

# CARRERA DE MÉDICO CIRUJANO

MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO  
COMPONENTE: MICROBIOLOGÍA MÉDICA II

**MODULOS: PIEL Y MÚSCULO ESQUELÉTICO,  
APARATO RESPIRATORIO, APARATO  
CARDIOVASCULAR, APARATO DIGESTIVO,  
APARATO UROGENITAL, SISTEMA NERVIOSO Y  
ÓRGANOS DE LOS SENTIDOS, SISTEMA  
ENDÓCRINO.**

**SGC-FESZ-MC-ML04**

**Fecha de aprobación por el CAC**

**Revisión: Dr. Julio Alcantar**  
**Dra. Rosa Irene Mondragon Valdes**  
**C.D. Yolanda García Mendez**  
**Q.F.B Claudia Martínez Carrera**

## **DIRECTORIO**

Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez	Director de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Dr. Vicente J. Hernández Abad	Secretario General
Dra. Claudia María Mesa Dávila	Jefe de la Carrera de Médico Cirujano
Dra. G. Gabriela Vázquez Leyva	Secretaria Técnica
Dra. Leticia J. Apiquian Quiroz	Coordinadora de Ciencias Biomédicas
Dra. Irma A. Aburto López	Coordinadora del Ciencias de la Salud Pública
Dr. Miguel Ángel García González	Coordinador de Ciencias Clínicas
Dra. Laura Olalde Montes de Oca	Coordinadora de Área Terminal

## ÍNDICE

1- CULTIVO Y AISLAMIENTO DE ESTAFILOCOCOS EN MUESTRA DE PIEL .....	1
2 - DIFERENCIACIÓN DE LAS CEPAS DE ESTAFILOCOCOS PATÓGENAS DE LAS NO PATÓGENAS .....	5
3- MICOSIS CUTÁNEAS O SUPERFICIALES POR LA TÉCNICA DEL MICROCULTIVO .....	9
4- TOMA DE MUESTRA Y AISLAMIENTO DE HERIDAS INFECTADAS .....	13
5- LEISHMANIA MEXICANA.....	17
6- IDENTIFICACION DE ESTREPTOCOCOS Y NEUMOCOCOS EN EL APARATO RESPIRATORIO.....	21
7- EXUDADO FARINGEO .....	25
8- IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DEL EXUDADO FARINGEO.....	29
9-IDENTIFICACIÓN DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS.....	33
10- OBSERVACIÓN DE PREPARACIÓN DE PLASMODIUM .....	37
11- OBSERVACIÓN DE PREPARACIÓN DE TRIPANOSOMA .....	40
12- HEMOCULTIVO .....	43
13-RESIEMBRA EN MEDIOS SELECTIVOS.....	45
14-IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS POR PRUEBAS BIOQUÍMICAS.....	51
15-REACCIONES FEBRILES.....	54
16-CULTIVO DE ENTEROBACTERIAS .....	62
17- COPROCULTIVO.....	64
18- IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS A PARTIR DEL COPROCULTIVO.....	66
19-COPROPARASITOSCÓPICOS POR CONCENTRACIÓN (CUALITATIVOS) .....	68
21-DIAGNOSTICO DE SIFILIS .....	74
22-UROCULTIVO .....	76
23-OBSERVACION DE SEDIMENTO URINARIO.....	78
24-IDENTIFICACION DE BACTERIA EN ORINA.....	80
25- CULTIVO DE SECRECIONES URETRALES Y VAGINALES.....	83
26- MENINGITIS BACTERIANA .....	86
27-MENINGITIS VIRAL.....	89
28-TAENIASIS-CISTICERCOSIS .....	91
29-CULTIVO DE CLOSTRIDIUM .....	95

30- IDENTIFICACIÓN DEL GÉNERO CLOSTRIDIUM.....	98
Reglamento del Laboratorio de Microbiología .....	100
MANEJO DE RESIDUOS BIOLÓGICO-INFECTIOSOS .....	101

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	1 / 107

## 1- CULTIVO Y AISLAMIENTO DE ESTAFILOCOCOS EN MUESTRA DE PIEL

**OBJETIVO.** Estudiar las características de los microorganismos del grupo de los *Staphilococcus*, y su relación con su patogenia en la piel y conocer los diferentes medios de cultivo para su aislamiento.

### GENERALIDADES

Los *Staphilococcus* son microorganismos esféricos, ligeramente menores a 1 $\mu$ m de diámetro. En frotis, teñidos a partir de medios de cultivo sólidos, se agrupan característicamente en grumos o racimos de forma irregular, son grampositivos.

### Clasificación

1.- De acuerdo a la producción de pigmentos:

- *Staph. aureus* (dorado).
- *Staph. citreus* (amarillo limón) *Staph. albus* (blanco).

2.- De acuerdo a la prueba de la coagulasa:

- *Staph. aureus*, que es coagulasa positiva y patógena.
- *Staph. epidermidis*, que es coagulasa negativa y no patógena.

Generalmente la clasificación más utilizada es la 2, ya que tiene la ventaja de indicar si el organismo en estudio es patógeno o no.

### Propiedades generales

**Tinción de Gram:** Cocos grampositivos dispuestos en racimos. Afinidad al oxígeno: Son aerobios y anaerobios facultativos.

**Exotoxinas:** El estafilococo patógeno produce numerosas exotoxinas y, entre ellas, alguna variedad de hemolisinas, una leucocidina, una dermatonecrosina y una enterotoxina.

**Lactosa:** Su producción no es significativa. **Indol:** Su producción no es significativa.

**Cápsula:** Carecen de cápsula.

**Movilidad:** No son móviles **Esporas:** Carecen de esporas.

### Cultivo

Los medios simples propician el crecimiento de los *staphilococcus* sobre una amplia gama de temperatura (15 a 40°C) y de pH (4.8 a -9.4). Aunque *saph aureus* es un anaerobio facultativo, suele emplearse para identificación cultivo aerobio sobre agar sangre. Las colonias grandes, lisas, frecuentemente beta hemolíticas pueden tener color amarillo dorado debido a la producción de pigmentos carotenoides. Sin



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>2 / 107</b>

embargo, la formación de pigmento es variable, siendo mayor a temperatura ambiente que a 37°C y mayor en medios aerobios *Staph. epidermidis*, que carece de pigmento, forma colonias lisas, blancas inusualmente no hemolíticas.

Como los *staphilococcus* sintetizan la catalasa, el peróxido de hidrógeno que producen en condiciones aerobias no se acumula hasta convertirse en tóxico, como en el caso de los microorganismos catalasa negativos, como los estreptococos y neumococos.

Otros medios selectivos son agar S110, para observar morfología colonial, este medio tiene altas cantidades de sal, haciéndolo altamente selectivo, agar Voguel – Jhonson, para observar reducción de teluros a teluritos, agar Sal – manitol para ver la fermentación de manitolasa.

#### Infecciones y enfermedades en el hombre

Las infecciones por aureus se caracterizan por la localización, supuración y necrosis tisular con cicatrización resultante. La lesión más frecuente, el furúnculo, actúa a menudo como fuente de diseminación hematogena de microorganismos con producción subsiguiente de bacteremia y de enfermedades como osteomielitis y neumonía. La colonización de los estafilococos sobre los tegumentos queda restringida en condiciones normales por la antibiosis que ejercen los miembros de la flora normal. Sin embargo, después de tratamiento intensivo con antibióticos de amplio espectro, muchos miembros de la flora normal del intestino disminuyen en número, pudiendo perder su antagonismo, lo que propicia colonización extensa de *Staphylococcus aureus*. En estos casos puede producirse enterocolitis pseudomembranosa grave y, a veces mortal, que según informes a menudo depende de la presencia de cepas productoras de enterotoxina.

#### MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO

##### *Material*

1 caja de agar sangre.

1 caja de agar S-110.

1 caja de agar sal manitol.

Hisopos estériles.

Portaobjetos.

Cepa de *Staphylococcus aureus*.

Colorantes para Gram.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>3 / 107</b>

### *Reactivos*

No aplica

### *Equipo*

Mechero.

Asa bacteriológica.

Microscopio.

Gradilla.

### Servicios

Gas

### TECNICA

- 1.- Dividir las cajas con medio de cultivo en dos, con un lápiz graso.
- 2.- En una de las secciones sembrar la cepa de Staph. aureus por estria cruzada, en cada una de las cajas de medio de cultivo.
- 3.- Con un hisopo estéril, tomar la muestra de piel (del ala de la nariz o de la frente, donde se presenten lesiones o acné), oprimiendo suavemente.
- 4.- Descargar la muestra en la otra sección de las cajas de agar (agar sangre, agar S-110 y agar sal manitol).
- 5.- Efectuar la tinción de Gram tanto de la cepa, como de la muestra tomada de la nariz.
- 6.- Como precaución quemar el hisopo utilizado.
- 7.- Incubar las cajas de agar sangre y retirar de incubación a las 24 horas.
- 8.- Leer morfología colonial e interpretar resultados.
- 9.- Guardar las cajas con cultivo en el refrigerador, para hacer la identificación bioquímica de estafilococos (próxima sesión).

### RESULTADOS

Interpretación de la muestra obtenida

### CUESTIONARIO

- 1.- ¿Cuál es la razón de que el medio de agar S-110 sea específico para los estafilococos?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>4 / 107</b>

- 2.- ¿En qué condiciones se pueden encontrar a los estafilococos como Gram negativos?
- 3.- Describa las infecciones de impétigo y furunculosis.
- 4.- Definir alfa y beta hemolisinas, leucocidinas, estafilocinasa, factor de difusión y enterotoxina.

## REFERENCIAS

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	5 / 107

## 2 - DIFERENCIACIÓN DE LAS CEPAS DE ESTAFILOCOCOS PATÓGENAS DE LAS NO PATÓGENAS

**OBJETIVOS:** Evidenciar mediante pruebas bioquímicas y especiales ciertas características propias de especie, que permitan la clara diferenciación entre las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.

### GENERALIDADES

Como GÉNERO los estafilococos comparten ciertas características como su forma esférica, su reacción a la tinción de Gram, el ser halófilos (la capacidad de sobrevivir en ambientes con altas concentraciones de sal), el ser anaerobios facultativos (crecen aerobia y anaerobiamente), la presencia de catalasas (enzimas que catabolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso). No obstante se conoce que el GÉNERO comprende alrededor de 40 ESPECIES y 24 SUBESPECIES, muchas de las cuales se encuentran en el ser humano y originan un amplio espectro de enfermedades. La importancia de la correcta diferenciación de especies puede traducirse incluso en la identificación de vulnerabilidades propias de cada microorganismo, que en la práctica clínica puede significar la elección correcta de un fármaco como tratamiento y por consecuencia la pronta recuperación del estado de salud del paciente.

En el caso de los estafilococos, dos de las especies de importancia clínica que producen enfermedades que afectan a la piel y al sistema músculo-esquelético son *aureus* y *epidermidis*, que a nivel de laboratorio pueden ser fácilmente diferenciados por su patrón bioquímico que revela marcadas diferencias en pruebas tales como coagulasa (prueba que pone de manifiesto proteínas del microorganismo que se unen al fibrinógeno y lo convierten en fibrina insoluble) y fermentación de algunos carbohidratos.

PRUEBA	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Pigmento de la colonia	+	-
Coagulasa	+	-
Factor de agregación	+	-
Licuefacción de gelatina (solo algunas cepas)	+ o V	-



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>6 / 107</b>

Manosa	+	V
Manitol	+	-
Glucosa en anaerobiosis	+	-

\*V = variable

### MATERIALES Y REACTIVOS

1. 2 tubos con caldo manitol rojo de fenol con campana de Durham.
2. 2 tubos con caldo glucosa rojo de fenol con campana de Durham.
3. 2 tubos con caldo de glucosa rojo de fenol con campana de Durham y sello de Vas-par.
4. 2 tubos con gelatina bacteriológica.
5. 1 tubo con plasma citratado.
6. Material para venopunción.
7. Mechero.
8. Asa bacteriológica.
9. 2 tubos de ensayo de 13x100
10. Papel seda.
11. Peróxido de hidrógeno.
12. Colorantes para tinción de Gram.
13. Porta objetos.
14. Papel seda.
15. Aceite de inmersión.

### EQUIPO

1. Centrifuga.
2. Balanza de dos platos.
3. Microscopio.

### SERVICIOS

1. Agua.
2. Gas.
3. Electricidad.

### TECNICA

A partir de los cultivos de la sesión anterior, realizar tinción de Gram.

Sembrar los tubos con caldo a partir de los medios de agar S-110, escogiendo las colonias más típicas (pigmentadas y blancas) y etiquetando con cuidado un juego de medios (cepa pura y muestra de piel).

Incubar los tubos a 37°C y reportar resultados después de 24 horas de incubación.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>7 / 107</b>

Sembrar el tubo de gelatina por picadura y dejar incubar a temperatura ambiente por 24 horas. Observar si hay licuefacción.

Realizar la prueba de coagulasa libre (prueba en tubo) tomando una asada de microorganismos e inoculando por suspensión en el tubo de plasma citratado (0.5 mL), incubar a 37°C durante 1- 4 horas revisando el tubo a intervalos de 30 min o 1 hora. Observar si hay formación de coagulo.

Realizar la prueba de catalasa tomando una asada de microorganismos y disolviendo estos en una gota de peróxido de hidrogeno colocada previamente en un portaobjetos limpio y seco. La formación de burbujas es indicativo de la presencia de catalasas.

### RESULTADOS

PRUEBA	Resultados obtenidos a partir de la cepa pura de Staphylococcus aureus	Resultados obtenidos a partir de los microorganismos obtenidos del hisopado de piel
Morfología microscópica y afinidad tintorial a partir de la tinción de Gram		
Color de la colonia en agar S110		
Cambio de color en el medio ASM		
Fermentación de manitol		
Glucosa en anaerobiosis		
Licuefacción de gelatina		
Catalasa		
Coagulasa		

### ANALISIS DE RESULTADOS

Se espera que el alumno al finalizar la práctica haya observado detalladamente las diferencias físicas en la morfología colonial que se desarrolló en los medios S110 y ASM así como las diferencias en los resultados de las pruebas bioquímicas, a modo de visualizar el marcado contraste entre las especies aureus y epidermidis del genero Staphylococcus.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>8 / 107</b>

#### OBSERVACIONES

Verificar que no exista reacción del asa bacteriológica con el peróxido de hidrogeno realizando la prueba sin el inóculo; esto debido a que el material de fabricación de ciertas asas genera burbujeo al contacto con el peróxido.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Murray R.P; Rosenthal S. K; Pfaller A. M. (2009). Microbiología médica. España: Elsevier.  
Mac Faddin F. J. (2003). Pruebas bioquímicas para la Identificación de bacterias de importancia médica. Argentina: Panamericana.

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	9 / 107

### 3- MICOSIS CUTÁNEAS O SUPERFICIALES POR LA TÉCNICA DEL MICROCULTIVO

MARIO AVILA AGUILAR

**OBJETIVOS:** Que el alumno sea capaz de llegar a un diagnóstico de micosis superficiales por la técnica del microcultivo.

Conocer las características morfológicas de los dermatofitos.

Mostrar la forma de realizar un microcultivo y ver ventajas y desventajas en la realización de este.

#### INTRODUCCION

La mayoría de los hongos, tanto macroscópicos como microscópicos están formados por estructuras filamentosas, por lo tanto a su unidad funcional se le denomina HIFA o filamento, y al conjunto de ellas MICELDIO o talo, por su origen las hifas se dividen en: hifas verdaderas y pseudohifas. Las hifas verdaderas son propias de los hongos y se forman a partir de la germinación de una conidia.

Las pseudohifas son propias de las levaduras y se forman a partir de gemaciones.

Las micosis superficiales corresponden al grupo de micosis exclusivamente tegumentarias y son un grupo de enfermedades de la piel y sus anexos causadas por dermatofitos, levaduras y hongos diferentes a los dermatofitos.

En la actualidad se reconocen por lo menos 37 especies de dermatofitos clasificados en tres géneros en su estado imperfecto con base en el tipo de esporas que producen: Microsporum, Trichophyton y Epidermophyton.

#### Tiña de la cabeza

Es una dermatofitosis que afecta al cuero cabelludo, cejas y pestañas. El hongo que se aísla en primer lugar es *E.floccosum*, siguiendo en orden de frecuencia *T.rubrum* y *T.mentagrophytes*.

#### Tiña de los pies “pie de atleta”

Esta dermatofitosis afecta dedos de los pies, pliegues interdigitales y plantas. Las especies que participan con más frecuencia son: *T.mentagrophytes*, *T.rubrum* y *E.floccosum*.

#### Tiña de las uñas



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>10 / 107</b>

Se incluyen bajo este rubro los casos de infecciones de las uñas por dermatofitos y se diferencian de las onicomicosis en las que son causadas por hongos no dermatofitos y levaduras. Los agentes causales son *T.rubrum*, *T.mentagrophytes*, *E.floccosum*, *T.tonsurans*.

Tiña del cuerpo o de la piel lampiña

Es una dermatofitosis superficial causada generalmente por algunas especies de los géneros *Trichophyton* y *Microsporum*.

Diagnóstico de laboratorio

Las muestras clínicas se toman de los bordes activos, el pelo y escamas y fragmentos de los sitios con lesiones, para ello es necesario realizar raspado, las muestras se colocan en caja de Petri estériles.

Siembra de microcultivo

Se usan cajas de Petri estériles con dos portaobjetos y triángulo de vidrio cada uno.

Medio de cultivo en caja de Petri (sabouraud, PZ o papadextrosa agar).

Las muestras se procesan con KOH al 10% o 20% para lograr digestión de la queratina y poderse observar los elementos formados de los dermatofitos por microscopia simple, de contraste de fase o fluorescencia, para facilitar la observación se utiliza blanco de calcofluor. Los elementos que se observan son hifas, artroconidias y esporas.

#### MATERIAL

- Una caja con medio de cultivo (Sabouraud o PDA).
- Agua glicerinada estéril.
- Una caja de Petri esterilizada con un triángulo de varilla de vidrio, un porta y un cubreobjetos en el interior.
- Mechero.
- Asa bacteriológica.
- Un bisturí.
- Tubos de ensayo con cepa de dermatofitos.
- Cepas de hongos en tubo.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>11 / 107</b>

## PROCEDIMIENTO

- 1.- El medio de cultivo contenido en la caja Petri, se corta con ayuda del bisturí en forma de cuadrícula de un centímetro de lado, quedando así los bloques de cultivo donde se sembraran los hongos.
- 2.- Colocar con mucho cuidado el cuadro de agar en la caja de Petri, sobre el portaobjetos. Tener precaución para evitar contaminantes.
- 3.- Con el asa bacteriológica sembrar los hongos tomando una pequeña porción de la cepa, la punta del asa debe estar doblada en ángulo recto para sembrar por picadura en cada uno de los lados del agar (solicitar instrucciones al profesor).
- 4.- Colocar sobre el agar el cubreobjetos y revisar que el conjunto quede perfectamente sobre el triángulo de vidrio.
- 5.- Adicionar al fondo de la caja de Petri agua glicerinada y tapar.
- 6.- Dejar entubar durante 7 días a temperatura ambiente.

## Próxima sesión

- 7.- Teñir y observar al microscopio.
- 8.- Observar características macroscópicas de dermatofitos.

## RESULTADOS

## CUESTIONARIO

- 1.- ¿A qué se le denomina querion de Celso?.
- 2.- Menciona 4 agentes etiológicos de la onicomicosis y manifestaciones clínicas.
- 3.- Menciona otros 3 métodos para el diagnóstico de dermatositis.
- 4.- Menciona 3 tinciones para el diagnóstico de dermatositis.
- 5.- ¿Para qué sirve el agua glicerinada?.

## BLIBLIOGRAFIA

Manual de Infectología Clínica  
Kumate-Gutierrez  
17ª edición  
Editorial Mendez Editores  
Año 2014

Microbiología Médica  
Murray, Rosenthal Pfaller  
7ª edición



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>12 / 107</b>

Editorial Elsevier-sounder  
Año 2014

Microbiología y Parasitología  
Romero Cabello  
3ª edición, 3ª reimpresión  
Editorial Panamericana  
Año 2014

Micología Medica Basica  
A. Bonifaz  
Editorial McGraw-Hill  
5ª edición  
Año 2015

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	13 / 107

## 4- TOMA DE MUESTRA Y AISLAMIENTO DE HERIDAS INFECTADAS

MARIO AVILA AGUILAR

OBJETIVO: Que el alumno conozca las bacterias implicadas en la génesis de las heridas infectadas.

### INTRODUCCIÓN

#### Infección de heridas

La infección localizada se manifiesta a menudo con los signos y síntomas clásicos de la inflamación (dolor, calor, tumefacción, rubor e impotencia funcional). Sin embargo, y en especial en las heridas crónicas, las bacterias pueden causar problemas, como por ejemplo un retraso (o detención) de la cicatrización.

El diagnóstico de infección de una herida se basa principalmente en criterios clínicos. La valoración debe comprender la evaluación del paciente, de los tejidos que rodean la herida y de la propia herida en busca de signos y síntomas de infección, así como de factores que probablemente aumenten el riesgo y la gravedad de la infección. La incorporación de la evaluación de una posible infección al cuidado habitual de las heridas facilitará la detección precoz y el consiguiente tratamiento.

#### Riesgo de infección

El riesgo de infección de una herida aumenta en presencia de:

1. Cualquier factor que debilite al paciente, altere su resistencia inmunitaria o disminuya la perfusión tisular, como por ejemplo:
2. Enfermedades concomitantes: diabetes mellitus, inmunodepresión, hipoxia/hipoperfusión tisular secundaria anemia o a enfermedad arterial/cardiaca/respiratoria, insuficiencia renal, cáncer, artritis reumatoide, obesidad, desnutrición.
3. Medicación: corticoesteroides, citotóxicos, inmunodepresores.
4. Factores psicosociales: hospitalización o internamiento, escasa higiene personal, hábitos insalubres.

