30/01/2025** |
| **NÚMERO DE PRÁCTICA** |  | **HORA: 09:00-12:00H** | **DURACIÓN: 3H** |
| **NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES.** | **GRUPO 1** | **GRUPO 2** |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  **LUGAR DE LA PRÁCTICA** | LAB E302 |
| **TÍTULO DE LA UNIDAD** | BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS |
| **TEMA DE LA PRÁCTICA** | UROCULTIVO |
| **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 infecciones del tracto urinario |
| **Objetivos específicos** | 1.Describir las condiciones adecuadas para la toma y transporte de la muestra de orina.2.Sembrar la muestra de orina por el método del asa calibrada.3.Cuantificar la carga bacteriana.4.Identificar el (los) microorganismo(s) aislado(s).5.Determinar la susceptibilidad antimicrobiana del (los) microorganismo(s) aislado(s).6.Analizar los resultados obtenidos.7.Reportar los resultados siguiendo las normas de taxonomía y de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana |
|  |

|  |
| --- |
| **GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO** |
| **PERÍODO ACADÉMICO** | MAYO 2019- OCTUBRE 2020 |
| **ASIGNATURA** | **MICROBIOLOGÍA II** | **SEMESTRE: 4** | **PARALELO: B** |
| **NOMBRE DEL DOCENTE** | **ANA CAROLINA GONZÁLEZ R** |
|  **FECHA** | **31/08/2020** |
| **NÚMERO DE PRÁCTICA** | **5** | **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** | UROCULTIVO |
| **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 infecciones del tracto urinario |
| **Objetivos específicos** | 1.Describir las condiciones adecuadas para la toma y transporte de la muestra de orina.2.Sembrar la muestra de orina por el método del asa calibrada.3.Cuantificar la carga bacteriana.4.Identificar el (los) microorganismo(s) aislado(s).5.Determinar la susceptibilidad antimicrobiana del (los) microorganismo(s) aislado(s).6.Analizar los resultados obtenidos.7.Reportar los resultados siguiendo las normas de taxonomía y de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana |
|  |
| **FUNDAMENTO TEÓRICO:** |
| El término Infecciones del Tracto Urinario (ITU) define la presencia de microorganismos en las vías urinarias, siendo las patologías más frecuentes cistitis (infección de la vejiga) y pielonefritis (infección del riñón y su pelvis).Las ITU son de las enfermedades más frecuentes, en particular en mujeres. Su prevalencia es dependiente de la edad y el género. Casi 1% de los niños, muchos con anomalías funcionales o anatómicas del aparato urinario, presenta infección durante el período neonatal.(2) Se calcula que 20% o más de la población femenina sufre alguna forma de ITU en su vida. La infección en la población masculina es rara hasta el quinto decenio de la vida, cuando el crecimiento de la próstata empieza a obstaculizar el vaciamiento de la vejiga. En los ancianos de ambos sexos las intervenciones quirúrgicas ginecológicas o prostáticas, la incontinencia, la instrumentación y el sondeo uretral crónico favorecen tasas de ITU de 30 a 40%. Un solo sondeo vesical conlleva riesgo de infección del 1% y al menos 10% de los individuos con sondas a permanencia se infecta. La orina, producida en el riñón y descargada a través de la pelvis renal y los uréteres hacia la vejiga, es estéril en el individuo sano. Se desarrolla infección cuando las bacterias logran ingresar a ese ambiente y pueden persistir en él, sobre todo a través de una vía ascendente de bacterias residente de la flora perineal, provenientes de la flora del intestino grueso. Entre los factores que favorecen el acceso de las bacterias el más importante es el coito, que desplaza bacterias de forma transitoria al interior de la vejiga y pone en riesgo a la mujer por la corta longitud de la uretra. Otro es la manipulación de la uretra como el sondeo. Las bacterias también pueden alcanzar las vías urinarias desde la corriente sanguínea, lo cual es menos frecuente y requiere una infección en otro sitio. La persistencia se favorece por factores del hospedero que interrumpen o retardan el flujo urinario, como instrumentación, obstrucción o anomalías estructurales. Los factores bacterianos incluyen la capacidad de adherirse al uroepitelio y producir otros factores como las exotoxinas. Los miembros del género *Proteus*, productores de ureasa, se vinculan con cálculos urinarios, que por sí mismos son factores que predisponen a la infección.El diagnóstico de laboratorio de una ITU se realiza a través del urocultivo, el