Entre las especies bacterianas que frecuentemente se pueden encontrar en lesiones de piel se encuentran:

1. Estafilococos produciendo necrosis rápida y supuración con gran cantidad de pus amarillo cremoso.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>14 / 107</b>

2. Estreptococos beta hemolíticos del grupo A tienden a diseminarse rápidamente causando edema intenso y eritema, poca necrosis y exudados de escasa consistencia con aspecto de suero.
3. Bacterias anaerobias producen necrosis y pus abundante, de color pardo y olor fétido.

#### Herida infectada

Los estafilococos coagulasa negativos son *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*. El primero es parte de la flora normal de la piel, aparato respiratorio y gastrointestinal, pero produce infecciones nosocomiales, de prótesis, de catéteres, bacteriemias, endocarditis, infección de heridas quirúrgicas y del tracto urinario, infecciones del sistema nervioso central, oftalmológicas y de tejidos blandos. *S. saprophyticus* produce infecciones de vías urinarias como uretritis y prostatitis e infecciones de heridas.

#### Diagnóstico

El cultivo se hace en agar sangre de carnero, agar *Staphylococcus* 110, agar nutritivo, agar manitol sal caldo nutritivo, caldo con infusión de cerebro y de corazón, etc. De estos, preferimos el agar sangre de carnero, el agar *Staphylococcus* 110 y agar manitol sal.

#### MATERIAL

- Peróxido de hidrogeno
- Colorantes para Gram y microscopio
- 1 caja de agar sangre
- 1 caja de agar Me Conkey
- 1 caja de agar sal manitol
- 1 caja de agar cetrimida (por grupo)
- 1 tubo de caldo tioglicolato con cultivo de *Clostridium*
- 1 tubo con caldo tioglicolato con cultivo de *Bacterioides* sp
- 1 cepa de *Pseudomona aeruginosa*
- 1 cepa de *Staphylococcus aureus*
- 1 tubo con plasma citratados

#### PROCEDIMIENTO

- 1.- Sembrar por la técnica de estría de aislamiento en la caja de agar sangre dividida por la mitad, las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>15 / 107</b>

- 2.- Sembrar por la técnica de estría de aislamiento en la caja con medio de Mc Conkey y la cepa de Pseudomona.
- 3.- A partir de las diferentes cepas hacer frotis y tinción de Gram.
- 4.- A partir de la cepa de Staphylococcus aureus hacer la prueba de la coagulasa y catalasa.
- 5.- Reportar la morfología colonial y microscópica de los diferentes cultivos, después de incubación a 37° C.
- 6.- Observar morfología colonial de Pseudomona aeruginosa en agar cetrimida.

#### CUESTIONARIO

- 1.- Menciona 5 bacterias que puedan infectar una herida
- 2.- Menciona el fundamento de los medios de cultivo utilizados en esta práctica.
- 3.- ¿Cuáles son los desinfectantes y antisépticos útiles para el aislamiento y cultivo de microorganismos que infectan una herida?
- 4.- ¿Cuál es el procedimiento a seguir en caso de encontrar una herida infectada?

#### BIBLIOGRAFIA

##### Farmacología Modular

Rubio Póo C, Skromne Kadlubik D, Kravzov Jinich J, Martínez M A  
Editorial McGraw Hill  
Año 2010

##### Microbiología Médica

Brooks Geo F, Carroll K C, Butel J S, Morse S A, Mietzner T A  
Editorial McGraw Hill  
Año 2011

##### Microbiología Médica

Jawetz  
Editorial McGraw Hill  
Año 2010

##### Microbiología y Parasitología

Romero Cabello  
Editorial Panamericana  
Año 2008



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>16 / 107</b>

## OBSERVACION DEL MICROCULTIVO (CONTINUACIÓN)

### MATERIAL

1. 1 Microcultivo de la práctica anterior
2. 1 Pinzas de disección
3. 1 Frasco gotero con Lactofenol azul de algodón
4. Porta objetos
5. Aza bacteriológica
6. Mechero

### PROCEDIMIENTO

- 1.- Con ayuda de las pinzas de disección, separar la laminilla cubre-objetos del microcultivo, con el bisturí o aguja de disección desechar el bloque del medio de cultivo.
- 2.- Colocar una gota de azul de algodón sobre un porta objetos limpio y colocar sobre la gota del colorante el cubre-objetos con la muestra del hongo.
- 3.- Observar las estructuras reproductivas del hongo con objetivo de 10X y 40X.
- 4.- Interpretar sus observaciones.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>17 / 107</b>

## 5- LEISHMANIA MEXICANA

VERONICA TORRES CABALLERO

**OBJETIVOS:** Describir las características morfológicas de las formas de Leishmania en su ciclo biológico e identificación microscópica. Identificar los procedimientos para el diagnóstico microbiológico de acuerdo a las formas clínicas.

### FUNDAMENTOS TEORICOS O ANTECEDENTES

#### INTRODUCCIÓN

Los agentes etiológicos de las leishmaniasis son protozoarios hemoflagelados intracelulares obligados familia Tripanosomatidae del género Leishmania, morfológicamente idénticos entre sí, pero al utilizar técnicas de biología molecular se clasifican en : a) Complejo Leishmania donovani con 3 especies L. donovani, L. infantum y L. chagasi estas causan Leishmaniasis Visceral (LV) sinónimos Kala azar, fiebre negra, fiebre Dum Dum b) Complejo Leishmania mexicana con dos especies L. mexicana y L. amazonensis causan Leishmaniasis cutánea localizada (LCL) ó “ulcera de los chicleros” y se relaciona con Leishmaniasis Mucocutanea (LMC) o Espúndia o Uta y con Leishmaniasis cutánea difusa (LCD) o Leishmanoide cutáneo o Leishmaniasis anergica c) Leishmania tropica, L. major y L. aethiopica causantes de LC ó “Boton de Oriente” d) Subgénero Viannia con 4 especies L. (V) braziliensis, L.(V) guyanensis, L.(V) panamensis y L(V) peruviana causan LMC. La identificación de todas estas especies se basa en isoenzimas, antígenos y ácidos nucleicos. (1,2)

Las especies causantes de Leishmaniasis en México son L.(L) mexicana, L. (V) braziliensis causantes de LC forma localizada (LCL) mas frecuente en México 99%, L. infantum causa LV y L. (V) braziliensis L.(V) panamensis, L. (V) guyanensis, L. (V) peruviana causa LMC, abundan en norte, centro, sureste de República Mexicana, América central y América del sur. La OMS considera a Leishmaniasis como zoonosis endémica y una de las 6 enfermedades tropicales de mayor importancia (1,2,4,5, 6)

Se observa fase de amastigote en tejidos a nivel de macrófagos, células endoteliales y leucocitos polimorfonucleares y vísceras de huésped y mamíferos reservorios en América roedores y cánidos, marsupiales, . La fase de promastigote se encuentra en medios de cultivo como NNN, Snekjie y RPMI 1640 (8) asi como en el tubo digestivo de insectos vectores mosco hembra hematófago antropofílico Phlebotomuss ssp en Europa y en América Lutzomyia . (1,2, 3, 5, 6)

### TECNICAS DE DIAGNOSTICO PARASITOLOGICO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>18 / 107</b>

Método diagnóstico	LCL	LCD	LMC	LV
Impronta	++	++++	++	NR
Biopsia	++	++++	++	++++
Extendido de médula ósea	NR	NR	NR	+++
Aislamiento en animales y medios de cultivo	+++	++++	++	++
Serología	++	++++	++	++++
Intradermoreacción	++++	Negativo	+++	Negativo

NR = no se realiza

++ = sensibilidad del 50-60%

+++ = sensibilidad del 60-90%

++++ = sensibilidad del 90-100% (valor diagnóstico importante)

Fuente: Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. INDRE. Lineamientos para la vigilancia Epidemiológica por laboratorio. México, 2015 p. 61 (8)

#### MATERIALES Y REACTIVOS:

Preparaciones fijas de Señale con flechas características observadas corte histológico de bazo con amastigotes de *L. donovani*. Preparaciones fijas de frotis sanguíneo para búsqueda de promastigotes. Aceite de emersión Papel seda (para limpiar lentes del microscopio).

EQUIPO: Microscopio.

#### SERVICIOS:

1. Conexión eléctrica en cada mesa de laboratorio.
2. Laboratorio con luz eléctrica.

#### PROCEDIMIENTO

1.- Observar al microscopio las preparaciones fijas a 10x, 40x y 100x.

#### RESULTADOS O FORMATOS

Tipo de laminilla	Observación microscópica	Esquema
Tejido	Describir fase parasitaria	Señale con flechas características observadas
Frotis	Describir fase parasitaria	Señale con flechas características observadas



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>19 / 107</b>

#### ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Redacte sobre la importancia de conocer la fase infecciosa y fase de réplica (causa cuadro clínico) de la Leishmaniasis, así como el ciclo biológico del huésped definitivo y del huésped intermediario. De acuerdo a las formas clínicas de Leishmaniasis: Visceral, mucocutánea, cutánea localizada y diseminada esquematice ruta de diagnóstico microbiológico. (8)

#### CUESTIONARIO

- 1.- Mencione el cuadro clínico de la úlcera de los chicleros.
- 2.- Describa aspectos morfológicos del amastigote y promastigote de *Leishmania*.
- 3.- Explique detalladamente el ciclo biológico del parásito.
4. Mencione los métodos de diagnóstico directos e indirectos para leishmaniasis. (7)
5. ¿En qué consiste la prueba de Leishmanina y en qué tipo clínico de leishmaniasis es útil?

#### BIBLIOGRAFIA.

1. Rodríguez Pérez EG. Parasitología médica, México El Manual Moderno, 2013 p 163-172.
2. Becerril MA. Parasitología Médica, 4ta. ed. Mc Graw Hill Interamericana México 2014 p 85-93.
3. Prats GP. Microbiología Clínica. Panamericana S. A. 2013 p 359-361.
4. Hernández-Rivera Mirsha Pamela, Hernández-Montes Omar, Chiñas-Pérez Adelaido, Batiza-Avelar Juan Miguel, Sánchez-Tejeda Gustavo, Wong-Ramírez Carlos et al . Study of cutaneous leishmaniasis in the State of Campeche (Yucatan Peninsula), Mexico, over a period of two years. Salud pública Méx [revista en la Internet]. 2015 Feb [citado 2016 Mayo 20] ; 57( 1 ): 58-65. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342015000100009&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342015000100009&lng=es).
5. Uribarren BT. Leishmaniosis o Leishmaniasis, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de medicina, UNAM diciembre 2015, en <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/leishmaniosis.html>
6. Secretaría de Salud. Manual para el diagnóstico y tratamiento y control de leishmaniasis. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y control de enfermedades. Dirección General de Programas Preventivos. Programa de Enfermedades Transmitidas por vector. En: [www.cenaprece.salud.gob.mx/.../ManualLeishmaniasis2015.pdf](http://www.cenaprece.salud.gob.mx/.../ManualLeishmaniasis2015.pdf)
7. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2014, Para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vectores. En: [http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/NOM\\_032\\_SSA2\\_2014.pdf](http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/NOM_032_SSA2_2014.pdf)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>20 / 107</b>

8. Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. INDRE. Lineamientos para la vigilancia Epidemiológica por laboratorio. México, 2015 p. 61. En:  
[http://www.indre.salud.gob.mx/sites/indre/descargas/pdf/Lineamientos/lineamientos\\_para\\_la\\_vigilancia\\_de\\_leishmaniasis.pdf](http://www.indre.salud.gob.mx/sites/indre/descargas/pdf/Lineamientos/lineamientos_para_la_vigilancia_de_leishmaniasis.pdf)

OBSERVACIONES:

ELABORO, PROFA. VERONICA TORRES CABALLERO JUNIO 2016.

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	21 / 107

## 6- IDENTIFICACION DE ESTREPTOCOCOS Y NEUMOCOCOS EN EL APARATO RESPIRATORIO

**OBJETIVO:** Conocer de manera general las características del género *Streptococcus* y diferenciar entre las especies *pyogenes* y *pneumoniae* a través de los patrones de hemólisis obtenidos en cultivos en agar sangre y el empleo de otras pruebas como la identificación de cápsula.

### Introducción

Las infecciones respiratorias agudas tienen una incidencia muy elevada en todas las edades, constituyen el principal motivo de consulta en todos los países y en todos los estratos socioeconómicos. Entre las bacterias que causan infecciones respiratorias agudas de forma primaria, se reconoce al género *Streptococcus*, en especial al grupo A como el más frecuente en rinofaringitis y faringoamigdalitis purulenta.

Como género, estos microorganismos, se caracterizan por tener una forma redondeada, que oscila entre 0.5 a 1 micra de diámetro, se pueden encontrar como cocos aislados, en pares o formando cadenas, se distinguen por ser anaerobios facultativos y catalasa negativos.

La gran mayoría de los estreptococos, se distinguen por la producción de una gran variedad de toxinas y enzimas extracelulares, siendo un rasgo distintivo la producción de hemolisinas con las que efectúan reacciones hemolíticas (hemólisis  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) en cultivos enriquecidos con sangre.

Algunos microorganismos como *Streptococcus pneumoniae* pueden presentar cápsulas polisacáridas que le confieren un aspecto mucoso a las colonias que se desarrollan sobre el agar, y son lisados con facilidad por agentes tensoactivos, por ejemplo, las sales biliares.

Parte de las características antes mencionadas pueden emplearse como fundamentos para una clasificación; sin embargo la agrupación de las diferentes especies en los grupos actualmente conocidos, fue establecida en 1930 por Rebeca Lancefield, quien emplea antígenos específicos de la pared celular como base para dicha clasificación.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	22 / 107

## ESTREPTOCOS DE IMPORTANCIA MÉDICA

NOMBRE	Lancefiel d GRUPO	HEMOLISIS
<i>S. pyogenes</i>	A	Beta
<i>S. agalactiae</i>	B	Beta
<i>Enterococcus faecalis</i> y otros	D	Ninguna Alfa
<i>S. bovis</i>	D	Ninguna Alfa
<i>S. anginosus</i>	No tipificable A (C,F,G)	Alfa Beta
<i>S. viridans</i> múltiples especies	intipificables	Alfa
<i>S. pneumoniae</i>	Ninguna	Alfa
<i>Peptostreptococcus</i>	Ninguna	Alfa



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	23 / 107

## Material

- Asa bacteriológica
- Mechero
- Microscopio
- Juego de colorante para Gram
- Tinta china
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- 2 placas de agar sangre
- 2 tubos de caldo lactosa + rojo fenol
- 2 tubos de caldo inulina + rojo fenol
- 2 tubos de caldo sorbitol + rojo fenol
- 2 tubos de glucosa + rojo fenol
- Cepa de *Streptococcus pyogenes*
- Cepa de *Streptococcus pneumoniae*.
- 1 tubo con desoxicolato de sodio
- Discos de optoquina.

## Procedimiento

1. De la cepa *Streptococcus pyogenes*, tomar una asada y sembrar en el medio de cultivo Agar sangre con técnica de aislamiento. Seguir el mismo procedimiento para la cepa de *Streptococcus pneumoniae*.
1. Tras la realización de la siembra, colocar un disco impregnado con optoquina en cada caja para observar la resistencia o sensibilidad de algunas colonias ante el reactivo.
2. Tomar una asada de la cepa de *Streptococcus pyogenes* y sembrar por agitación en el medio líquido que contiene lactosa con rojo de fenol.
3. Tomar una asada de la cepa de *Streptococcus pyogenes* y sembrar por agitación en el medio líquido que contiene sorbitol con rojo de fenol.
4. Tomar una asada de la cepa de *Streptococcus pyogenes* y sembrar por agitación en el medio líquido que contiene glucosa con rojo de fenol.
5. Seguir el mismo procedimiento con la cepa de *Streptococcus pneumoniae*.
6. Tomar una asada de la cepa de *S. pneumoniae* e inocular el tubo con desoxicolato sódico.
7. Incubar a 37° durante 24 hrs.
1. Realizar frotis y tinción de Gram para cada cepa.
2. Realizar tinción de tinta china para *Streptococcus pneumoniae*.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	24 / 107

---

### Técnica de tinción con tinta china

- Colocar una gota de agua en un portaobjetos limpio.
- Hacer una suspensión con una asada de la cepa de *Streptococcus pneumoniae*.
- **Colocar a un lado una gota pequeña de tinta china.**
- Homogeneizar con el asa y colocar encima un cubre objetos.
- Observar al microscopio a 40x.

***Las cápsulas aparecen como zonas claras entre el contorno de las células y el fondo se observa oscuro.***

---

### CUESTIONARIO

- 1.- Explique la importancia de la proteína M para el género *Streptococcus*.
- 2.- Explique la importancia que tienen los cultivos en agar sangre en la clasificación del género *Streptococcus*.
- 3.- ¿Cuáles son y qué efecto que tienen las estreptolisinas en los tejidos del hombre?
- 4.- ¿Cuál es la importancia clínica de la identificación de *Streptococcus pneumoniae*?
- 5.- Mencione otras técnicas de tinción para demostración de cápsula.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	25 / 107

## 7- EXUDADO FARINGEO

**OBJETIVO:** Identificación de los microorganismos causantes de las infecciones respiratorias más comunes de tipo bacteriano mediante el empleo de la técnica de laboratorio conocida como exudado faríngeo.

### Introducción

El estudio del exudado faríngeo es importante para el diagnóstico de ciertas infecciones del aparato respiratorio, no obstante el aislamiento e identificación de microorganismos patógenos en estas regiones suele presentar algunos problemas debido a la existencia de una flora normal abundante que incluye aproximadamente 200 especies, muchas de ellas consideradas oportunistas con potencial patógeno e incluso patógenos definidos; por lo que el esquema de aislamiento debe incluir tanto microorganismos gramnegativos como grampositivos, además de hongos.

Para la obtención de buenos resultados, es recomendable la toma de muestra antes del inicio del tratamiento antimicrobiano y es de vital importancia la adecuada toma de la misma, para lo cual se recomienda sea de los sitios que tengan mayor afectación como los que presentan enrojecimiento o pus (en el caso de la orofaringe), tomando precauciones como la de no contaminar la muestra tocando lengua, labios u otro anexo de la cavidad bucal.

La toma de muestra deberá realizarse en el laboratorio, pero si no fuera posible, entonces deben emplearse medios de transporte como el medio Stuart, que aseguran la viabilidad de los microorganismos hasta que sea posible la siembra en los medios adecuados.

---

### ***Microorganismos que se aíslan con mayor frecuencia en la faringe de personas sanas.***

---

- ***Streptococcus beta hemolyticus del tipo A.***
- Streptococcus alfa hemolítico.
  - Branhamella catarrhalis.
- Neisserias.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>26 / 107</b>

- Staphylococcus epidermidis.
  - Staphylococcus aureus.
  - Haemophilus haemolyticus.
- Haemophilus influenzae.
- Diplococos pneumoniae.
  - Bacilos difteroides.
  - Bacilos coliformes (Gram -).
- Levaduras (Cándida albicans).

Debe tenerse presente que la importancia de los microorganismos como responsables de una infección está relacionada con su abundancia en el exudado que se estudia.

## Material

- Hisopos de algodón estériles
- Asa bacteriológica
- Mechero de Bunsen
- Tubo con caldo cerebro corazón (BHI)
- Placa con Agar sangre
- Placa con Agar S110
- Placa con Agar McConkey
- Tubo con Agar Biggy

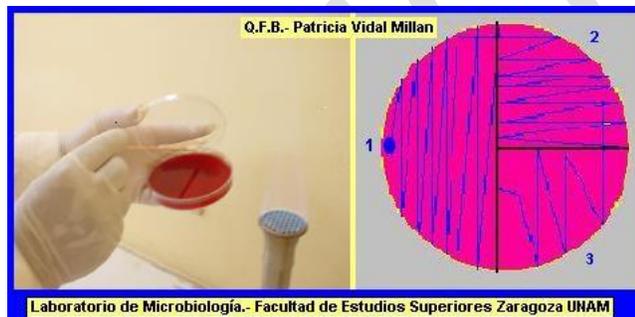
## Procedimiento

- Humedecer dos hisopos estériles en caldo cerebro corazón y pedir al paciente que abra la boca.
- Deprimir la lengua con un abatelenguas estéril.
- Juntando ambos hisopos, proceder a la toma de muestra, realizando un raspado suave de cualquier área que manifieste signos de inflamación,
  - exudados o úlceras procurando no tocar la lengua, labios ni los otros anexos de la cavidad bucal del paciente.

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>27 / 107</b>

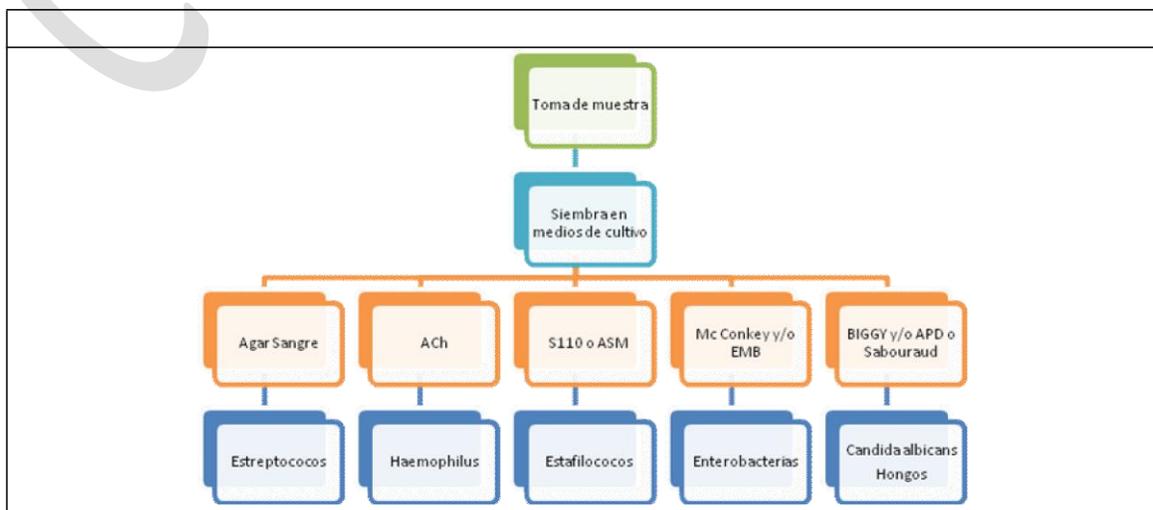


- Con uno de los hisopos, realizar un frotis y proceder a teñirlo con la técnica de Gram.
- Con el otro hisopo, realizar la descarga del inóculo en los diferentes medios de cultivo.
- Con ayuda de un asa bacteriológica, realizar la distribución del inóculo empleando la técnica de estría cruzada.



- Incubar los diferentes medios por un periodo comprendido entre 24 y 48 horas a 37°C. Es importante que las placas de agar sangre se observen a las 24 horas para observar los patrones de hemólisis.
- Reportar la morfología colonial y guardar los cultivos en refrigeración para la siguiente sesión.

### Medios de cultivo empleados en exudado faringeo





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>28 / 107</b>

### Tinción de Gram

- 1.- Se hace un frotis delgado del material a estudiar y se deja secar al aire.
- 2.- Se fija la preparación pasándola un par de veces a través de la flama del mechero. De esta forma se evita que sea lavada durante la tinción.
- 3.- Cubrir la superficie del frotis con solución de cristal violeta por un lapso de un minuto.
- 4.- Enjuagar con agua destilada.
- 5.- Cubrir la superficie del frotis con la solución de yodo de Gram, dejando que esta actúe por un lapso de un minuto.
- 6.- Enjuagar con agua destilada.
- 7.- Cubrir la superficie del frotis con la solución de alcohol- cetona por un lapso de 30 segundos.
- 8.- Enjuagar con agua destilada.
- 9.- Cubrir el frotis con la solución de safranina por 15 segundos.
- 10.- Enjuagar con agua destilada.
- 11.- Secar al aire.
- 12.- Observar al microscopio a 40x y 100x.

### CUESTIONARIO

- 1.- Describa el procedimiento para la toma de la muestra del exudado faríngeo.
- 2.- Mencione a los virus y bacterias que ocasionan rinofaringoamigdalitis.
- 3.- Explique la importancia de realizar los frotis y tinciones de la muestra.
- 4.- Explique el método de siembra para aislamiento en placas.
- 5.- Explique el procedimiento para la toma de la muestra en el caso de los géneros *Haemophilus* o *Bordetella*.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>29 / 107</b>

## 8- IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DEL EXUDADO FARINGEO

OBJETIVO: Identificar mediante pruebas bioquímicas y especiales el género y especie de los microorganismos aislados en los cultivos procedentes del exudado faríngeo de la sesión anterior.

### Introducción

Tanto para la confirmación de género como para la identificación de las principales especies de importancia clínica, resulta de vital importancia el estudio de las características metabólicas en los microorganismos a estudiar, lo cual es llamado con frecuencia estudio bioquímico o pruebas bioquímicas. Estas pruebas se realizan generalmente en tubo y se eligen a partir de las características del microorganismo que se han obtenido de los cultivos en placa y de las tinciones realizadas de colonias aisladas; comprenden una amplia gama, dentro de las cuales destacan las que se emplearán en esta sesión: TSI, SIM, prueba de fermentación de carbohidratos, citrato de Simmons y caldo urea.

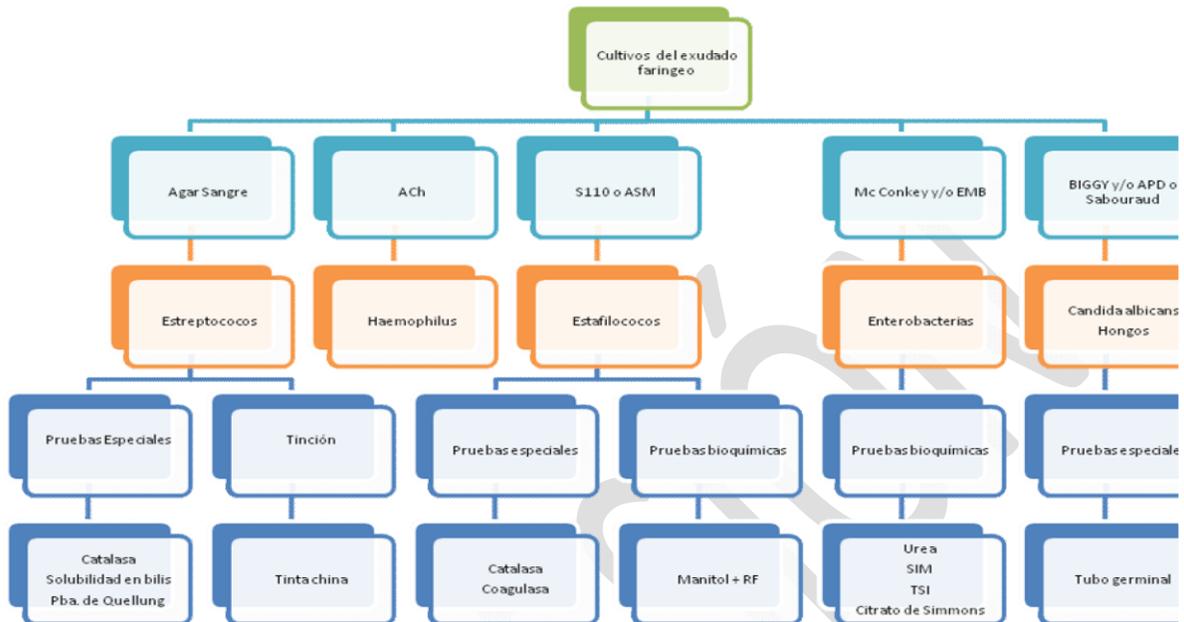
Adicional a las pruebas bioquímicas, suelen emplearse las llamadas pruebas especiales, que son todas aquellas pruebas que no necesariamente arrojan información sobre el metabolismo del microorganismo, sino que también pueden distinguir un aspecto morfológico o estructural. Un ejemplo de estas lo constituye la tumefacción de la cápsula, mejor conocida como prueba de Quellung; sin embargo su función principal junto con las tinciones es brindar una visión más completa que abarque aspectos bioquímicos, fisiológicos y morfológicos que orienten al profesional a una buena identificación de los microorganismos.

Una vez establecida la identidad del microorganismo causal de la enfermedad, es importante realizar pruebas de susceptibilidad a los diferentes antibióticos, para así poder brindar al paciente el tratamiento adecuado y evitar que se propague aún más la resistencia microbiana que ya constituye un serio problema de salud. Para esta evaluación, se utilizan discos de papel impregnados con los fármacos más comúnmente empleados en el tratamiento de enfermedades causadas por microorganismos grampositivos y gramnegativos, que tras ser colocados en medios inoculados masivamente con la cepa en cuestión permiten observar en pocas horas (24 – 48 hr) la acción de los fármacos por la formación de los llamados halos de inhibición (espacios sin crecimiento bacteriano), en los que dependiendo del diámetro se observa la eficacia del fármaco.

Pruebas bioquímicas y especiales a partir de los cultivos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	30 / 107



Nota: Se recomienda realizar tinción de Gram después de obtener desarrollo en las placas de agar, pues esto ayudará a la elección de las pruebas bioquímicas y especiales.

#### Material

- Placas de agar con los cultivos de la sesión anterior.
- 1 tubo con medio de SIM.
- 1 tubo con caldo manitol con rojo de fenol.
- 1 tubo con caldo urea.
- 1 tubo con Citrato de Simmons.
- 1 tubo con plasma citratado.
- Discos impregnados con antibióticos.
- Colorantes para la tinción de Gram.
- Tinta china
- Asa bacteriológica
- Portaobjetos.
- Mechero de Bunsen.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>31 / 107</b>

- Microscopio.

## Procedimiento

1.- En caso de crecimiento en los medios de cultivo S110 o Agar Sal Manitol, selectivos para Staphylococcus:

1. Tomar una asada partiendo de una colonia aislada y realizar una preparación fija y teñir con coloración de Gram.
2. Con otra asada realizar prueba de catalasa en portaobjetos.
3. Realizar prueba de coagulasa.
4. Reportar los resultados obtenidos.

2.- Reportar (la observación realizada a las 24 horas de incubación), las características de las colonias que desarrollaron en agar sangre, así como el tipo de hemólisis.

3.- En caso de existir crecimiento de colonias en los medios selectivos para enterobacterias (EMB y Agar Mc Conkey), tomar los inóculos pertinentes a partir de colonias aislada e inocular las pruebas bioquímicas como se indica a continuación:

- Inocular por agitación en el medio líquido caldo urea.
- Sembrar por picadura en el medio de SIM con un asa recta, teniendo la precaución de no tocar el fondo del tubo.
- Inocular por estría y picadura el medio TSI.
- Inocular la prueba de citrato de Simmons solo con estría el pico de flauta.

Prueba de sensibilidad a antibióticos

1.- De una de las cajas con medio de cultivo en donde hubo desarrollo de colonias aisladas, tomar una asada y realizar una siembra masiva el medio BHI o Mueller Hinton.

2.- Colocar los discos impregnados con antibióticos.

3.- Incubar los cultivos a 37° C durante 48 hrs.

4.- Reportar los resultados indicando la inhibición (sensibilidad) o de resistencia de cada uno de los antibióticos.

## CUESTIONARIO

1.- Mencione las características morfológicas, de tinción, cultivo y pruebas específicas para la identificación del Género Streptococcus.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>32 / 107</b>

2.- Mencione Las características morfológicas de tinción y de crecimiento para la identificación de Haemophylos influenzae.

3.- Mencione dos medios de cultivo selectivos y dos diferenciales para el crecimiento e identificación de enterobacterias.

4.- Explique en qué consiste la prueba del Indol en el medio SIM y en que momento se considera positiva.

5.- Explique en qué consiste la prueba de la Urea y cuando se considera positiva.

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	33 / 107

## 9-IDENTIFICACIÓN DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Objetivo: Identificar las principales características morfológicas y de tinción del género *Mycobacterium* a través de la realización de la técnica de tinción de Ziehl Neelsen y la siembra en medios de cultivo para el aislamiento del género.

### Introducción

La tuberculosis es una enfermedad causada por una bacteria (micobacteria) del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* que suele afectar pulmones y hasta en un 33% de los casos otros órganos.

El miembro causante de la tuberculosis, pertenece a la familia *Mycobacteriaceae* y al orden *Actinomycetales*; es una bacteria aerobia, no esporógena, bacilar que mide 0.5 por 3 mm. Se distingue por no captar con facilidad los colorantes, pero una vez teñidos, resisten la decoloración con alcohol ácido, razón por la cual reciben el nombre de bacilos ácido alcohol resistentes. La resistencia a la decoloración es debida a los lípidos estructurales de las membranas que forman la pared de estos microorganismos.

Respecto a su crecimiento, las colonias de *Mycobacterium tuberculosis* generalmente aparecen en medio de huevo coagulado después de 2 a 3 semanas de incubación a 35°C, no ocurre crecimiento a 25 o 45 °C. Al principio el crecimiento aparece como colonias pequeñas (1 a 3 mm), secas, friables, rugosas, con color ante. Después de varias semanas incrementan su tamaño logrando alcanzar hasta 8 mm y las colonias presentan bordes irregulares aplanados y un centro en forma de coliflor.

En el año 2009 se reportaron a la Organización Mundial de la Salud (OMS) más de 8.5 millones de nuevos casos de tuberculosis (todas las formas, pulmonar y extrapulmonar); 95 % de los casos se reportaron en los países en vías de desarrollo. Sin embargo por la insuficiente detección de casos y la notificación incompleta, los casos reportados constituyen solo 63% de la estimación de casos totales.

El mecanismo fundamental de transmisión de la tuberculosis es por vía respiratoria ya que el bacilo de la tuberculosis se transmite mediante pequeñas partículas de menos de 10 micras emitidas al estornudar, hablar o toser. Con la tos pueden emitirse unas 3.000 partículas potencialmente infecciosas, igual número puede eliminarse al hablar 5 minutos y muchas más al estornudar.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>34 / 107</b>

Cada una de estas partículas infecciosas suele contener una o pocas bacterias que pueden permanecer viables suspendidas en el aire durante varios minutos, permitiendo que el contagio se realice incluso en ausencia del individuo fuente de la infección, especialmente si la habitación donde estuvo ha permanecido cerrada y sin luz solar, ya que *M. tuberculosis* es sensible a la acción de la luz ultravioleta. La mayoría de los pacientes tuberculosos excretan pocos bacilos, por lo que generalmente se requiere un contacto continuo y fundamentalmente la convivencia domiciliaria, para infectarse.

## Material

- Mechero de Bunsen.
- Microscopio.
- Asa bacteriológica.
- Portaobjetos.
- Aceite de inmersión.
- Alcohol ácido al 39%
- Fucsina de Ziehl
- Azul de metileno
- 1 Tubo con cepa *Mycobacterium* sp.
- 1 Tubo con medio de cultivo Lowestein Jensen
- 1 Caja con Agar glicerol telurito.
- Peróxido de Hidrógeno.

## Procedimiento

- 1.- Tomar una asada de la cepa y sembrar en los medios de cultivo.
- 2.- Incubar a 37° C durante 4 días.
- 3.- Hacer una tinción de *Mycobacterium* sp. con técnica de Ziehl Neelsen.
- 4.- Realizar la prueba de la catalasa para *Mycobacterium* sp.
- 5.- Reportar los hallazgos microscópicos.
- 6.- Reportar la morfología colonial del crecimiento en los medios de cultivo.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>35 / 107</b>

### TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN

- 1.- Preparar un frotis con la muestra (material orgánico con Mycobacterias).
- 2.- Cubrir el frotis con fucsina fenicada.
- 3.- Calentar hasta emisión de vapores durante 5 minutos (el exceso de calor destruye a los microorganismos). Colocar el portaobjetos sobre la malla de alambre moviendo el mechero de Bunsen acercando o alejando la flama, según requiera calor para emisión de vapores. Puede también calentarse el frotis, colocando un vaso de precipitado con agua (que hierve) sobre la malla de alambre y sobre el vaso el frotis.
- 4.- Lavar con agua corriente para eliminar el exceso de colorante.
- 5.- Decolorar con alcohol ácido, hasta que las capas finas de colorante adherido al portaobjetos se vuelvan casi incoloras, 30 segundos aproximadamente.
- 6.- Lavar con agua corriente para eliminar y neutralizar la acción del alcohol ácido.
- 7.- Agregar Azul de metileno por un periodo de 30 segundos. 8.- Lavar con agua.
- 9.- Secar al aire a temperatura ambiente o con calor suave en la flama del mechero de Bunsen.

#### Interpretación

Las Mycobacterias se observan en forma de bastones ligeramente curvos de color rojo en un fondo azul marino.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>36 / 107</b>

## CUESTIONARIO

- 1.- Describa las características morfológicas del género *Mycobacterium* complejo tuberculosis.
- 2.- Mencione dos medios de cultivo así como su contenido, para el aislamiento del Género *Mycobacterium* complejo tuberculosis.
- 3.- Describa una técnica para la toma de la muestra bronquial.
- 4.- Describa la técnica de tinción de Ziehl Neelsen.
- 5.- Describa el fundamento de las tinciones fluorescentes.

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	37 / 107

## 10- OBSERVACIÓN DE PREPARACIÓN DE PLASMODIUM

EVANGELINA LOPEZ NIETO

### OBJETIVOS:

Conocer los diferentes estadios del género Plasmodium, a través de preparaciones fijas.

Estudiar los elementos importantes para el diagnóstico de paludismo.

### ANTECEDENTES

El paludismo es la enfermedad parasitaria más importante en el mundo y, con excepción de la tuberculosis, es la que más decesos provoca cada año. El microorganismo que produce el paludismo es un protozoo del género Plasmodium perteneciente al phylum Apicomplexa. La característica que lo distingue es la compleja disposición de estructuras apicales conocidas como roptrias y micronemas, las cuales participan en la entrada del parásito a su célula blanco y desaparecen en las etapas que no son invasivas.

Hasta la fecha se conocen más de 100 especies de Plasmodium que infectan a mamíferos, aves y réptiles.

### Ciclo biológico

El paludismo, enfermedad que afecta al hombre, se debe a cuatro especies del género Plasmodium: *P. vivax*, *P. malarie*, *P. ovale* y *P. falciparum*, esta última causante de las formas más graves de la enfermedad. Este parásito tiene un ciclo de vida complejo que alterna entre dos huéspedes: un vertebrado (hombre), donde se observan dos tipos de ciclos asexuales; y un mosquito (hembra, del género *Anopheles*), en donde se lleva cabo el ciclo sexual. Tras la picadura de un individuo infectado con Plasmodium se continúa su desarrollo en el intestino y glándulas salivales del mosquito, hasta que se preparan para infectar al siguiente huésped. El paludismo también se puede transmitir por medio de transfusiones de sangre y jeringas infectadas.

### Manifestaciones clínicas

Las infecciones por Plasmodium pueden inducir desde parasitemias asintomáticas hasta enfermedades con resultados fatales, vinculada a *P. falciparum*. Las manifestaciones clínicas de paludismo son los síntomas típicos de un resfriado, acompañados de fiebre y escalofrío que ocurren cada 48 horas.

Esto ocurre como consecuencia de una lisis de los eritrocitos infectados al final del ciclo eritrocítico. Entre las complicaciones mayores de la enfermedad se encuentran anemia grave, paludismo cerebral, complicaciones metabólicas, insuficiencia renal, edema pulmonar y paludismo maternal.

### Diagnóstico



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>38 / 107</b>

La forma más utilizada para el diagnóstico del paludismo es la técnica del frotis de sangre, teñido con Giemsa y se observa al microscopio. Mediante el análisis morfológico de los parásitos presentes en las muestras se puede diagnosticar la especie.

Para mejorar la detección del parásito en un frotis se añaden colorantes fluorescentes como el naranja de acridina y la purina de benzocarboxilo, que tienen afinidad por los ácidos nucleicos. Otras técnicas utilizadas recientemente son la reacción en cadena de la polimerasa, tira reactiva (Dipstick), inmunocromatografías ICT-Malaria, OptiMAL y Determine. Estos métodos son muy efectivos sólo para Plasmodium falciparum.

#### MATERIAL

- Preparaciones fijas de Plasmodium ssp
- Papel seda

#### Equipo

- Microscopio óptico

#### Reactivos

- Aceite de inmersión

#### Servicios

- Luz

#### PROCEDIMIENTO

- Observar al microscopio las preparaciones en los objetivos 10, 40 y 100X (inmersión).

#### RESULTADOS

- Hacer descripción morfológica de lo observado.
- Realizar esquemas para su reporte.

#### CUESTIONARIO

- ¿Cuáles son las características generales del agente causal?
- ¿Cómo es su ciclo biológico?
- ¿Cuáles son las principales manifestaciones clínicas de la enfermedad?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>39 / 107</b>

- ¿Cuál es la especie de parásito que produce las formas más graves de paludismo y por qué?
- ¿Cuál es el medicamento suministrado para eliminar las formas hepáticas de *P. vivax* y *P. ovale*?
- ¿Qué medidas profilácticas podrían aplicarse en México para eliminar los casos de paludismo?

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Becerril, MA. (2008). Parasitología Médica. 2a. ed. Ed. McGrawHill.
- Mims, CA; Playfair, JHL; Roitt, IM; Wakelin, D; William, SR. (1999). Microbiología Médica. 2a. ed. Ed. Harcourt Brace/Mosby.
- Murray, PR; Drew, WL; Kobayashi, GS; Thompson, JH. (2007). Microbiología Médica. 5a. ed. Ed. ELSERVIER SCIENCE/Mosby.
- Prats, G. (2013). Microbiología y Parasitología Médicas. Ed. Médica Panamericana. México.
- Romero Cabello, R. (2007). Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª. ed. Ed. Médica Panamericana.
- Tortora, GJ; Funke, BR; Case, CL. (2007). Introducción a la Microbiología. 9ª. ed. Ed. Médica Panamericana. México.
- Brooks, Butel, Omston. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 19ª. ed. Ed. Manual Moderno. 2007
- Tay, Lara, Velasco, Gutiérrez. Parasitología Médica. 6ª. ed. Ed. Méndez editores. 1996
- Bonifaz, A. (2010). Micología Médica Básica. 3ª. ed. Ed. Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>40 / 107</b>

## 11- OBSERVACIÓN DE PREPARACIÓN DE TRIPANOSOMA

EVANGELINA LOPEZ NIETO

### OBJETIVO

1. Identificar microscópicamente los diferentes estadios de Trypanosoma cruzi mediante la observación al microscopio de preparaciones fijas.

### ANTECEDENTES

La enfermedad conocida como tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, constituye un gran problema de salud en casi todo el continente americano, en donde existen de 16 a 18 millones de personas infectadas, se estima que alrededor de 100 millones están en riesgo de contraer la afección.