cual consiste en el cultivo bacteriológico de la orina para determinar la presencia y cuantificación de gérmenes patógenos. Para la evaluación de estos gérmenes y de su potencial importancia en un proceso infeccioso de las vías urinarias es imperativo conocer los siguientes aspectos:1.Flora habitual de los genitales externos y la uretra anterior:Estafilococos coagulasa negativa, Corinebacterias no patógenas (difteroides), Enterobacterias: *Escherichia* sp., *Proteus* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. entre otras. Micobacterias saprofíticas, especialmente *Mycobacterium smegmatis*, Levaduras y *Streptococcus* sp. Todos estos microorganismos pueden contaminar fácilmente las muestras de orina sin que ello signifique infección, por eso se deben seguir estrictamente las normas que se explican más adelante, que permiten recolectar y conservar correctamente las muestras para urocultivo.2.Agentes productores de ITU:Todo microorganismo puede potencialmente producir infección urinaria; sin embargo, las más frecuentes son:*Escherichia coli* (85% aproximadamente), *Proteus* sp. (especialmente *Proteus mirabilis*), *Klebsiella pneumoniae,Enterococcus* sp., *Enterobacter* sp.*Pseudomonas* sp., *Serratia* y *Acinetobacter* generalmente en pacientes hospitalizados con sondas permanentes o con otra patología de base.Levaduras, Staphylococcus saprophyticus (generalmente en mujeres en edad reproductiva), Haemophilus principalmente en niños.3.Del hospedero:Para interpretar correctamente el resultado del urocultivo es importante conocer la epidemiología, condiciones generales y la clínica del paciente, tales como: enfermedades metabólicas, estrechez uretral, hipertrofia prostática, desórdenes neurogénicos.En estos casos una buena relación entre el médico y el microbiólogo es determinante para un diagnóstico preciso.**Método del asa calibrada:** Es un método práctico, sencillo y económico, que consiste en sembrar la orina sin centrifugar con un asa calibrada a 0.001 ml (3mm de diámetro) o 0,01 ml (4mm de diámetro). En la elección de los medios de cultivo debe considerarse la recuperación de la mayoría de los patógenos, con el menor costo posible. Generalmente se recomienda la utilización de un agar sangre (AS) y un agar CLED o un medio selectivo diferencial como MK o EMB. |
|  |
| **MATERIALES Y MÉTODOS** |
| **Equipos** | **Materiales** | **Reactivos** |
| Microscopios, mecheros | Asas, placas, láminas portaobjeto, cubreobjetos | Coloración de Gram, oxidasa |
| Estufa |  Medios de cultivo: agar Sangre, agar MacConkey, agar Mueller hinton, muestras de orina, Patrón de MacFarland 0,5 |  |
| **PROCEDIMIENTO / TÉCNICA:** |
| * Mezclar cuidadosamente la orina restante.
* Insertar el asa estéril verticalmente en la muestra y luego diseminarla sobre la superficie de la placa desde el centro, formando una línea y posteriormente hacer estrías sobre la placa cruzando la línea del inóculo varias veces
* Incubar las placas durante 18–24 horas a 37 ºC en aerobiosis y el AS en microaerofilia y en anaerobiosis si la muestra así lo exigiera. En caso de tener cultivos negativos a las 24 horas, se deben incubar 24–48 horas más.
* Análisis cualitativo

La identificación de los agentes se hace mediante el estudio de las características microscópicas de las colonias y la utilización de los sustratos del medio, ejemplo: lactosa, hemólisis y la identificación final a través de pruebas fisiológicas diferenciales, como la prueba de la oxidasa, acción sobre azúcares* Análisis cuantitativo

Contar el número de colonias y multiplicar por el factor 1000 o 100, de acuerdo a la capacidad del asa utilizada, para determinar las unidades formadoras de colonia por mililitro de orina (UFC/ml).* Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos

Generalmente se usa el método de Kirby Bauer, tomando en cuenta para la elección de los antibióticos el agente aislado y aquellos que más se utilizan en el tratamiento de las ITU. |
| **RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)** |
|  |
| **OBSERVACIONES** |
|  |
| **CONCLUSIONES** |
| 1.-Los estudiantes aplicaron los conocimientos sobre técnicas de toma de muestra y procesamiento adecuado para el diagnóstico de infecciones del tracto urinario.  |
| **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 |
|  **Ximena Robalino****DIRECTOR/A DE CARRERA** |  **Ana carolina González****DOCENTE** | **Eliana de la Torre****Responsable de laboratorio** |