Carlos Chagas aisló por primera vez el agente causal en un paciente humano y en 1909 describió el cuadro clínico del trastorno, denominado en su honor como enfermedad de Chagas.

En México existen varios centros de investigación que siguen detectando casos humanos de la enfermedad, así como reservorios infectados y transmisión por transfusiones sanguíneas. Se considera como probable área endémica todo territorio que se encuentre entre cero y 1800 metros sobre el nivel del mar, es decir, que más de las tres cuartas partes del territorio nacional son endémicas.

El Trypanosoma cruzi, agente causal de la enfermedad, es un protozoo flagelado de la clase Zoomastigophora. Posee un ciclo complejo que incluye tres fases morfológicas comprendidas en dos huéspedes: el vector invertebrado y el huésped mamífero. Entre los estadios básicos se definen otros intermedios que aumentan la complejidad del ciclo. Los estadios se definen por su forma y disposición del cinetoplasto respecto del núcleo y la región por donde emerge el flagelo: promastigote, epimastigote, amastigote y tripomastigote (metacíclico o sanguíneo).

### Ciclo biológico

El ciclo biológico del parásito se inicia cuando el triatomino se alimenta de la sangre de un mamífero infectado que contiene tripomastigotes sanguíneos; éstas se transforman y se



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>41 / 107</b>

multiplican. Cuando el vector infectado se alimenta, puede ingerir varias veces su peso corporal en sangre y defecarla en la piel o mucosas del mamífero, de esta manera arrastra su excremento e introduce tripomastigotes metacíclicos infectantes.

También es posible que el mismo huésped se infecte al llevar las deyecciones a una solución de continuidad en la piel, mucosa o conjunto ocular. Luego, se transforman en amastigotes, se multiplican por fisión binaria y alcanzan la circulación sanguínea causando la muerte celular. El ciclo se completa cuando el triatomino se alimenta de un mamífero infectado. La transmisión de la enfermedad puede ocurrir por transfusión sanguínea, congénita o trasplantes.

#### Cuadro clínico

Durante la fase aguda se puede presentar chagoma de inoculación, caracterizado por un proceso inflamatorio agudo localizado en el sitio de la infección, y que produce una induración dolorosa y eritematosa o edema unilateral biparpebral con adenitis retroauricular, que se conoce como signo de Romaña. También se presenta malestar general, fiebre continua e intermitente, linfadenitis generalizada, dolores musculares, escalofrío, hepatoesplenomegalia y esplenomegalia, astenia y adinamia. La enfermedad puede evolucionar a una fase subclínica, donde empeoran los síntomas, o a una fase crónica.

#### Diagnóstico

Las técnicas se basan en la utilización de una muestra de sangre (frotis). También se puede realizar inoculación de sangre del paciente en animales de experimentación, en medios de cultivo como NNN y LIT, y el xenodiagnóstico.

Para las fases subclínica o crónica se pueden aplicar hemaglutinación indirecta, ELISA, inmunofluorescencia y Western blot.

#### MATERIAL

- Preparaciones fijas de tripanosomas
- Papel seda

#### Equipo

- Microscopio óptico

#### Reactivos

- Aceite de inmersión

#### PROCEDIMIENTO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>42 / 107</b>

Observar al microscopio las preparaciones fijas de en los objetivos 10, 40 y 100X (inmersión).

#### RESULTADOS

- Hacer descripción morfológica de lo observado.
- Realizar esquemas para su reporte.

#### CUESTIONARIO

- ¿Cuál es la fase replicativa extracelular de Trypanosoma cruzi?
- ¿Cuál es el ciclo completo de Trypanosoma cruzi?
- ¿Cuáles son los mecanismos de patogenicidad en las infecciones por T. cruzi?
- ¿Quién es el transmisor en la enfermedad de Chagas?
- ¿Cuál es el fundamento del xenodiagnóstico?
- ¿Cuáles son las características morfológicas de los estadios básicos por los que atraviesa el parásito?
- 

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Becerril, MA. (2008). Parasitología Médica. 2a. ed. Ed. McGrawHill.
- Mims, CA; Playfair, JHL; Roitt, IM; Wakelin, D; William, SR. (1999). Microbiología Médica. 2a. ed. Ed. Harcourt Brace/Mosby.
- Murray, PR; Drew, WL; Kobayashi, GS; Thompson, JH. (2007). Microbiología Médica. 5a. ed. Ed. ELSEVIER SCIENCE/Mosby.
- Prats, G. (2013). Microbiología y Parasitología Médicas. Ed. Médica Panamericana. México.
- Romero Cabello, R. (2007). Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª. ed. Ed. Médica Panamericana.
- Tortora, GJ; Funke, BR; Case, CL. (2007). Introducción a la Microbiología. 9ª. ed. Ed. Médica Panamericana. México.
- Brooks, Butel, Omston. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 19ª. ed. Ed. Manual Moderno. 2007
- Tay, Lara, Velasco, Gutiérrez. Parasitología Médica. 6ª. ed. Ed. Méndez editores. 1996
- Bonifaz, A. (2010). Micología Médica Básica. 3ª. ed. Ed. Mc. Graw Hill



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>43 / 107</b>

## 12- HEMOCULTIVO

EVANGELINA LOPEZ NIETO

### OBJETIVOS:

1. Conocer y realizar la técnica aséptica para la toma de muestra.
2. Realizar la técnica de hemocultivo.
3. Aprender a interpretar hemocultivos positivos y negativos.

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Las bacteriemias y fungemias se diagnostican por hemocultivo, que consiste en el cultivo de una muestra de sangre en medios adecuados para recuperar las bacterias y los hongos que son capaces de crecer en medios artificiales.

Para realizar un hemocultivo en un adulto se extrae al paciente entre 10 y 20 ml de sangre. La extracción de sangre debe hacerse mediante una técnica rigurosamente aséptica para evitar contaminaciones.

Es recomendable practicar dos o tres hemocultivos mediante extracciones separadas y de puntos de venopunción diferentes. El intervalo depende de la enfermedad que se sospeche y la evolución de la enfermedad. En niños la cantidad de sangre a sembrar es entre 1 y 5 ml. Un volumen insuficiente de sangre es causa de hemocultivo negativo.

La realización de varios hemocultivos permite la confirmación de una sepsis y descartar una contaminación por microorganismos de la flora normal de la piel.

### Técnica

Cabe destacar el sistema bifásico de Ruíz-Castañeda consistente en frascos que tienen en su interior dos fases, una sólida de agar adosada a la pared y otra líquida. Este sistema se ideó para el diagnóstico de la brucelosis ya que la bacteria responsable de esta infección es de crecimiento lento y tiene una elevada virulencia. Con este sistema puede observarse el crecimiento en el medio sólido sin necesidad de abrir el frasco con lo que se evita tanto el riesgo de contaminar el medio como contraer esta infección en el laboratorio.

### Seguimiento

Una vez inoculados los frascos se incuban a 37°C durante siete a diez días con lectura diaria. Se debe detectar enturbiamiento, hemólisis, gas o presencia de colonias en el medio de Castañeda.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>44 / 107</b>

Cuando se detecta un hemocultivo positivo se practica una tinción de Gram y posteriormente se resiembra. Para su posterior aislamiento e identificación. En los hemocultivos visualmente negativos se recomienda un subcultivo transcurridas las primeras 48 horas antes de desecharlos.

## MATERIALES

1. Un Frasco de Medio Ruíz Castañeda
2. Una jeringa estéril de 5 ml
3. Una ligadura
4. Torundas con alcohol al 70%
5. Mechero

## EQUIPO

Recipiente para desechar agujas  
Contenedor de material contaminado con sangre

## SERVICIOS

Gas

## PROCEDIMIENTO

Trabajar siempre con guantes desechables

- Colocar la banda elástica en el brazo por encima de la flexura del codo, elegir la vena a puncionar.
- Limpiar la zona con alcohol isopropílico o etílico al 70% y dejar actuar por 30 segundos.
- Extraer mediante jeringa estéril 3 ml de sangre. Trabajar junto al mechero.
- Introducir la sangre en el frasco del medio Ruíz-Castañeda.
- Agitar suavemente por unos segundos. Mantener el frasco en posición horizontal durante 30 minutos para permitir que la sangre haga contacto con la fase sólida.
- Cambiar a la posición vertical e incubar a 37°C.
- Observar cada 24 horas y registrar observaciones.
- Guardar el medio Ruíz-Castañeda para la resiembra.

## RESULTADOS

Los frascos se revisan diariamente y se registran las observaciones: crecimiento de colonias en el medio sólido, turbidez o hemólisis en el medio líquido. La presencia de gas se detectará hasta realizar la resiembra (próxima sesión).



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>45 / 107</b>

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para interpretar correctamente un hemocultivo positivo es necesario conocer la situación clínica del paciente, su enfermedad base, la presencia de factores predisponentes, así como el tratamiento antimicrobiano previo recibido. La valoración viene facilitada no solo por la clínica del paciente sino también por el número de hemocultivos positivos al mismo microorganismo.

## CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la definición de los siguientes conceptos: bacteriemia, septicemia, fungemia y piemia?
2. ¿Qué microorganismos se pueden aislar a partir de una hemocultivo?
3. ¿Qué enfermedades se pueden diagnosticar?
4. ¿Cuál es la composición química del medio Ruíz-Castañeda?
5. ¿Qué microorganismos se pueden considerar contaminantes?
6. ¿En qué situaciones se manda realizar un hemocultivo?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	46 / 107

## 13-RESIEMBRA EN MEDIOS SELECTIVOS

Claudia Martínez Carrera

### OBJETIVOS:

1. Reconocer los medios de cultivo usados frecuentemente para aislar microorganismos a partir de un hemocultivo, así como sus principales características.
2. Aprender a seleccionar medios de cultivo adecuados, a partir del conocimiento previo de las características de los posibles microorganismos a identificar.
3. Comprender el uso de los medios de cultivo como herramientas en la identificación de "GÉNERO" dentro de una marcha de identificación de microorganismos.

### FUNDAMENTO TEORICO

Debido a que los microorganismos presentes en sangre circulante, ya sea en forma continua, intermitente o transitoria, representan una amenaza para cada órgano del cuerpo y pueden llegar a traducirse en consecuencias graves como shock, insuficiencia de múltiples órganos, coagulación intravascular diseminada y muerte; es muy importante el correcto aislamiento e identificación de los microorganismos que llegan a desarrollar en un hemocultivo, del cual es posible aislar patógenos pertenecientes a los cuatro grupos principales de microorganismo – bacterias, hongos, parásitos y virus-.

Por motivo de lo anteriormente mencionado, los frascos de hemocultivo deben examinarse de manera visual por lo menos una vez por día en búsqueda de cualquier indicativo de crecimiento como puede ser la hemólisis de los eritrocitos, la presencia de burbujas de gas en el medio, turbidez o la aparición de pequeñas acumulaciones de desarrollo bacteriano o micótico en el caldo, sobre la superficie de la capa de eritrocitos sedimentados o, algunas veces a lo largo de las paredes del frasco. En caso de desarrollo o de la existencia de evidencias sugerentes del mismo, es necesario proceder a realizar tinción de Gram para iniciar la identificación.

Si no se observa microorganismo alguno en el examen microscópico de un frasco aparentemente "positivo", la resiembra debe efectuarse de todas maneras.

Como se mencionó anteriormente, es posible aislar patógenos pertenecientes a los cuatro grupos principales de microorganismos (bacterias, hongos, parásitos y virus), de ahí que los medios seleccionados para la resiembra deban incluir medios para grampositivos, gramnegativos, hongos y levaduras. Cabe destacar que la elección de cada medio puede ser orientada mediante el conocimiento previo de cuáles son los microorganismos aislados con mayor frecuencia. De este modo, una posible elección básica puede incluir medios como Agar Sangre al 5%, Agar Chocolate, Agar S 110, Agar Sal Manitol, Agar EMB o Agar Mac Conkey, Agar Sabouraud y Agar BIGGY.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>47 / 107</b>

También es recomendable incluir medios especiales para microorganismos aislados frecuentemente pero que tienen diferentes exigencias nutricionales, requieren de condiciones especiales para su desarrollo o sencillamente necesitan mayor tiempo de vigilancia porque su crecimiento es lento. Un ejemplo es *Brucella* que debe incubarse en un ambiente de 37°C con 10% de CO<sub>2</sub> por lo menos tres semanas, realizando subcultivos a los 4 días y después una vez por semana.

Cabe destacar que en la práctica, el médico juega un papel importante en la notificación al laboratorio de algunos datos, hallazgos clínicos o "posibles sospechas" que puedan apoyar la elección de algún medio especial.

Bacterias aisladas frecuentemente en hemocultivos
Estafilococos coagulasa negativos
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Streptococcus viridans</i>
Algunas especies de Enterococos
<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
Bacterias entéricas como <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonellas</i> y <i>Brucellas</i>
<i>Pseudomona aeruginosa</i>

## MATERIALES Y REACTIVOS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>48 / 107</b>

4. Medio Ruiz Castañeda de la sesión anterior.
5. 1 caja agar sangre.
6. 1 caja agar chocolate.
7. 1 caja agar S 110.
8. 1 caja agar EMB o Mac Conkey.
9. Asa bacteriológica.
10. Mechero de Bunsen.
11. Colorantes para tinción de Gram.
12. Portaobjetos.
13. Papel seda.
14. Aceite de inmersión.

#### EQUIPO

- Microscopio

#### SERVICIOS

- Agua
- Gas
- Electricidad.

#### PROCEDIMIENTO

- Con ayuda del asa bacteriológica, tomar inculo tanto del medio líquido como del sólido (es importante observar la posible aparición de pequeñas acumulaciones de desarrollo bacteriano o micótico en el caldo, sobre la superficie de la capa de eritrocitos sedimentados o, algunas veces a lo largo de las paredes del frasco) y sembrar por estría cruzada en cada uno de los medios.
- Tomar nuevamente muestra procedente del medio Ruiz Castañeda y realizar tinción de Gram.
- Incubar las placas de agar a 37°C por 24 horas. Observar y reportar morfología colonial.
- Etiquetar y guardar las placas en refrigeración para usarlas en la siguiente práctica.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>49 / 107</b>

## RESULTADOS

Medio de cultivo	Aspectos de la morfología colonial	Resultados
AS	Tipo de hemólisis	
	Tamaño	
	Borde (redondeado, ondulado, espiculado, etc.)	
	Color	
	Aspecto (mate o brillante)	
	Elevación (cóncavo o convexo)	
	Mucoide (si o no)	
	Otras características	
ACh	Tamaño	
	Borde (redondeado, ondulado, espiculado, etc.)	
	Color	
	Aspecto (mate o brillante)	
	Elevación (cóncavo o convexo)	
	Mucoide (si o no)	
	Otras características	
S110	Tamaño	
	Borde (redondeado, ondulado, espiculado, etc.)	
	Color	
	Aspecto (mate o brillante)	
	Elevación (cóncavo o convexo)	



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>50 / 107</b>

	Mucoide (si o no)	
	Otras características	
EMB o Mac Conkey	Tamaño	
	Borde (redondeado, ondulado, espiculado, etc.)	
	Color	
	Aspecto (mate o brillante)	
	Elevación (cóncavo o convexo)	
	Mucoide (si o no)	
	Otras características	

#### ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se espera que al finalizar la práctica el alumno reconozca los medios usados frecuentemente en los subcultivos del hemocultivo así como sus principales características y los principales microorganismos que pueden crecer en ellos. Así también se espera que asocie el uso de LOS MEDIOS DE CULTIVO COMO HERRAMIENTAS EN LA IDENTIFICACIÓN GENEROS dentro de lo que se conoce como marcha de identificación de microorganismos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Forbes B. A. (2009). Bailey & Scott's diagnóstico microbiológico. Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Koneman, E. W. (2008). Koneman diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color. Argentina: Médica Panamericana.

#### OBSERVACIONES

El agar sangre puede ser "picado" en las zonas de inoculación con asa recta sin llegar al fondo de la placa para permitir la mejor visualización de hemólisis, esto debido a la existencia de hemolisinas lábiles y resistentes al oxígeno.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>51 / 107</b>

## 14-IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS POR PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Claudia Martínez Carrera

### OBJETIVOS:

- Reconocer a las pruebas bioquímicas como herramientas en la identificación de especie, comprendiendo y diferenciando sus fundamentos, modo de inoculación, interpretación de resultados y tiempo de lectura de los mismos.
- Evidenciar mediante pruebas bioquímicas las características propias de especie que permitan la identificación de los microorganismos obtenidos en los cultivos selectivos realizados a partir del hemocultivo.

### FUNDAMENTO TEORICO

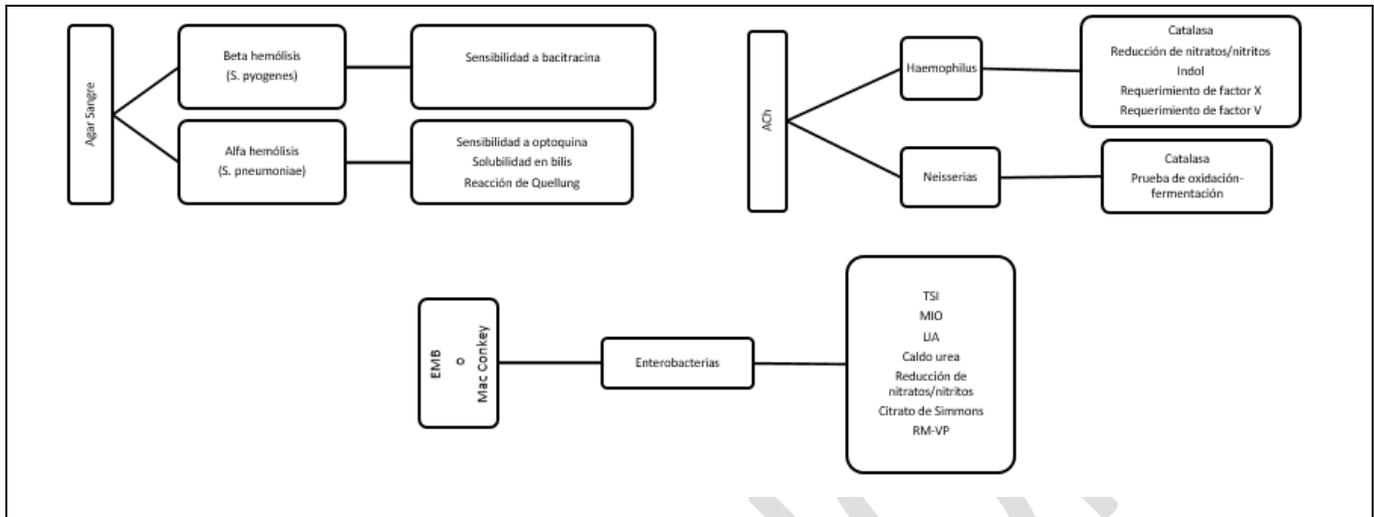
Aunque es posible identificar de forma específica a muchos microorganismos con diversas técnicas, el procedimiento más frecuente que se realiza en los laboratorios diagnósticos es el de identificación a través de cultivos y pruebas bioquímicas, siendo estas últimas la etapa que pone de manifiesto características muy particulares de cada microorganismo, razón por la cual en general se utilizan para confirmación de género como es el caso de pruebas como catalasa (para distinguir estreptococos de estafilococos) o bien identificación de especie .

Debido a que los microorganismos difieren en características metabólicas, producción de enzimas (lecitinasas, coagulasas, etc.), susceptibilidad a ciertas sustancias o fármacos, la elección de las pruebas bioquímicas dependerá del conocimiento previo del tipo de microorganismo que puede cultivarse en cada medio y de sus características.

Ejemplos de pruebas bioquímicas elegidas según el microorganismo en estudio.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>52 / 107</b>



## MATERIALES Y REACTIVOS

- 1 tubo con TSI
- 1 tubo con LIA
- 1 tubo con citrato de Simmons
- 1 tubo con plasma citrato
- 1 tubo con caldo urea
- 1 tubo con MIO
- Peróxido de hidrógeno
- Reactivos para tinción de Gram.
- Mechero
- Asas bacteriológicas
- Portaobjetos

## EQUIPO

- Microscopio
- Centrífuga
- Balanza de dos platos

## SERVICIOS

- Gas
- Agua
- Electricidad

## PROCEDIMIENTO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>53 / 107</b>

- Realizar pruebas de catalasa y coagulasa a partir de colonias del medio S 110.
- Realizar prueba de catalasa y tinción de Gram en caso de crecimiento en agar chocolate.
- En caso de desarrollo en los medios EMB o Mac Conkey proceder a la inoculación de las pruebas TSI, SIM, LIA, MIO, Citrato de Simmons y Caldo Urea.
- Interpretar los resultados a las 24 horas a excepción de TSI que deberá leerse a las 18 horas.
- Reportar género y especie del microorganismo identificado.

#### RESULTADOS

Medio de cultivo	Prueba	Resultados
ACh	Catalasa	
	Tinción de Gram	
S110	Catalasa	
	Coagulasa	
Mac Conkey o EMB	TSI	
	SIM	
	LIA	
	MIO	
	Citrato de Simmons	



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>54 / 107</b>

	Caldo urea	

#### ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se espera que al finalizar la práctica el alumno corrobore la importancia de las pruebas bioquímicas como herramientas valiosas en la identificación de especies de diversos microorganismos, además de comprender sus fundamentos y diferenciar a dichas pruebas de los medios de cultivo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Mac Faddin F. J. (2003). Pruebas bioquímicas para la Identificación de bacterias de importancia médica. Argentina: Panamericana.
- Engleberg N.C. (ed). (2013). Mecanismos de las enfermedades microbianas. España: Wolters Kluwer Health.

#### OBSERVACIONES

En caso de obtener crecimiento en el medio S110 se deberá realizar la prueba de coagulasa y puede solicitarse la prueba rojo de fenol con el carbohidrato manitol.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>55 / 107</b>

## 15-REACCIONES FEBRILES

### OBJETIVOS:

Conocer el método de laboratorio de Reacciones Febriles para el diagnóstico y seguimiento de Fiebre tifoidea y paratifoidea, Brucelosis y Rickettsiosis.

Interpretación de las Reacciones Febriles

Conocer otros métodos de diagnóstico de laboratorio que se utilizan para Fiebre tifoidea y paratifoidea, Brucelosis y Rickettsiosis.

### FUNDAMENTOS TEORICOS O ANTECEDENTES:

Las reacciones febriles representan un conjunto de pruebas de laboratorio serológicas, son reacciones de aglutinación útiles en países en vías desarrollo como México donde se siguen usando por ser pruebas baratas, rápidas y ampliamente conocidas pero con limitaciones por sus reacciones cruzadas con otras bacterias y falsos positivos incluso en proceso autoinmunes o falsos negativos por uso temprano de antibióticos, corticoesteroides, medición temprana de anticuerpos (en la 1ª. Semana de enfermedad), inmunodeficiencias adquiridas o congénitas, portadores crónicos de *Salmonella typhi* y problemas con la estandarización de la prueba; a pesar de lo anterior siguen siendo útiles para el diagnóstico presuntivo y seguimiento de ciertas infecciones con síndrome febril, causadas por *Salmonellas typhi* y *paratyphi*, *Brucellas* y *Rickettsias* (usa antígenos de *Proteus OX19* por su reacción cruzada). Estas reacciones se basan en el hecho de que cuando el organismo humano es invadido por agentes bacterianos estos generan antígenos presentes en el suero del paciente y el huésped responde produciendo anticuerpos aglutinantes contra ellos, los cuales se ponen de manifiesto al entrar en contacto el anticuerpo con el antígeno específico de las bacterias. Para la detección de los anticuerpos se usa el suero del enfermo y antígenos purificados. El título de anticuerpos depende del tipo y curso de la enfermedad. Para que los resultados tengan valor diagnóstico el título de ellos debe aumentar consecutivamente y se requieren 2 muestra tomadas en periodo de 2- 4 semanas de intervalo. Estas pruebas pueden efectuarse de dos maneras diferentes:

1. Aglutinación en placa (como prueba tamiz cuando se tienen que examinar numerosas muestras). Esta prueba es muy fácil de efectuarse y si se hace cuidadosamente, sirve como prueba de aglutinación completa: sin embargo se sugiere que se tome como complemento de la aglutinación macroscópica en tubo. Las reacciones francamente negativas deben ser reportadas como tales. Las dudosas deben repetirse con la aglutinación en tubo.

2. Aglutinación en tubo. Esta técnica de aglutinación es más segura que la de aglutinación en placa, además las reacciones cruzadas son menos frecuentes y pueden ser detectadas las reacciones zonales. Estos son los microorganismos representantes típicos de los padecimientos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>56 / 107</b>

con acceso febril, por lo tanto, el grupo de antígenos febriles se presenta con las siguientes suspensiones:

Salmonella typhi Antígeno somático O

Salmonella typhi Antígeno flagelar H

Salmonella paratyphi Antígeno flagelar A

Salmonella paratyphi Antígeno flagelar B

Brucella abortus Antígeno somático

Proteus OX19 Antígeno somático

Cuatro serotipos de salmonella que causan fiebre entérica se identifican en el laboratorio clínico mediante análisis bioquímico y serológico: Salmonella paratyphi A (serogrupo A) , Salmonella paratyphi B (serogrupo B) ,Salmolla choleraesuis (serogrupo C1) y Salmonella typhi (serogrupo D). Salmonella typhi causa Fiebre Tifoidea, vía oral llegan a células M de intestino delgado, entran a linfáticos donde proliferan en macrófagos, folículos linfáticos de intestino y circulación sanguínea para diseminarse, se excretan por heces y bilis; posterior a 10-14 días de incubación se presenta fiebre elevada, malestar general, cefalea, estreñimiento, mialgias, bradicardia, hepato y esplenomegalia . Salmonella typhi puede causar enterocolitis y septicemia. En Fiebre Tifoidea las aglutininas aumentan de manera brusca en 2da. Y 3ª. Semana de infección y el ensayo de aglutinación de Widal o Reacción de Widal se basa en la detección de anticuerpos en el suero de los pacientes a los antígenos O (LPS)y H(flagelar). Se requieren 2 muestras de suero con intervalo 7-10 días para mostrar elevación del título de anticuerpos. Los criterios de interpretación debido a su falta de especificidad ( pobladores sanos de áreas endémicas presentan títulos ó concentraciones altas de anticuerpos) debe ser interpretado en el contexto clínico del paciente se debe conocer la prevalencia de la enfermedad en el área geográfica, se considera positivo un título contra antígeno O de 1: 320 en zona no endémica y en zona endémica como México antígeno O y H de 1: 160 indica una gran probabilidad de enfermedad activa, mientras tanto los estudios complementarios deberán confirmar el diagnóstico y reorientar el tratamiento. Otros métodos diagnósticos en Fiebre Tifoidea Biometría hemática 1ª semana leucopenia con eosinopenia y infocitosis relativa, hemocultivo finales 1ª y en 2ª semana positivo da un diagnostico definitivo; 2da. Semana cultivo de médula ósea, orina y heces positivos, Pruebas de función hepática con transaminasas elevadas. (1,2,3, 4)

Brucelosis ( Fiebre de malta, fiebre ondulante, Fiebre de Bang o Fiebre del mediterraneo) es una zoonosis causada por género Brucella en el ser humano los mas frecuentes B. mellintensis en 98% y B. abortus en 2 % se transmite por ingesta de leche y derivados no pasteurizados presenta cuadro clínico agudo con síndrome febril e invasión hígado, bazo y ganglios linfáticos y forma



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>57 / 107</b>

crónica. Métodos serológicos para el diagnóstico probable aglutinación positiva con antígeno Rosa de Bengala, confirmación con prueba de aglutinación estándar y en presencia de 2-mercaptoetanol y posibilidad o no a hemocultivo. La reacción de Huddleson dentro de las reacciones febriles aportan sólo un diagnóstico presuntivo con la aglutinación rápida en placa para Brucella, se utiliza una suspensión de Ag de Brucella abortus para buscar anticuerpos. La interpretación en zona endémica títulos de seropositividad de 1: 160 o superiores en fases iniciales de la enfermedad. (2,5, 6,7,8,9)

Las Rickettsiosis son enfermedades como el Grupo de Fiebres manchadas agente Rickettsia rickettsii y Grupo de Fiebres Tíficas agente Rickettsia prowazekii, son consideradas zoonosis transmitida por picadura o contaminación de picadura con heces de vectores como pulgas, garrapatas y piojos estos últimos causan Tifus epidémico. Cuadro clínico sx febril, hepatoesplenomegalia. La reacción de Weil Felix se basa en la capacidad del suero del paciente infectado por Rickettsias para aglutinar cepa de Proteus OX-19 por reacción cruzada, es decir es un antígeno común entre Proteus OX 19 y Rickettsias por lo que es poco sensible y específica y deben realizarse pruebas para un diagnóstico confirmatorio como fijación de complemento, hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia directa e indirecta. (2, 10, 11).

#### Material Y Reactivos:

Ligadura

2 tubos de vidrio 12 x 100

Centrífuga

Pipeta Pasteur

Torundas de algodón

Jeringa de 5 ml.

Reactivo de antígenos febriles (no caducados)

Placa de vidrio

Aplicadores de madera

#### Equipo:

Centrífuga

#### Servicios:

Luz eléctrica



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>58 / 107</b>

**Procedimiento:**

- 1.- Extraer 5 ml. de sangre por punción venosa.
- 2.- Deje que coagule.
- 3.- Centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos.
- 4.- Separar suero con pipeta Pasteur y proceder a realizar la colocación de los volúmenes de suero en las placas de vidrio.

**Técnica de aglutinación rápida en placa.**

- 1.- Utilizar de preferencia una placa de vidrio marcada con 2 hileras de 3 óvalos.
- 2.- Anotar el antígeno que le corresponde a cada serie.
- 3.- Agregar una gota de suero y una gota de antígeno.
- 5.- Mezclar con un aplicador limpio, comenzando con la última dilución de la derecha y siguiendo con las restantes de la izquierda (utilizar un aplicador por cada serie).
- 6.- Agitar suavemente la placa por rotación (120 rpm) durante 2 a 3 minutos.
- 7.- Leer con luz indirecta

**Resultados:**

Método de aglutinación rápida en placa. Lectura con fuente de luz directa se observa aglutinación macroscópica (se recomienda incluir controles positivo y negativo) y se valoran los resultados de forma cualitativa positivo presencia de aglutinación y negativo ausencia y grado aglutinación de la siguiente forma:

Grado de aglutinación 100 % 4+

75 % 3+

50 % 2+

25 % 1+.

Interpretación de resultados de forma cuantitativa si se hicieran las diluciones:

Suero (ml)	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005
Agglutinación	4 +	4 +	3 +	2 +	1+
Título correspondiente:	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>59 / 107</b>

Análisis de resultados: Desde los resultados cualitativos (no se realizan cuantitativos en la práctica)) de acuerdo al porcentaje de aglutinación en correlación con los antígenos colocados en cada ovalo de la placa de vidrio discuta sus resultados en caso de positividad o negatividad, su correlación con presentar o no cuadro clínico, posibilidad de falsos positivos o negativos y resultados por memoria inmunológica, confiabilidad de resultados y alternativas de otras pruebas diagnosticas y secuencia en tiempo para repetir prueba diagnóstica.

Elabore un cuadro con los resultados e interpretación correspondientes:

#### REACCIONES FEBRILES:

ANTIGENOS/Resultado de aglutinación	Positivo	Negativo	Interpretación
Salmonella typhi Antígeno somático O			
Salmonella typhi Antígeno somático H			
Salmonella paratyphi Antígeno flagelar A			
Salmonella paratyphi Antígeno flagelar B			
Brucella abortus Antígeno somático			
Proetus OX19 Antígeno somático			

#### CUESTIONARIO.

- 1.- ¿Cuándo está indicado solicitar realizar Reacciones Febriles?
- 2.- ¿Cuántas técnicas existen para determinación de las reacciones febriles, descríbalas ?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>60 / 107</b>

- 3.- ¿Cuáles son los antígenos detectables en las Reacciones Febriles?
- 4.- ¿Porqué se utiliza el antígeno Proteus OX19 para el diagnóstico de Rickettsiosis?
5. ¿Qué muestras biológicas son de utilidad para el diagnóstico de Fiebre tifoidea, Brucelosis y Rickettsiosis?

#### Referencias bibliográficas:

1. Jawets, Melnick & Adelberg. Microbiología médica. 26ª. ed. México 2014. Ed. Mc Graw-hill Interamericana. 230-240, 757, 776, 796, 798-99.
2. Espinoza RVH. Reacciones febriles. Infectología Pediátrica 2010-2014. En: [http://www.infectologiapediatrica.com/main/page\\_new\\_folder\\_reacciones\\_febriles.html](http://www.infectologiapediatrica.com/main/page_new_folder_reacciones_febriles.html)
3. Calva E. Salmonella typhi y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. En: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap4/>
4. SSA. CENETEC. Guía de Práctica Clínica. Guía de Referencia rápida Diagnóstico y Tratamiento para la Fiebre Tifoidea. Número de Registro: IMSS-259-10 El documento no incluye fecha de publicación. [http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/259\\_GPC\\_FIEBRE\\_TIF OIDEA/Fiebre\\_tifoidea\\_RR\\_CENETEC.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/259_GPC_FIEBRE_TIF OIDEA/Fiebre_tifoidea_RR_CENETEC.pdf)
5. Uribarren BT. UNAM Departamento de Microbiología y Parasitología. Recursos en bacteriología. Salmonelosis. 2015. <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/salmonelosis.htm>
6. SSA. Dirección General de Epidemiología. Subsecretaría de prevención y promoción de la salud. Manual de procedimientos estandarizados psrs la vigilancia epidemiológica de la Brucelosis. México 2012. En: [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig\\_epid\\_manuales/03\\_2012\\_Manual\\_Brucelosis\\_vFinal\\_13nov12.pdf](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig_epid_manuales/03_2012_Manual_Brucelosis_vFinal_13nov12.pdf)
7. Montes I. Control de Calidad EIMC. Servicio de Microbiología. Hospital Virgen del Puerto. Diagnóstico de Brucelosis. El documento no incluye fecha de publicación. <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/diagbruce.pdf>
8. SSA. Dirección General de Epidemiología. Lineamientos para la vigilancia epidemiológica de brucelosis. Laboratorio de brucelosis. ¡Error! Referencia de hipervínculo no válida. [http://www.indre.salud.gob.mx/interior/lab\\_brucelosis.html](http://www.indre.salud.gob.mx/interior/lab_brucelosis.html)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>61 / 107</b>

9. México. San Luis Potosi. Programas sociales. Guía para el Diagnóstico y Tratamiento de Brucelosis. El documento no incluye fecha de publicación. En: <http://www.programassociales.org.mx/sustentos/Veracruz834/archivos/GUIA-PARA-EL-TRATAMIENTO-DE-BRUCÉLOSIS-20.pdf>

10. SSA. Dirección General de Epidemiología. Rickettsiosis una enfermedad olvidada. 2012

<http://www.indre.salud.gob.mx/interior/rickettsiosis.html>

11. Oteo JA, Nava S, De Sousa R, Mattar S, Venzal JM, Abarca K et.al. Guías Latinoamericanas de la RIICER para el diagnóstico de las Rickettsiosis transmitidas por garrapatas. Rev Chilena Infectol 2014; 31(1):54-65. Disponible en:

<http://www.scielo.cl/pdf/rci/v31n1/art09.pdf>

Observaciones: Realizada por Profa. Verónica Torres Caballero

Se actualizo bibliografía, se actualiza marco teórico y se dan propuestas de resultados y análisis de resultados. 28 JUNIO 2016



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	62 / 107

## 16-CULTIVO DE ENTEROBACTERIAS

**OBJETIVOS:** Conocer las principales características morfo-fisiológicas de las enterobacterias patógenas que invaden el tracto digestivo. Realizar el aislamiento en cuatro de los principales medios de cultivo selectivos y diferenciales para enterobacterias.

### INTRODUCCIÓN

La familia Enterobacteriaceae está formada por bacilos gramnegativos aerobios y anaerobios facultativos que fermentan la glucosa, son oxidasa negativa y crecen en medios usuales. Habitan como comensales en el tubo digestivo (flora normal) como *Escherichia* y *Proteus*. Algunas especies son patógenas, como algunos serotipos de *Salmonella* entérica y *Shigella* que causan gastroenteritis, y los serotipos Typhi y Paratyphi A, B y C, que causan sepsis. Habitualmente, las enterobacterias se identifican a nivel de especie mediante un mínimo de 10 a 20 pruebas metabólicas.

#### *Escherichia coli*

Es la enterobacteria más estudiada. Es móvil, fermenta la lactosa a partir del triptófano. Los principales serotipos de *Escherichia coli* son: entero-toxigénica, entero-patógena, entero-hemorrágica, entero-invasiva y entero-agregativa. Algunas pueden producir enfermedades graves causadas por diarrea, en otros casos causa insuficiencia renal. También pueden generar infecciones del sistema excretor, cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y hasta la muerte..

#### *Proteus*

Es un género que incluye patógenos responsables de infecciones de vías urinarias, existen especies oportunistas para el hombre como *Proteus vulgaris* y *Proteus mirabilis*. Generan cálculos y lesiones celulares del epitelio renal, enteritis principalmente en niños; abscesos hepáticos, meningitis, otitis media y neumonía con o sin empiema. Es frecuente en quemaduras y heridas, así como en infecciones nosocomiales.

#### *Salmonella*

Existen más de 2000 serotipos de esta especie. En el grupo D se encuentra *Salmonella typhi*, causante de la fiebre tifoidea. Esta enfermedad se caracteriza por fiebre progresiva asociada a estreñimiento o diarrea profusa.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>63 / 107</b>

## Shigella

Shigella es responsable de la disentería bacilar, es un cuadro muy parecido al generado por cepas enterohemorrágicas o enteroinvasivas. La infección se produce a través de vegetales contaminados.

## MATERIAL

Asa bacteriológica 10. Mechero  
2 cajas de Agar Salmonella-Shigella (SS)  
2 cajas de Agar Sulfito y Bismuto  
2 cajas de Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)  
2 cajas de Agar Verde Brillante 15. Juego de colorantes Gram 16. Microscopio óptico  
Porta y cubreobjetos 18. Papel seda  
Cepas  
Cepa de Salmonella sp  
Cepa de Shigella sp  
Cepa de Proteus  
Cepa de Escherichia coli

## PROCEDIMIENTO

De cada una de las cepas hacer tinción de Gram.  
Observar al microscopio y reportar morfología y tipo de Gram.  
Dividir las cajas de medios de cultivo y sembrar por estría simple de aislamiento las diferentes cepas.  
Incubar durante 48 horas a 37 °C.  
Reportar morfología colonial  
Guardar los medios de cultivo en refrigeración para realizar pruebas bioquímicas.

## CUESTIONARIO

¿Cuáles son los principales medios de cultivo diferenciales y selectivos para enterobacterias?  
¿Cuál es el componente que caracteriza a cada uno de los medios de cultivo utilizados en la práctica?  
¿Cuáles son los principales factores de patogenicidad de las enterobacterias estudiadas en la práctica?  
¿Por qué razones Escherichia coli se vuelve patógena en el tracto digestivo?  
¿Cuál es la morfología colonial de Shigella, Salmonella, Escherichia y Proteus?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>64 / 107</b>

## 17- COPROCULTIVO

OBJETIVO: Efectuar la técnica de coprocultivo y conocer su importancia médica.

### INTRODUCCIÓN

El coprocultivo se utiliza para el aislamiento de las bacterias enteropatógenas. Los medios de cultivo utilizados son medios selectivos y de enriquecimiento que permiten el crecimiento de las bacterias que se desea aislar inhibiendo el resto de la flora.

La mayoría de las enteritis bacterianas son causadas por salmonelas y campilobacter, por lo que deben emplearse medios de cultivo selectivos. Los más comunes son el agar MacConkey, el agar xilosa-lisina-deoxicolato y el agar Salmonela-Shigela también son útiles para Escherichia coli enteropatógena, Shigela y Yersinia.

Las salmonelas pueden enriquecerse sembrando previamente las heces en un medio líquido como el caldo selenito F y el caldo de tetrionato de sodio incubados a 35°C (8-12 horas). Después de incubados, estos medios líquidos de enriquecimiento deben sembrarse en los respectivos medios selectivos sólidos.

A pesar del empleo de los medios de enriquecimiento y selectivo- diferenciales para enterobacterias enteropatógenas, siempre crecen en las placas de aislamiento una mezcla heterogénea de colonias; por tanto, las colonias sospechosas deben sembrarse en medios de identificación rápida como el agar Kligler (KIA) y el agar lisina hierro (LIA) que permiten identificar estos microorganismos.

### MATERIAL

- Muestra de heces en un frasco estéril
- 1 tubo de caldo de Tetrionato
- 1 tubo de caldo Selenito
- 1 caja de medio EMB
- 1 caja de medio SS (Salmonella-Shigella)
- 1 caja de medio Sulfito y Bismuto
- Asa bacteriológica
- Mechero
- 2 hisopos estériles

### PROCEDIMIENTO

Tomar una muestra de heces con el hisopo estéril y colocarlo en el medio de Tetrionato.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>65 / 107</b>

Tomar otra muestra y colocarla en el medio de Selenito.

Incubar durante 24 horas a 37°C, previo a la práctica.

Dividir las cajas de medio de cultivo en dos.

Descargar la muestra de heces con el hisopo, en un extremo de la caja del medio de cultivo, a partir del medio Tetrionato.

Descargar la muestra de heces con el hisopo, en el otro extremo de la caja del medio de cultivo, a partir del medio Selenito.

Quemar los hisopos.

Sembrar con el asa bacteriológica, por estría de aislamiento simple, en ambas secciones del medio de cultivo.

Seguir el mismo procedimiento para cada uno de los medios de cultivo.

Incubar durante 24 a 48 horas a 37°C.

Leer morfología colonial.

#### CUESTIONARIO

¿Cuál es el objetivo de utilizar los medios de Tetrionato y Selenito para realizar el coprocultivo?

¿Por qué se pide la muestra en un frasco estéril?

¿Cuáles son las principales infecciones intestinales y cuál es el agente causal?

¿De qué otra manera se podría hacer el diagnóstico de infección por Salmonella?

¿Cuáles son las principales enterotoxinas que causan problemas a nivel intestinal? ¿Cuál es su mecanismo de acción? y ¿Quién las produce?.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>66 / 107</b>

## 18- IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS A PARTIR DEL COPROCULTIVO

**OBJETIVO:** Distinguir las características bioquímicas esenciales para la identificación de las enterobacterias cultivadas a partir del coprocultivo.

### INTRODUCCIÓN

La familia de las enterobacterias son bacilos gramnegativos y se denominan así por que habitan en el tracto intestinal. Casi todas las enterobacterias son fermentadoras de la glucosa y de otros hidratos de carbono. Dada su importancia clínica hay muchas técnicas para aislarlas e identificarlas.

La utilización de pruebas bioquímicas sencillas realizadas con medios y métodos convencionales preparados en el laboratorio y de calidad, ayudan a la identificación de las bacterias aisladas con mayor frecuencia del tracto digestivo.

Algunas de las características metabólicas fundamentales que se pueden observar son la movilidad, la fermentación de azúcares, la producción de ácido sulfhídrico, la presencia de ureasa, la descarboxilación y la desaminación de la lisina, ornitina y arginina, la producción de indol y la utilización del citrato. Estas se harán evidentes con los medios TSI, LIA, citrato de Simmons, caldo Úrea, SIM y cal manitol rojo de fenol.

El principal objetivo es identificar el agente causal de la infección en el tracto digestivo, descartando aquellas bacterias propias de la flora normal. Esto se llevará a cabo mediante la siembra en medios de identificación convencionales.

La existencia en el mercado de paneles miniaturizados para los estudios de las pruebas metabólicas ha significado un adelanto para la identificación bacteriana. Estas pruebas son procesadas por instrumentos que efectúan la inoculación, la incubación y la lectura de modo automatizado, evaluando los resultados una computadora que efectúa la identificación.

### MATERIAL

Asa bacteriológica

Mechero

Cajas de medios de cultivo de la práctica anterior

2 tubos de agar TSI

2 tubos de agar LIA

2 tubos de agar Citrato de Simmons

2 tubos de medio de SIM



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>67 / 107</b>

2 tubos de caldo Urea

2 tubos de caldo Manitol rojo de fenol

#### PROCEDIMIENTO

De una colonia aislada de Salmonella, tomar una muestra y sembrar por agitación en los medios: caldo Urea y caldo Manitol rojo de fenol.

Tomar otra muestra de Salmonella y por picadura, sembrar en el medio de SIM.

Tomar otra muestra de Salmonella y sembrar, por estría simple y picadura, en los medios: agar TSI, agar LIA y agar Citrato de Simmons.

Seguir el mismo procedimiento para sembrar las pruebas bioquímicas de los medios de cultivo de Proteus, Shigella y Escherichia coli.

Incubar durante 24 a 48 horas a 37°C.

Leer movilidad, producción de ácido sulfhídrico y producción de indol (adicionar el reactivo de Kovac o Erlich) en el medio de SIM.

Leer si las pruebas fueron positivas o negativas, para cada bacteria, y elaborar un cuadro de resultados.

#### CUESTIONARIO

¿Cuál es el fundamento bioquímico de los medios TSI, SIM, LIA, caldo Urea, citrato de Simmons y caldo manitol rojo de fenol?

¿Cómo se interpretan los resultados en cada uno de los medios?

¿Cuál es la finalidad de utilizar el reactivo de Kovac o Erlich?

¿Cuál es la utilidad de realizar pruebas bioquímicas?

¿De qué depende la confiabilidad de los resultados?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>68 / 107</b>

## 19-COPROPARASITOSCÓPICOS POR CONCENTRACIÓN (CUALITATIVOS)

**OBJETIVOS:** Realizar un estudio coproparasitoscópico cualitativo para el diagnóstico de parasitosis. Conocer los diferentes tipos de análisis coproparasitoscópicos que se realizan.

### INTRODUCCIÓN

El examen coproparasitoscópico es el estudio de la materia fecal para la búsqueda e identificación de formas parasitarias con fines diagnósticos

El examen directo de las heces frescas o fijadas es muchas veces insuficiente para la observación de protozoos y particularmente de huevos de helmintos, sobre todo cuando se hallan en número escaso. Por ello se recurre normalmente a métodos de concentración. Las técnicas de concentración se pueden clasificar en dos grandes grupos: métodos físicos y físico-químicos (difásicos).

Los métodos físicos se basan únicamente en la diferencia de densidad entre los elementos parasitarios y el resto de materiales contenidos en las heces. A grandes rasgos, estos métodos consisten en mezclar una porción de heces con un líquido de densidad adecuada, de tal manera que los elementos parasitarios se separen del resto de los materiales, bien por flotación, bien por sedimentación, según la técnica. Entre los más utilizados está el método de flotación que emplea sulfato de zinc (técnica de Faust).

En los métodos físico-químicos se asocia la acción disolvente de los reactivos empleados, que forman dos fases no miscibles, en una de las cuales se localizan preferentemente los parásitos, y en la otra los restos fecales. De entre ellos, el más universal es el método formol-éter (técnica de Ritchie), que puede utilizarse tanto en heces frescas como fijadas en formol. Básicamente se trata de diluir las heces directamente en formol al 10%, tamizar y agregar unos mililitros de éter etílico, emulsionar por agitación vigorosa y examinar, tras centrifugación, el sedimento donde se concentran los quistes de protozoos y los huevos de helminto.

Para las heces fijadas con MIF se puede utilizar la técnica de concentración de Blagg (MIF concentración). Es muy parecida a la técnica de Ritchie, y su principal diferencia radica en que, en lugar de éter etílico, se utiliza éter sulfúrico.

### MATERIAL

Vaso de precipitado de 50 mL



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>69 / 107</b>

Tubos de 13x100 con tapón (4)

Embudo de plástico

Pipetas Pasteur (2)

Varilla de vidrio

Abatelenguas

Gasas

Asa bacteriológica

Porta y cubreobjetos

#### EQUIPO

Centrífuga

Microscopio

#### REACTIVOS

Lugol

Solución de ZnSO<sub>4</sub>

Éter sulfúrico

Solución de formalina

Solución salina isotónica

#### MUESTRA

Materia fecal

#### PROCEDIMIENTO

##### Técnica de Faust

Poner con un aplicador aproximadamente 1g de materia fecal en un vaso de precipitados.

Agregar 10 mL de solución salina isotónica.

Filtrar las heces bien homogeneizadas a través de una gasa colocada en un embudo. Recoger la suspensión en un tubo de centrífuga.

Centrifugar durante 45-60 segundos a 2500 rpm.

Decantar el sobrenadante y añadir 2 a 3 mL de agua al sedimento.

Agitar y añadir agua hasta llenar el tubo.

Repetir los pasos 5 y 6 tres o cuatro veces, hasta que el sobrenadante se torne claro. Tirar el sobrenadante.

Agregar 8-9 mL de solución de sulfato de zinc (densidad 1:18). Agitar para homogeneizar y llenar el tubo con la misma solución.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>70 / 107</b>

Centrifugar durante 45-60 segundos a 2500 rpm.

Tomar con un asa bacteriológica la película superficial del líquido del tubo y colocarlo en un portaobjetos.

Añadir una gota de lugol. Homogeneizar la muestra y colocar un cubreobjetos.

Observar a seco débil y seco fuerte.

#### Técnica de Ritchie

Poner con un aplicador aproximadamente 1g de materia fecal en un vaso de precipitados.

Agregar 10 mL de solución salina isotónica.

Filtrar las heces bien homogeneizadas a través de una gasa colocada en un embudo. Recoger la suspensión en un tubo de centrifuga.

Centrifugar durante 45-60 segundos a 2000 rpm. Desechar el sobrenadante.

Tirar el sobrenadante y añadir 2 a 3 mL de agua al sedimento.

Agitar y añadir agua hasta llenar el tubo.

Repetir los pasos 4, 5 y 6 tres o cuatro veces, hasta que el sobrenadante se torne claro. Tirar el sobrenadante.

Agregar 10 mL de formalina al 10% y dejar en reposo la suspensión durante 10 minutos (fijación).

Agregar 5 mL de éter, tapar el tubo y agitar vigorosamente durante 30 segundos.

Centrifugar a 1500 rpm durante 1 minuto. Observar que se formarán cuatro capas: éter, restos fecales, formol y sedimento.

Introducir una pipeta pasteur y extraer cuidadosamente el sedimento.

Colocar una gota del sedimento en un portaobjetos.

Añadir una gota de lugol. Homogeneizar la muestra y colocar un cubreobjetos.

Observar a seco débil y seco fuerte.

#### CUESTIONARIO

¿Cuál es el fundamento de las técnicas de Faust y Ritchie?.

¿Cuáles son las ventajas y desventajas de los métodos de flotación?.

¿Qué otros métodos coproparasitoscópicos se utilizan para el diagnóstico de parasitosis?.

¿Qué técnicas se pueden utilizar en zonas rurales?.

¿Qué es el MIF (parasitología)?.

¿Por qué es necesario usar colorantes para teñir a los protozoarios parásitos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	71 / 107

## 20- DIAGNOSTICO DE AMIBIASIS

**OBJETIVOS:** Explicar por medio de un esquema el ciclo biológico de Entamoeba histolytica. Identificar microscópicamente trofozoitos de Entamoeba histolytica. Conocer los medios de cultivo apropiados para la ameba. Analizar las diferentes técnicas para el diagnóstico de amebosis.

### INTRODUCCIÓN

La amebiasis es una infección humana producida por el protozoo Entamoeba histolytica y afecta sobre todo al intestino grueso. Su nombre significa intestino, ameba, tejido y lisis lo cual explica la naturaleza de la enfermedad que provoca. El protozoo se denomina ameba, pero se ha utilizado el término amiba de manera inapropiada. En la actualidad se ha propuesto el concepto entamoebosis, amebosis o amebiasis para la enfermedad, por la raíz del nombre del agente causal.

Las dos fases más importantes del parásito son: el trofozoito, que es la fase móvil, en la que se reproduce y durante la cual se ocasiona el daño al huésped; y el quiste, que es la fase de resistencia, infectante y el parásito permanece inmóvil.

El mecanismo de transmisión es el fecalismo, por lo que se contaminan alimentos, bebidas o fómites con materia fecal de individuos que eliminan los quistes.

### Ciclo biológico

Los quistes entran por vía oral y avanzan al tubo digestivo hasta llegar al estómago. El pH del jugo gástrico y las enzimas hidrolíticas destruyen la pared del quiste. Pasan al duodeno como trofozoitos con cuatro núcleos, se divide cada núcleo y se forman trofozoitos con ocho núcleos, cada núcleo se separa y da lugar a ocho trofozoitos uninucleados (metaquiste). Migran por la luz del intestino hasta llegar al intestino grueso. Aquí comienza la transformación de trofozoito a quiste. Los quistes abandonan el organismo junto con las heces en fase de quiste tetranucleado, binucleado o uninucleado. La transmisión también puede ser por arrastre mecánico de quistes por transmisores biológicos (moscas) y actividad sexual anal.

### Cuadro clínico

Los trofozoitos causan necrosis del epitelio intestinal, penetran la mucosa, y provocan una úlcera.

Basado en los mecanismos patógenos, la amebiasis es variable en relación con los síntomas que causa en el ser humano. Los parásitos pueden establecerse sólo en el intestino grueso (ciego, sigmoide y recto), pero las cepas más patógenas son capaces de invadir otros órganos a través de vasos sanguíneos. Esto significa que la amebiasis puede ser intestinal o extraintestinal. Dentro de



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>72 / 107</b>

las complicaciones puede presentarse perforaciones del intestino, peritonitis, abscesos hepáticos, extenderse hasta el pulmón y cerebro.

#### Diagnóstico

El diagnóstico se basa en hallazgos clínicos, pruebas de laboratorio y estudios de gabinete. Es importante considerar que los síntomas se pueden confundir con los de otras enfermedades por lo que debe realizarse diagnóstico diferencial.

En casos de amebiasis cutánea presente en recién nacidos se recomienda la “ameba en fresco”, mediante el empleo de cucharilla rectal, la muestra se observa directo en fresco en un portaobjetos y cubreobjetos bajo el microscopio a 40X.

La amebiasis intestinal se diagnostica con exámenes coproparasitológicos: estudio directo en fresco si la muestra es líquida, con revisión de moco y sangre. Se puede confirmar con rectosigmoidoscopia. Si la muestra es pastosa se recomienda una técnica de concentración.

Cultivo en medios axénicos, monoaxénicos y plurixénicos. Raspado de úlceras, biopsia de úlceras con estudio histopatológico, técnicas de tinción tricrómica o con hematoxilina férrica.

En casos de sospecha de amebiasis extraintestinal se pueden realizar pruebas serológicas como: contrainmuno-electroforesis, inmunofluorescencia, ELISA, reacción de floculación, inhibición de hemaglutinación indirecta, precipitación en agar, fijación de complemento, inmovilización de trofozoitos, intradermorreacción con la histolicina. Se puede valorar el daño con placa radiográfica, colonoscopia, colon por enema, gammagrafía, centellografía, ultrasonografía, tomografía axial computada, resonancia magnética.

#### MATERIAL

- Microscopio óptico
- Preparaciones fijas de Entamoeba histolytica
- Preparaciones fijas Entamoeba coli
- Papel seda

#### MÉTODO

- Observar al microscopio las preparaciones fijas de las dos especies de Entamoeba en los objetivos 10, 40 y 100X (inmersión).
- Hacer descripción morfológica de lo observado.
- Realizar esquemas para su reporte. CUESTIONARIO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>73 / 107</b>

¿Cómo es el ciclo de vida de la Entamoeba histolytica?.

¿Qué son los medios de cultivo axénicos, monoaxénicos y plurixénicos para aislar a las amebas?.

¿Cuál es el cuadro clínico de la Amebosis intestinal?.

¿Qué otros tipos de amebosis se pueden presentar?.

¿Cuáles son las principales medidas higiénico-dietéticas para la prevención de la amebosis?.

¿En qué difiere la disentería amebiana de la disentería bacilar?.

¿La progresión de una úlcera típica producida por Entamoeba histolítica podría poner en peligro la vida del paciente?.

Modulo urogenital

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	74 / 107

## 21-DIAGNOSTICO DE SIFILIS

OBJETIVO: Conocer los estudios de laboratorio útiles en el diagnóstico de Sífilis.

### INTRODUCCIÓN

La Sífilis en el hombre es una enfermedad causada por EL *Treponema pallidum* que es un bacilo de forma espiral que mide alrededor de 0,2  $\mu$  de ancho y 5 a 15  $\mu$  de largo, es patógeno para el hombre y nunca ha sido cultivado en medios artificiales. Se desconocen los antígenos del *Treponema*, en el humano las espiroquetas estimulan la producción de anticuerpos capaces de teñir al *Treponema* por inmunofluorescencia directa, las espiroquetas causan también la producción de sustancias similares a un anticuerpo, la reagina, que da resultados positivos en la pruebas de fijación de complemento y de floculación. Tanto la reagina como los anticuerpos antitreponémicos pueden ser usados en el diagnóstico de Sífilis.

La infección con *Treponema* es exclusiva del hombre, ésta se transmite por contacto sexual y la lesión infecciosa se localiza en la piel o mucosas de los órganos genitales. Las espiroquetas se multiplican localmente en el sitio de entrada y algunas se diseminan a los ganglios linfáticos locales y alcanzan la corriente sanguínea, de 2 a 10 semanas después de la infección aparece la pápula en el sitio de entrada y se desintegra para formar una úlcera de base limpia y dura (chancro duro), la inflamación se caracteriza por el predominio de linfocitos y células plasmáticas.

La Sífilis pasa por periodos clínicos relativamente bien definidos: etapa primaria, secundaria, terciaria y latente. Las lesiones primarias y secundarias son ricas en espiroquetas y son muy infecciosas, en las lesiones terciarias los treponemas son muy raros y la exagerada respuesta del tejido se atribuye a la hipersensibilidad, ocasionalmente se pueden encontrar treponemas en ojos o sistema nervioso central, en la Sífilis tardía.

En el diagnóstico de la Sífilis existen dos tipos de pruebas serológicas:

Inespecíficas (No treponémicas). Incluyen las pruebas de floculación como las de Khan, Mazzini, Kline, la prueba rápida de reagina. Las pruebas no treponémicas detectan anticuerpos IgG e IgM frente a cardiolipinas, colesterol y lecitina producidas por tejidos dañados por el *Treponema* o por otras enfermedades. Por esta razón no son pruebas específicas para *Treponema pallidum* y RPR, que han demostrado ser muy útiles para el diagnóstico temprano de Sífilis se utilizan como tamizaje.

Específicas (Treponémicas). Detectan anticuerpos específicos dirigidos contra antígenos de *Treponema pallidum*. Las más comunes son FTA- AB'S y la TPHA, ELISA. La FTA – AB'S IgM es una



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>75 / 107</b>

prueba más específica, utiliza inmunofluorescencia indirecta para detectar anticuerpos séricos contra las espiroquetas, se efectúa en suero en Sífilis primaria y secundaria. Existen otras pruebas como TPI Ab (Anticuerpo Inmovilizante de *Treponema pallidum*).

Prueba de VDRL- Esta prueba usa una mezcla cuidadosamente balanceada de cardiolipina, lecitina y colesterol como antígeno de floculación. Es una sencilla prueba que se utiliza sobre un portaobjetos.

#### MATERIAL

1 jeringa de 3 ml. Alcohol y ligadura Centrífuga  
Tubos de vidrio 13 x 100 Reactivos VDRL  
Placa de vidrio.

#### METODO

- 1.- Obtener 3.0 ml de sangre y dejar coagular. 2.- Centrifugar y separar el suero.
- 3.- Colocar una gota de suero (0.05ml) sobre un portaobjetos.
- 4.- Añadir una gota de antígeno (0.05 ml) al suero y rotar la placa durante 4 minutos sobre una superficie plana, limitado a un círculo de 5 cms. de diámetro a razón de 120 rotaciones por minuto.
- 5.- La reacción se lee directamente después de la rotación.
- 6.- Es conveniente efectuar la reacción con controles positivo y negativo.
- 7.- Observación de resultados:

La reacción se lee al microscopio con objetivo seco débil. Resultado positivo : observación de agregados Resultado débil +: observación de agregados finos Resultado negativo: No se observan agregados.

#### CUESTIONARIO

- 1.- ¿Cuáles son las características morfológicas de *Treponema pallidum*?
- 2.- ¿Cuál es el mecanismo de transmisión de Sífilis?
- 3.- ¿Cuáles son las etapas clínicas de la Sífilis?
- 4.- ¿Qué pruebas inespecíficas conoce para el diagnóstico de Sífilis?
- 5.- ¿Cuál es el agente causal de chancro blando , cuadro clínico y forma de diagnóstico?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>76 / 107</b>

## 22-UROCULTIVO

**OBJETIVOS:** Conocer género y especie de las bacterias que con mayor frecuencia ocasionan Infecciones del tracto urinario. Conocer indicaciones médicas para la toma de un urocultivo. Conocer los medios de cultivo, técnica de siembra y técnicas para el diagnóstico de las Infecciones Urinarias.

### INTRODUCCION

La infección del tracto urinario (ITU) es la enfermedad más frecuente del aparato urinario. Afecta principalmente a mujeres. Las infecciones de tracto urinario se define como la presencia y proliferación de gérmenes en el tracto urinario. Habitualmente son bacterias raramente es micótica o vírica. Se pone en evidencia mediante el cultivo de orina en medios de crecimientos apropiados. Si hay bacterias crecerán formando colonias que pueden ser contadas como unidades formadoras de colonias por milímetro (UFC/m<sup>2</sup>).

Los factores que tienen influencia sobre el crecimiento de bacterias en la orina incluyen pH, osmolaridad, glucosuria, proteinuria, hematuria y el contenido de urea estas son de gran importancia en el crecimiento bacteriano.

Las bacterias que con mayor frecuencia ocasionan infecciones urinarias son: *Escherichia coli*, que causa el 80% de los casos, *Proteus mirabilis* (niños), *Klebsiella spp*, *Estafilococo*.

El diagnóstico de las infecciones urinarias se hace demostrando bacteriuria por medio del cultivo. El urocultivo cuantitativo permite distinguir la bacteriuria significativa de la simple contaminación de la muestra.

Se utilizan diferentes técnicas para el urocultivo:

**Cuenta de leucocitos.** El número de leucocitos se determina en el sedimento urinario, en una gota de orina que se deposita en un portaobjetos. Se observa el número de leucocitos por campo.

**Cuenta de bacterias.** Método con asa calibrada, el método cuantitativo que se utiliza de rutina es este y se utiliza una asa de 0.01 ml de capacidad. Se toma una asada de orina sin centrifugar y se hace una siembra por estría en toda la superficie de la placa, se utilizan medios de cultivo para Gram. positivos ( agar Sangre, agar Chocolate, agar S110) y para Gram. negativos ( EMB, Mac Conkey). En estas placas, la orina debe sembrarse e incubarse a 37°C de 24 a 48 horas. Se multiplica por 100 el número de colonias que aparecen en la placa para determinar el número de bacterias que existen en un mililitro de orina.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>77 / 107</b>

Se utiliza también el método de papel absorbente en el cual se atrapan las bacterias en el poro de este y se coloca en los medios de cultivo ya mencionados. Se procede al conteo de las colonias en estos medios de cultivo. En general, las cuentas de menos de 10 000 bacterias por milímetro de orina indican contaminación. Cuando el número está entre 10 000 y 100 000 se sospecha de infección, y si es mayor a 100 000 UFC/ml se confirma la sospecha.

#### MATERIAL

- Asa Bacteriológica calibrada .01 o .001 ml. Mechero
- Muestra de orina 1 caja agar sangre
- 1 caja agar chocolate 1 caja agar S110
- 1 caja agar EMB o Mac Conkey 1 caja agar Biggy.

#### MÉTODO

- 1.- Coloque la muestra de orina cerca del mechero.
- 2.- Agite suavemente la muestra y destápela.
- 3.- Tome una asada de orina y siembre por estría simple en cada medio de cultivo proporcionado.
- 4.- Incubar a 37°C por 24 ó 48 horas.
- 5.- Leer contando cada una de las colonias desarrolladas y multiplicar según el asa utilizada.
- 6.- Guardar los cultivos para efectuar la identificación.

#### CUESTIONARIO

- 1.- ¿ Cuáles son los agentes causales más frecuentes de las infecciones urinarias?.
- 2.- ¿ A qué pacientes indicaría un urocultivo ?.
- 3.- ¿Cuál es la técnica para la toma de muestra de orina en mujeres?.
- 4.- ¿ Si sospechara de infección por Haemophilus, en que medio sembraría y por qué?.
- 5.- ¿ Es conveniente realizar un examen general de orina junto con el urocultivo, por qué?.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>78 / 107</b>

## 23-OBSERVACION DE SEDIMENTO URINARIO

**OBJETIVOS:** Identificar con base en sus características químicas y fisiológicas los géneros y especies de los agentes causales de las infecciones en vías urinarias. Conocer el fundamento bioquímico de las pruebas utilizadas para la identificación de los géneros y especies de los microorganismos encontrados en los medios de cultivo.

### INTRODUCCION

La identificación de las bacterias empieza con la tinción de Gram, así como el crecimiento de las colonias en los medios de cultivo selectivos y diferenciales y por sus características morfológicas.

El empleo de pruebas bioquímicas es de gran ayuda para dar un resultado confiable y poder diferenciar el género y la especie causantes de dichas infecciones y poder establecer el diagnóstico y tratamiento oportuno.

La observación mas rápida para la identificación de bacterias por pruebas bioquímicas se relaciona con la utilización de carbohidratos, la motilidad bacteriana conferida por los flagelos en algunas bacterias, la producción de indol como parte de su metabolismo, producción de sulfuro ferroso, la capacidad de descomponer la úrea y algunas otras características de cada uno de los componentes de cada bacteria.

### MATERIAL

Asa bacteriológica Mechero  
Juego de colorantes para Gram. Cultivos de la sesión anterior  
1 tubo TSI  
1 tubo SIM  
1 tubo Caldo manitol rojo de fenol 1 tubo caldo Urea  
1 tubo Citrato de Simons 1 Microscopio

### MÉTODO

- 1.- Tomar una asada de una colonia del medio de cultivo EMB o Mac Conkey y sembrar en cada uno de los medios proporcionados.
- 2.- De la misma colonia preparar un frotis y realizar la tinción de Gram. Observar al microscopio con objetivo 100 x y aceite de inmersión.
- 3.- Incubar los tubos con los medios inoculados a 37° C / 24 horas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>79 / 107</b>

4.- Leer resultados e interpretar utilizando las tablas bioquímicas y dar el diagnóstico de acuerdo con los resultado obtenido.

#### CUESTIONARIO

- 1.-¿Cuál es el fundamento de la prueba TSI y cómo reportaría esta prueba en caso de encontrar Proteus y Escherichia coli?.
- 2.- ¿ Cuántos aspectos se pueden determinar en el medio SIM?.
- 3.- ¿Si encontramos crecimiento en el medio S110, qué pruebas utilizaría para la identificación de especie?.
- 4.- ¿Cuál es el fundamento de la prueba Caldo urea.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	80 / 107

## 24-IDENTIFICACION DE BACTERIA EN ORINA

**OBJETIVO:** Que el alumno sea capaz de utilizar este examen de laboratorio como una de las principales herramientas de diagnóstico.

### INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad se ha reconocido que el examen de la orina constituye uno de los indicadores más importantes del estado de salud. Por ello es que el análisis de orina en la mayoría de los casos permite dar un diagnóstico e incluso orientar a un tratamiento así como la detección de afecciones del metabolismo o sistémicas que no tiene relación directa con el sistema urinario, infecciones de vías urinarias como un estudio previo a la realización de un urocultivo.

La composición de la orina depende, entre otras causas, del estado nutricional del paciente, así como la situación metabólica y la capacidad funcional del riñón. Esta compleja constitución alberga numerosos elementos en cantidades totalmente distintas como lo son urea, cloruros, ácido úrico, creatinina, aminoácidos, metabolitos intermedios como ácido oxálico o pirúvico, ácidos grasos libres, indicios de colesterol, hormonas, vitaminas, vestigios de metales y componentes celulares entre otros componentes. Lo que nos indica que su análisis es algo complicado.

Para que el análisis de la orina sea confiable deberá ser la primera micción matutina colectada a chorro intermedio en un frasco de boca ancha bien limpio y seco, la muestra tendrá un volumen no mayor de la mitad de la capacidad del frasco para que permita mezclarla (alrededor de 40 mL), el análisis deberá efectuarse en las 3 primeras horas de emitida la muestra, aunque para pruebas muy específicas estas indicaciones pueden variar pudiéndose refrigerar por unas horas si el análisis no puede efectuarse al momento y hasta agregar conservadores.

El análisis se estudia normalmente desde un triple punto de vista:

**Examen físico.** Que incluye color, aspecto, turbidez (una orina recién emitida es límpida o ligeramente turbia, pero puede enturbiarse debido a la refrigeración por precipitación de uratos amorfos) y densidad (anteriormente se utilizaban un urinómetro o un refractómetro ahora este análisis está dentro de los parámetros que mide la tira reactiva).

**Examen químico.** Antiguamente se basaba en reacciones químicas que ponían de manifiesto los compuestos químicos que se deseaba analizar y necesitando para ello todo un laboratorio de química analítica, en la actualidad este estudio se ha simplificado por el uso de tiras reactivas simples o múltiples por lo que ahora es un estudio sensible y rápido con el que se puede analizar



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>81 / 107</b>

hasta 9 pruebas diferentes en 60 segundos. Incluye determinaciones de densidad, pH, proteínas, glucosa, cetonas, sangre oculta, bilirubinas, urobilinógeno, reducción de nitritos, etc.

Examen microscópico. Este examen constituye una parte vital del análisis urinario, es una herramienta diagnóstica muy valiosa para la detección y evaluación de trastornos renales y del tracto urinario así como de otras enfermedades sistémicas, la mejor muestra es la primera de la mañana que está más concentrada y debe de observarse lo antes posible para evitar degeneración de células y cristales, si no es posible puede refrigerarse unas horas, aunque en orinas alcalinas y baja densidad pueden disolverse los cilindros o lisarse los eritrocitos, en ocasiones pueden utilizarse colorantes pero pueden enmascarar otras estructuras. En este análisis se incluye la observación de células ( leucocitos, eritrocitos, células epiteliales, etc), cristales, cilindros, microorganismos (bacterias, parásitos, hongos, etc), estructuras diversas (espermatozoides, filamentos de moco, gotas de grasa), artefactos (cristales de almidón, talco, vidrio, fibras, cabello, polen, etc.).

#### MATERIAL.

Muestra de orina  
Tubos de ensayo de 18 x 150 Gradilla  
Portaobjetos Cubreobjetos  
Centrifuga Microscopio  
Tiras reactivas

#### PROCEDIMIENTO

Para el examen físico.

1. Observar la orina y reportar color, olor, aspecto, turbidez, densidad y cantidad.

Para el examen químico.

Sumergir la tira reactiva en orina bien mezclada y sin centrifugar, retirar la tira sin tocar las áreas reactivas con los dedos, en la orilla del frasco eliminar el exceso de orina.

Verificar en el envase el tiempo para la lectura de resultados que viene en el envase.

Comparar el color de las áreas reactivas con la tabla de colores del encase, la lectura debe de realizarse con buena iluminación y en el tiempo requerido.

Reportar por cruces, la densidad en valor numérico y cuando la tira marca leucocitos verificar con la observación microscópica.

Para el examen de microscópico (sedimento urinario).

Homogenizar la muestra en el frasco de recolección.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>82 / 107</b>

Separar 10 ml en el tubo de ensaye (3/4 partes del tubo).

Centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos.

Eliminar el sobrenadante decantando, dejando solo el sedimento.

Resuspender el sedimento.

Colocar una gota pequeña en un portaobjeto bien limpio, de preferencia nuevo.

Colocar un cubreobjeto de 20 x 20 mm.

Observar al microscopio con poca luz o luz amortiguada (se logra cerrando parcialmente el iris del diafragma y ajustando el condensador hacia abajo hasta lograr el contraste óptimo) para lograr el mayor contraste que facilite no pasar por alto elementos como los cilindros y algunos cristales.

Enfocar primero con el objetivo seco débil y posteriormente con el seco fuerte.

Deben observarse por lo menos 15 campos y promediar para reportar los resultados.

Reportar los resultados en forma subjetiva las bacterias o cristales (escasos, regular cantidad, abundante, etc.) las células y cilindros en número por campo, las Trichomonas sólo como positivo, etc.

#### CUESTIONARIO.

- 1.- ¿ Describa que factores pueden modificar la flora vaginal?.
- 2.- ¿ Si encontramos un número importante de bacterias, qué otros aspectos se deben considerar para diagnosticar una infección?.
- 3.- ¿ Si encontramos un pH ácido que tipo de cristales esperamos encontrar?.
- 4.- ¿ Qué tipo de cilindros podemos encontrar en una Pielonefritis?.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>83 / 107</b>

## 25- CULTIVO DE SECRECIONES URETRALES Y VAGINALES

**OBJETIVOS:** Conocer la importancia de la toma de muestra de secreciones uretrales y vaginales para identificar así el agente causal. Conocer los medios de cultivo útiles en la siembra de estas secreciones para así identificar el agente causal. Conocer la técnica de Gram. para identificar si so Gram. + o negativos, hacer observación directa para ver si encontramos Trichomonas, leucocitos, etc. Establecer un diagnóstico confirmatorio y establecer la terapéutica indicada.

### INTRODUCCION

En el exudado cérvico vaginal y uretral implica la investigación tanto de componentes de la flora normal como de la patógena. Los patógenos son generalmente de transmisión sexual y las principales especies patógenas son: *Nesisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* y *Haemophylus ducrey*, producen infecciones en la uretra, cérvix y vagina en la mujer y en el hombre en la uretra y la próstata, es común que la mujer sufra también infecciones en el recto.

Los componentes de la flora normal generalmente son *Lactobacilos* (bacilos de Döderlein) y *Estreptococos* alfa hemolíticos cuyas alteraciones pueden indicar infecciones o cambios funcionales del aparato genital femenino. La presencia de bacterias, levaduras y protozoarios como microorganismos importantes nos exige el empleo de una amplia utilización de métodos de estudio, como sería microscopia y medios de cultivo para poder identificar que produce esta infección.

En las infecciones crónicas con manifestaciones clínicas o sin ellas, es muy difícil tanto en hombres como en mujeres encontrar *N. gonorrhoeae*, por microscopia y se vuelve más difícil en mujeres asintomáticas, en este caso los cultivos bacteriológicos dan resultados positivos.

Es importante tener en cuenta que el diagnóstico de las infecciones genitales se establece mediante: la historia clínica, la exploración física y los estudios de laboratorio indicados para confirmar el agente causal del cual sospechamos ( microscopia y medios de cultivo).

#### Toma de muestra en mujeres:

En las mujeres las muestras se deben tomar de: Cérvix: es el mejor sitio.

Use el espejo vaginal y dos hisopos estériles. es conveniente el uso de hisopos de alginato, humedecerlo en agua destilada o solución salina.

Introducir el espejo vaginal y con un primer hisopo limpiar el moco que recubre el cérvix.

Con un segundo hisopo el exudado endocervical.

Sembrar con cada uno de ellos en los medios de cultivo indicados.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>84 / 107</b>

con un tercer hisopo hacer frotis y observación microscópica en fresco para buscar Trichomonas, levaduras, leucocitos, células epiteliales, etc.

Recto: De este sitio se pueden obtener cultivos positivos cuando el cultivo de cérvix es negativo. Se debe limpiar perfectamente la zona perianal, introducir en el recto como a unos 2.5 cm de profundidad el número necesario de hisopos hasta que salga limpio de materia fecal visible.

Introducir un hisopo humedecido presionar las paredes del recto (criptas) para recolectar la muestra y sembrar en los medios de cultivos indicados.

Vagina: Tomar la muestra de las paredes del fondo de saco y de las paredes laterales profundas de la vulva (glándulas de Bartolini) sembrar en los medios de cultivo indicados, hacer microscopia en fresco para observar ( Trichomona, levaduras, etc.) y frotis con Gram.

Uretra: Limpiar la zona del meato urinario, introducir un centímetro de hisopo húmedo y comprimir las paredes de la uretra (glándulas de Skene), sembrar en los medios adecuados, hacer microscopia, incubar y seguir la metodología descrita.

Toma de muestra en hombres:

En el hombre el sitio más común de la infección gonocócica es la uretra.

Se debe tomar la muestra en las primeras horas de la mañana antes de que el paciente orine, hacer un aseo escrupuloso previo con agua y jabón, en el laboratorio indicar al paciente que se exprima el pene si hay exudado suficiente tomar la muestra directa y sembrarlo en los medio de cultivo indicados, tomar muestra para un exudado en fresco si no es suficiente introducir el hisopo 2 cm sembrar en los medios de cultivo y observar si hay (Trichomonas, leucocitos, etc.), hacer frotis con Gram.

#### MATERIAL.

1 caja con agar Biggy

1 caja con Harina de Maíz 1 caja con agar chocolate 1 cepa Candida albicans

1 cepa Neisseria gonorrhoeae

Preparaciones fijas de frotis exudados vaginales y uretrales 1 microscopio

#### PROCEDIMIENTO

- 1.- Hacer frotis de Gram. con las cepas bacterianas proporcionadas..
- 2.- Sembrar en los medios de harina de maíz y Biggy la cepa de Candida proporcionada.
- 3.- Sembrar en agar chocolate la cepa de Neisseria proporcionada durante 24 horas a 37°C.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>85 / 107</b>

4.- Observar la preparaciones fijas.

#### CUESTIONARIO

- 1.- ¿Mencione los agentes causales más frecuentes de las vulvovaginitis?.
- 2.- ¿ Mencione los medios de cultivo indicados en las infecciones genitales?.
- 3.- ¿Describa las características morfológicas de la Trichomonas vaginalis? .
- 4.- ¿ Mencione las tinciones indicadas en la infecciones genitales?.

Modulo sistema nervioso y órgano de los sentidos

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	86 / 107

## 26- MENINGITIS BACTERIANA

MARIO AVILA AGUILAR

OBJETIVOS: Que el alumno conozca los agentes causales de la meningitis bacteriana.

### INTRODUCCION

#### Cuadro clínico

Los signos clínicos de meningitis bacteriana varían de acuerdo al grupo de edad en que se presente. En el periodo neonatal los signos clínicos son inespecíficos e insidiosos y habitualmente se manifiestan como un evento de sepsis temprana y que puede incluir: inestabilidad en la temperatura corporal, rechazo al alimento, apnea, bradicardia, mala coloración tegumentaria, ictericia, irritabilidad, fontanela abombada que se observa en una tercera parte de los casos, llanto agudo, letargia, crisis convulsivas que ocurren en un 40%, sin embargo no hay signos específicos.

En el periodo de 1 – 3 meses el lactante aun no muestra signos específicos de irritación meníngea y puede exhibir solamente signos de irritabilidad, somnolencia, fontanela abombada, rechazo al alimento y fiebre de bajo grado. Si el lactante esta séptico, presentara datos de choque e hipotensión, pobre perfusión periférica con retardo en el llenado capilar (>2 segundo), taquicardia, taquipnea y cianosis.

En el lactante de 3 – 18 meses los signos cardinales de irritación meníngea son gradualmente más evidentes conforme avanza la edad; presentando los signos de Kerning y/o Brudzinski, la cefalea es común en el escolar y niño mayor, crisis convulsivas, rigidez de nuca, vómitos, fiebre, puede haber fotofobia, papiledema y parálisis de nervios craneales.

Se debe considerar un evento de meningitis en todo recién nacido con proceso de sepsis, y en los diferentes grupos etarios en quienes exista la presencia de fiebre y que a la exploración física se encuentren datos de letargia, somnolencia, rigidez de nuca, crisis convulsivas y datos de irritación meníngea; en todos estos casos es prioritario realizar una punción lumbar, la cual continua siendo la prueba más importante para diagnóstico temprano de meningitis bacteriana, mediante el análisis cuidadoso del líquido cefalorraquídeo.

#### Diagnóstico

El diagnostico se sospecha principalmente en padecimientos agudos febriles que se acompañan de anomalías neurológicas y se confirma mediante el examen de LCR. La punción lumbar para la obtención de líquido cefalorraquídeo (LCR) constituye el procedimiento diagnóstico más importante. Los resultados de este estudio permiten orientar o, incluso, establecer el diagnóstico



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>87 / 107</b>

diferencial entre meningoencefalitis viral y bacteriana. Cinco son los parámetros que orientan a etiología bacteriana:

El aspecto macroscópico turbio o incluso purulento (dado por el mayor contenido de células y proteínas).

El número de células: en la mayoría de los casos el número de leucocitos polimorfonucleares es superior a 500 mm<sup>3</sup>.

Predominio de leucocitos polimorfonucleares (mayor al 50%)

Hipogluorraquia (<50% de la glucemia central o gluorraquia <40 mg/dl)

Hiperproteinorraquia moderada (entre 200 y 500 mg/dl).

Tabla 1. Diagnóstico diferencial de las meningitis por el estudio del LCR

	Presión	Aspecto	Células	Proteínas	Glucosa
LCR normal	8-20 cmH <sub>2</sub> O	Claro	<5/mm <sup>3</sup>	15-45 mg%	65-80% de la glucemia
M. bacteriana	alta	turbio	1000-20000 pmn	100-1000	muy baja
M. vírica	normal/alta	claro	<300 mn	40-100	normal
M. tuberculosa	alta	opalescente	50-300 mn	60-700	baja
M. fúngica	alta	opalescente	50-500 mn	100-700	baja
M. carcinomatosa	alta	claro/turbio	20-300 mn y tumorales	60-200	baja

LCR: líquido cefalorraquídeo. M: meningitis. mn: mononucleares. pmn: polimorfonucleares

## MATERIAL

Microscopio

Asa bacteriológica

Colorantes GRAM

Placas de: Agar chocolate, Sangre y EMB

Cepas de: Escherichia coli, Neisseria y Streptococcus pneumoniae

## PROCEDIMIENTO

- 1.- Tomar una asada de la cepa de Escherichia coli, hacer un frotis, fijarlo al calor y teñir con Gram, observar al microscopio con aceite de inmersión.
- 2.- Hacer lo mismo con las demás cepas.
- 3.- Sembrar por estría cruzada las cepas en los medios indicados.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>88 / 107</b>

- 4.- Dejar incubar durante 48 hrs y leer resultados
- 5.- Reportar características microscópicas y morfología colonial.

#### CUESTIONARIO

- 1.- Menciona el fundamento de los medios de cultivo utilizados en la práctica.
- 2.- Menciona 5 bacterias que pueden producir meningitis.
- 3.- Menciona otros 3 métodos para el diagnóstico de meningitis.
- 4.- ¿Qué factores influyen en la presentación de la enfermedad?

#### BIBLIOGRAFIA

Microbiología Médica

Mason, Robert J

5ª edición

Editorial Elsevier

Año 2015

Infectología Clínica

Komate - Gutiérrez

17ª edición

Editorial Mendez editores

Año 2014



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>89 / 107</b>

## 27-MENINGITIS VIRAL

Objetivos: Conocer las principales características biológicas y los métodos de cultivo e identificación de los principales agentes causales de meningitis viral.

### Introducción

La meningitis viral o meningitis aséptica (Meningitis linfocitaria), es una infección aguda que afecta a órganos del sistema nervioso Central y del sistema nervioso periférico, por lo que también es conocida como meningoencefalitis. Muchos aspectos clínicos de estas enfermedades dependen de los órganos afectados, si la infección se limita fundamentalmente a las meninges (meningitis) o si se extiende hasta el parénquima cerebral (encefalitis), a la médula espinal (mielitis), o ambas estructuras (mielo-meningo-encefalitis).

Actualmente se han identificado un gran número de virus como agentes causales de meningitis, sin embargo, solo en el 50% al 70 % de los casos de meningitis linfocitarias agudas o meningitis aséptica se identifica al agente causal.

En la familia o grupo de los Enterovirus, se encuentran especialmente los subgrupos Coxsackie virus A y B y los ECHO virus como agentes causantes de meningitis y encefalitis.

El virus de la parotiditis es también uno de los más frecuentes, aunque va en disminución, debido a la vacunación, estos virus son responsables del 80 % de las meningitis en las que se identifica al agente. Le siguen el virus herpes, simple (tipo II), el virus de la coriomeningitis linfocitaria y los adenovirus.

El inicio de los síntomas suele ser brusco, con fiebre, malestar general y cefaleas. La cefalea asociada a la meningitis viral es de localización frontal o retroorbitaria y a menudo se asocia a fotofobia y dolor con el movimiento ocular, puede haber náuseas con vómito en proyectil.

El examen del LCR es un aspecto importante y con frecuencia fundamental en la valoración de los pacientes con una infección del SNC. En estas situaciones es esencial la práctica de una técnica correcta y de un estudio meticuloso del LCR.

### Presentación de Seminario

### CUESTIONARIO

¿Qué aspectos incluye el análisis del LCR?.

¿Qué indica el aumento de leucocitos entre 100 y 200 por mm<sup>3</sup> en una muestra de LCR?.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>90 / 107</b>

¿Qué alteraciones se pueden encontrar en el examen físico del LCR en el caso de meningitis viral?.

¿Qué alteraciones se pueden encontrar en el examen citológico del LCR en el caso de meningitis viral?.

¿Qué alteraciones se pueden encontrar en el examen químico del LCR en el caso de meningitis viral?.

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	91 / 107

## 28-TAENIASIS-CISTICERCOSIS

VERONICA TORRES CABALLERO

Objetivos: Conocer e identificar las características morfológicas macroscópica y microscópica de *Taenia solium*. Enfatizar en fase larvaria (*Cysticercus cellulosae*).

Describir el ciclo de vida de *Taenia solium*. Identificar los métodos de diagnóstico de laboratorio de teniasis y cisticercosis.

Fundamentos teóricos o antecedentes:

La taeniasis-cisticercosis es una zoonosis, enfermedad emergente en países industrializados por la migración de zonas endémicas, México se cataloga como zona endémica y esta parasitosis prevalece en áreas rurales con marginación donde el cerdo se alimenta con materia fecal contaminada con huevos de *Taenia solium*. (1, 2)

Ciclo biológico, *Taenia solium* es un helminto gusano plano segmentado clasificado como cestodo hermafrodita cuyo hospedero definitivo es el hombre que alberga en su intestino delgado la forma adulta de *Taenia solium* y hospedero intermediario el cerdo que alberga forma larvaria o cisticercosis.

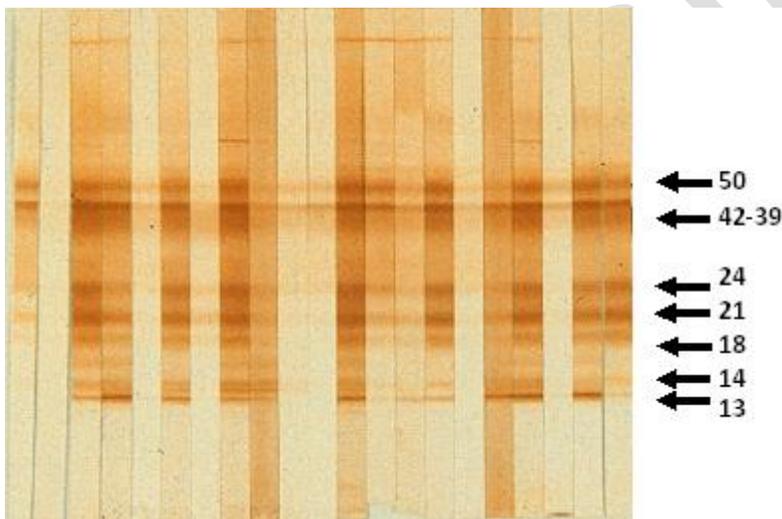
La teniasis se adquiere por ingesta de carne de cerdo cruda o insuficientemente cocida con fase larvaria de *Taenia solium* enquistada llamada *Cysticercus cellulosae* o metacéstodo, esta dentro de una vesícula blanca-amarillenta ovalada o redonda de 0.5 a 1.5 cm de diámetro, dentro se ve el cisticercos como esferas o gránulos blanquecinos suspendidas en un líquido, tiene compartimiento interno que se invagina formando el escólex visible, compartimiento externo líquido vesicular, y cubierta externa, el excolex evagina en estómago e intestino y al alcanzar duodeno se fija con sus ventosas y ganchos, crece hasta forma adulta de *Taenia solium* que mide 2-7 m de longitud, extremo anterior con excolex (1 mm diámetro) 4 ventosas, un róstelo con doble cadena de 25-30 ganchos, cuello y estróbilo con 1000 segmentos o proglótides, los más lejanos al cuello son maduros o grávidos con ramas uterinas ( 7-13 a cada lado del utero) y alojan huevos (> 50 000), los proglótides se desprenden periódicamente y salen al exterior durante la defecación, así llegan al suelo y pueden contaminar agua y verduras, o bien tras medidas higiénicas deficientes (ausencia o mal lavado de manos) contaminar alimentos y su consumo tanto por cerdos y humanos causa cisticercosis pues se ingieren fase de huevos de *Taenia solium* que son esféricos y de 47-77  $\mu\text{m}$ , cubiertos por la membrana de la oncosfera y el embrióforo les confiere gran resistencia en estómago e intestino delgado, eclosionan los embriónes hexacanto u oncosferas mediante sus proteasas y ganchos penetran intestino delgado, perforan vasos sanguíneos e ingresan a torrente sanguíneo migrando a musculo estriado, corazón, cerebro, ojo y tejido subcutáneo, en su destino se establecen, se desarrollan y crecen, adquieren estructura vesiculosa y se forma el escólex en la pared interna de la vesícula; después de 8 semanas completan su desarrollo y alcanzan su fase de larvaria ó cisticercos .



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>92 / 107</b>

Cuando los cisticercos se localizan en el Sistema Nervioso central causan Neurocisticercosis (NCC) con cisticercos viables (estado vesicular), cisticercos no viables (estados coloidal, nodular-granular y calcificado) cuyas manifestaciones se deben al efecto de masa, intensidad de respuesta inflamatoria perilesional u obstrucción de los orificios encefálicos y sistemas ventriculares. Los datos neurológicos son variados e inespecíficos y son determinados en gran parte por el estadio, número, localización y modulación de respuesta inmune de los cisticercos además de la edad, sexo y tipo de reacción inmunológica que establece el huésped. (5) En área endémica mas del 50% de epilepsias se deben a NCC.

El diagnóstico de teniasis por demostración de huevos o proglotidos en heces en coproparasitoscópicos de concentración, coproantígenos por ELISA. NCC pruebas inmunológicas ELISA, e inmunotransferencia con antígenos del metacéstodo y pruebas serológicas por Western-blot principalmente con anticuerpos monoclonales en LCR o suero del paciente encontrando IgG como inmunoglobulina predominante en la respuesta humoral. (2, 3, 4, 6)



Test Inmunoblot de la CDC con antígenos purificados de cisticerco de *T. sollium* (Disponible en USA). Anticuerpos específicos para cisticercos reaccionan con glicoproteínas de cisticerco de *T. sollium*. La masa molecular de 7 glicoproteinas diagnósticas se expresan en KDaltons y se marcan con flechas. Un resultado positivo es una reacción con alguno de estos 7 antígenos glicoproteinas específicas de cisticerco. Tomado: Diagnostico de laboratorio cisticercosis en <http://www.cdc.gov/dpdx/cysticercosis/index.html>

Materiales y reactivos:

Microscopio

Preparaciones fijas huevos de *Taenia sollium*

Preparaciones fijas con proglotidos grávidos de *Taenia sollium* y *Taenia saginata*.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>93 / 107</b>

Preparaciones fijas de cysticercos cellulosa de Taenia solium cortes de cerebro humano  
Cysticercos de Taenia solium conservados en formol.

**EQUIPO:**

Microscopio

**SERVICIOS:**

Conexión eléctrica en cada mesa de laboratorio.

Laboratorio con luz eléctrica.

**PROCEDIMIENTO**

1.- Observar al microscopio las preparaciones fijas a 40x y reportar hallazgos.

Resultados o formatos:

**RESULTADOS O FORMATOS**

Tipo laminilla o muestra	Observación microscópica	Esquema
Huevos de Taenia solium	Describir características morfológicas	Dibuje y señale con flechas características observadas
Proglotidos grávidos Taenias	Describir no. De ramas uterinas	Dibujos y señale con flechas características observadas
Cisticercos cellulosae en cerebro	Describir características morfológicas	Dibuje y señale con flechas características observadas
Cysticercos en formol	Describir características morfológicas	Dibuje y señale con flechas características observadas

**Análisis de resultados:**

Redacte sobre la importancia de conocer la fase larvaria y fase de huevo de Taenia solium, e importancia de diferenciar con huevos de Taenia saginata. Especifique en el ciclo biológico del huésped definitivo e intermediario, fase infectiva en teniasis y cisticercosis.

Explique la trascendencia de Teniasis sobre la Neurocisticercosis y las pruebas de diagnóstico de laboratorio pertinentes. Elabore un esquema gráfico con las técnicas para diagnóstico de laboratorio de neurocisticercosis. (7)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>94 / 107</b>

## CUESTIONARIO

- 1.- Describa el ciclo biológico de *Taenia solium* especificando las derivaciones en teniasis y cisticercosis.
- 2.- ¿Qué relación tiene la oncosfera con la inmunidad del hospedero?( 4, 5)
- 3.- ¿Cuáles son los productos biológicos a utilizar para el diagnóstico de teniasis y cisticercosis?(7)
- 4.-¿Cuáles son las técnicas de laboratorio indicadas para el diagnóstico de la neurocisticercosis?
5. ¿Cuáles son las técnicas de laboratorio indicadas para el diagnóstico de Teniasis?

### Referencias bibliográficas:

De Aluja AS, Suarez MR, Sciutto CE, Morales SJ, Martinez MJJ, Villalobos M. Evaluación del impacto de un programa de control de la teniasis-cisticercosis (*Taenia solium*), Salud Pública de México 2014; 53(3):

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342014000300011&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342014000300011&lng=es&nrm=iso)

Polanco NA. Caso clínico Neurocisticercosis en enfermedad renal crónica  
Rev Med. Int Mex. 2016; 32(2): 249-255.

<http://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2016/mim162m.pdf>

Becerril MA. Parasitología Médica, 4ta. ed. Mc Graw Hill Interamericana México 2014 p. 179-185.

Rodríguez Pérez EG. Parasitología médica, México El Manual Moderno, 2013 p. 311-321.

Tuero I, Palma S, Cabeza F, Saleemi S, Rodriguez S, Gonzales I, et al. A Comparative Study of Peripheral Immune Responses to *Taenia solium* in Individuals with Parenchymal and Subarachnoid Neurocysticercosis. PLoS Negl Trop Dis, 2015; 9(10): e0004143. doi:10.1371/journal.pntd.0004143  
<http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004143>

Uribarren BT. Departamento de Microbiología y Parasitología Facultad de Medicina UNAM. Cisticercosis, Oct 2015 en:

[http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Parasitologia\\_2015-2016.pdf](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Parasitologia_2015-2016.pdf)

UNAM. Fac de Medicina. Departamento de Microbiología y Parasitología. Manual de Laboratorio Facultad de Medicina Microbiología. Recursos en Parasitología. En línea:

[www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/index.html](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/index.html)

CDC. Diagnostico de laboratorio cisticercosis en

<http://www.cdc.gov/dpdx/cysticercosis/index.html>

Observaciones: Elaboró PROFA. VERONICA TORRES CABALLERO

Se solicitan más preparaciones fijas de las hasta ahora se utilizaban en la practica pues se retoma como binomico taeniasis-cisticercosis y no asilada como se manejaba anteriormente.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	95 / 107

## 29-CULTIVO DE CLOSTRIDIUM

Objetivo: Conocer las características morfológicas, de tinción y condiciones de cultivo del género Clostridium.

### Introducción

Las bacterias de género Clostridium son bacilos anaerobios grandes que miden hasta 4 micras de longitud por una micra de ancho, son grampositivos dotados de motilidad. Muchos descomponen las proteínas o forman toxinas y algunos hacen ambas cosas. Su hábitat natural es el suelo o el conducto intestinal de animales y humanos, donde viven como saprofitos. Las especies de importancia médica del género Clostridium son cuatro y son los microorganismos causantes de la gangrena gaseosa, de la colitis pseudomembranosa, del tétanos y del botulismo, siendo estos dos últimos los causantes de las afecciones en el SNC.

### Clostridium botulinum

Los subtipos de Clostridium botulinum son bacterias Gram positivas, hemolíticas, anaerobias estrictas, que miden hasta 4 micras de longitud por una micra de ancho, son móviles por poseer flagelos peritricos. Las esporas son subterminales muy resistentes al calor, resisten 100oC al menos 3 a 5 horas. Los subtipos de Clostridium botulinum se distinguen por el tipo antigénico de la toxina que producen, aunque todas actúan de forma similar. La resistencia al calor de la toxina, disminuye en pH ácido o en una concentración alta de sal. En agar sangre producen colonias redondas de 3 milímetros de diámetro, semitransparentes, convexas, con una zona de hemólisis alrededor. El Clostridium botulinum, es el causante del botulismo, la bacteria se distribuye en todo el mundo; se encuentra en el suelo y a veces en las heces de los animales.

### Clostridium tetani

Clostridium tetani es el agente causal del tétanos; se trata de microorganismos grampositivos, anaerobios estrictos, que miden hasta 4 micras de longitud por una micra de diámetro, tienen forma de palillo de tambor con esporas terminales esféricas. En agar sangre las colonias son puntiformes, translúcidas, con aspecto granular, de bordes irregulares en inicio presentan hemólisis alfa y finalmente hemólisis beta. Clostridium tetani es de distribución mundial, se encuentra en el suelo, en las heces de caballos y de otros animales. Se pueden distinguir varios tipos mediante antígenos flagelares específicos. Todos comparten un antígeno O común (somático), a veces enmascarado y todos producen el mismo tipo antigénico de neurotoxina, la tetanospasmina.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>96 / 107</b>

GENERO	TOXINA	FISIOLOGIA
C. botulinum ( Botulismo)	Libera toxinas (toxina botulínica, ) se conocen siete variedades (A-G) A, B y E (ocasiones F) principales enfermedades en el ser humano. A y B se vincula con los alimentos C causa botulismo en aves D causa el botulismo en	La toxina se absorbe en el intestino, va a torrente ganglios uniéndose a receptores de membrana presináptica en neuronas motiras del SNP y pares cráneales. Inhibiendo la liberación de acetil-colina dando como resultado la ausencia de contracción muscular y la presencia de parálisis.
C. tetani	Toxina tetanosmasmina	Se fija a receptores de membrana degradando a la sinaptobrevina (proteína necesaria para la aproximación de vesículas neurotransnisoras a la membrana presináptica) bloqueando la liberación deglicina y ácido $\gamma$ - aminobutírico pero no inhibe las neuronas motoras. Esto da como resultado hiperreflexia, espasmos musculares y parálisis espástica.

Material

- Asa bacteriológica
- Mechero Bunsen
- Agar Sangre
- Caldo tioglicolato



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>97 / 107</b>

Cepa de Clostridium sp.  
Colorantes para tinción de Gram  
Colorantes para tinción de esporas

#### Procedimiento

Con inóculo liviano sembrar la placa de agar sangre por la técnica de estría cruzada en cuatro cuadrantes. Reportar a las 24 horas.  
Con inóculo liviano realizar la inoculación del caldo tioglicolato por técnica de agitación.  
Reportar a las 24 horas.  
Realizar una preparación y teñir con tinción de Gram.  
Realizar una preparación y teñir con la técnica de Shaeffer-Fulton.

Tinción de esporas (Shaeffer-Fulton).
Cubrir la preparación con verde de malaquita y calentar a emisión de vapores por un minuto. Es importante no permitir que la preparación se seque.
Lavar con agua.
Cubrir la preparación con safranina por 15 minutos.
Enjuagar con agua.
Dejar secar al aire.
INTERPRETACIÓN: Las esporas se tiñen de color verde y el citoplasma de color rojo.

#### CUESTIONARIO

Explique de manera breve dos técnicas empleadas en el laboratorio para generar anaerobiosis.  
¿Cuál es el mecanismo de acción de las principales toxinas tetánicas?.  
¿Cuál es el mecanismo de acción de la toxina botulínica?.  
Mencione dos medios de cultivo para Clostridium.  
¿Qué condiciones favorecen la generación de potenciales bajos de oxido- reducción?.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>98 / 107</b>

### 30- IDENTIFICACIÓN DEL GÉNERO CLOSTRIDIUM

Objetivo: Conocer las principales pruebas para la diferenciación de las especies de Clostridium que afectan al SNC.

#### Introducción

Tanto para la confirmación de género como para la identificación de las principales especies de importancia clínica, resulta de vital importancia el estudio de las características metabólicas de los microorganismos a estudiar, lo cual es llamado con frecuencia estudio bioquímico o pruebas bioquímicas. Estas pruebas se realizan generalmente en tubo y se eligen a partir de las características del microorganismo que se han obtenido de los cultivos en placa y de las tinciones realizadas de colonias aisladas.

Los bacilos del género Clostridium pueden identificarse por una serie de pruebas bioquímicas en las que se puede considerar la fermentación de azúcares como la glucosa, maltosa, sacarosa, lactosa, reducción de nitratos a nitritos y fermentación de la leche.

Adicional a las pruebas bioquímicas, suelen emplearse las llamadas pruebas especiales, que son todas aquellas pruebas que no necesariamente arrojan información sobre el metabolismo del microorganismo, sino que también pueden distinguir un aspecto morfológico o estructural; sin embargo su función principal junto con las tinciones es brindar una visión más completa que abarque aspectos bioquímicos, fisiológicos y morfológicos que orienten al profesional a una buena identificación de los microorganismos. En el caso del género Clostridium es común el empleo de la prueba de la catalasa.

#### Material

- Asa bacteriológica
- Mechero de Bunsen
- Tubos con caldo glucosado con sello
- Tubos con leche tornasol.
- Tubos con medio SIM
- Cultivo de Clostridium de la sesión anterior.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>99 / 107</b>

## Procedimiento

1. Inocular cuidadosamente cada prueba bioquímica con inóculo tomado del cultivo de la sesión anterior. Reportar los resultados a las 24 horas.

## CUESTIONARIO

¿Cuál es el fundamento de la prueba de catalasa?.

¿Qué resultados se obtienen en el caso del género Clostridium?.

¿Qué función desempeña el sello en los caldos glucosados?.

Explique de manera detallada el fundamento de la formación de un precipitado negro en la prueba de SIM.

Explique de manera detallada el fundamento de la formación de indol en la prueba de SIM.

¿Qué diferencia hay entre coagulo y coajo en la prueba de leche tornasol?.

## Modulo Endocrinología

En este modulo se hace una revisión bibliografica de articulos en Ingles, los cuales se seleccionan para su posterior presentación y traducción.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>100 / 107</b>

## Reglamento del Laboratorio de Microbiología

- Para el trabajo dentro del laboratorio es obligatorio el uso de bata, la cual deberá estar correctamente abotonada. No se permitirá el trabajo e inclusive la permanencia de los alumnos en el laboratorio sin bata, durante las sesiones de trabajo.
- La tolerancia para el ingreso a la clase de laboratorio será de 10 minutos, después de este tiempo el alumno podrá ingresar a la clase, sin embargo, tendrá inasistencia.
- Está estrictamente prohibido fumar e ingerir alimentos dentro del laboratorio.
- Cada equipo es responsable de su material, la limpieza del mismo y de la mesa.
- El material de laboratorio será prestado mediante un vale y credencial vigente a cada equipo.
- La credencial y vale serán devueltos, siempre y cuando no exista ningún adeudo de material.
- La puerta siempre permanecerá cerrada mientras se lleva a cabo la práctica.
- Quedan estrictamente prohibidas las visitas dentro del laboratorio.
- Al inicio del año se programarán las sesiones prácticas, seminarios y exámenes finales, de acuerdo con el calendario oficial vigente. Se publicará en un lugar visible.
- En caso de suspensión de algunas de las sesiones por una causa de fuerza mayor, esta será reprogramada por los profesores.
- Ningún alumno podrá retirarse si la sesión práctica no ha concluido. Sólo con autorización de algún profesor.
- Cualquier imprevisto será resuelto por los profesores de laboratorio.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>101 / 107</b>

- No dejar que los alumnos trabajen solo en el laboratorio.
- Favor de indicar a los alumnos que deben desocupar y limpiar sus gavetas al final del curso.

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML04	10/ 11 /2017	1	102 / 107

## MANEJO DE RESIDUOS BIOLÓGICO-INFECIOSOS

### ***NOM-087-Ecol-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.***

#### **Objetivos**

- Entender de manera clara la NOM-087 –Ecol-SSA1-2002
- Enlistar las normas aplicables al trabajo dentro del laboratorio.
- Aplicar las normas vigentes relacionadas al trabajo en el laboratorio

La Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, define como residuos peligrosos a todos aquellos residuos que por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables y biológico-infecciosas, representan un peligro para el equilibrio ecológico o el ambiente; mismos que serán manejados en términos de la propia ley, su Reglamento y normas oficiales mexicanas que expida la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales previa opinión de diversas dependencias que tengan alguna injerencia en la materia, correspondiéndole a la citada SEMARNAT su regulación y control.

*La presente Norma Oficial Mexicana (NOM) establece la clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos así como las especificaciones para su manejo. Esta NOM es de observancia obligatoria para los establecimientos que generen residuos peligrosos biológico-infecciosos y los prestadores de servicios a terceros que tengan relación directa con los mismos.*

*Los desechos generados deberán ser separados de acuerdo a sus características biológicas y estado físico, tal como se muestra en la siguiente tabla.*

<b>Tipo de residuo</b>	<b>Estado físico</b>	<b>Recipiente</b>	<b>Color</b>
<b>Sangre</b>	Líquido	Recipientes herméticos	Rojo
<b>Cultivos y cepas de agentes infecciosos</b>	Sólidos	Bolsa de polietileno	Rojo
<b>Patológicos</b>	Sólido	Bolsa de polietileno	Amarillo
	Líquido	Recipientes herméticos	Amarillo
<b>Residuos no anatómicos</b>	Sólido	Bolsa de polietileno	Rojo
	Líquido	Recipientes herméticos	Rojo
<b>Objetos punzocortantes</b>	Sólidos	Recipientes rígidos	Rojo



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-MC-ML04</b>	<b>10/ 11 /2017</b>	1	<b>103 / 107</b>

### ***Inactivación de muestras***

*Cuando se carezca de recipientes herméticos y se tengan que desechar tubos con sangre, ya sea anti coagulada o coagulada, o bien cuando se trate de otro fluido, éstos deberán ser inactivados antes de ser eliminados, para lo cual se utiliza una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%, se vierte el contenido del tubo y se deja por unos 30 minutos, transcurrido este tiempo se desecha por el desagüe, hay que considerar que para evitar que los posibles coágulos tapen la cañería, debe hacerse pasar el contenido*

*inactivado por un colador. El tubo así podrá ser desechado a la basura municipal y los restos de coágulos serán envueltos en papel periódico y desechados a la bolsa roja.*

CONCESION