



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA



QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

**DISEÑO DE PRÁCTICAS MICROBIOLÓGICAS
EMPLEANDO MÉTODOS TRADICIONALES Y MODERNOS
PARA EL DIAGNÓSTICO DE MICROORGANISMOS
PATÓGENOS EN EL SISTEMA GENTOURINARIO.**

AVILÉS VILLADA ANTONIO

NO. CUENTA: 303259378

Orientación: Bioquímica Clínica

Área específica del proyecto: Microbiología Clínica

Nombre del director: M. en C. Roberto Cruz González Meléndez

Opción de titulación: Apoyo a la Docencia

Con apoyo de: Proyecto PAPIME PE 209012

M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
Prof. de tiempo completo



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"

DIRECCIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR PRESENTE.

Comunico a usted que el alumno AVILÉS VILLADA ANTONIO con número de cuenta 30325937-8 de la carrera de Q. F. B., se le ha fijado el día 25 del mes de Noviembre de 2013 a las 13:00 hrs., para presentar examen profesional, que tendrá lugar en la sala de exámenes profesionales Campus II de esta Facultad, con el siguiente jurado:

- | | | |
|------------|--|--|
| PRESIDENTE | Q.F.B. MARÍA DE LAS MERCEDES ZAMUDIO DURÁN | |
| VOCAL | M. en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ | |
| SECRETARIO | Q.F.B. GEORGINA E. RIOS OLIVERA | |
| SUPLENTE | Q.F.B. MANUEL ORDUÑA SÁNCHEZ | |
| SUPLENTE | Q.F.B. GEORGINA G. BERMEJO TORRES | |

El título de la tesis que se presenta es : **Diseño de Prácticas Microbiológicas Empleando Métodos Tradicionales y Modernos para el Diagnóstico de Microorganismos Patógenos en el Sistema Genitourinario.**

Opción de titulación: **Actividad de Apoyo a la Docencia**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, D.F. a, 07 de Octubre de 2013.

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
DIRECTOR

DIRECCIÓN Vo.Bo.

RECIBÍ:

OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES Y DE GRADO

DRA. MARTHA A. SÁNCHEZ RODRÍGUEZ
JEFA DE LA CARRERA DE Q.F.B.

DEDICATORIA

Primeramente, dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso en mi camino, por darme fuerza, fortaleza e iluminar mi mente y corazón para poder concluir esta etapa de mi vida y por haberme dejado vivir en esta familia que tanto me ha apoyado durante toda mi vida de estudiante.

A mis padres, el Dr. Antonio Avilés Cerón y la Enfermera Supervisora Ma. De Lourdes Villada Villa, por darme la educación para guiar mi vida, aconsejado para tomar buenas decisiones, escuchado en mis mejores y peores momentos, orientado para seguir un camino correcto y acertado y, sobre todo, soportado tantos años de vida estudiantil.

A mi hermano David Avilés Villada por darme tantos momentos alegres, tantos enojos y escucharme cuando es necesario además de apoyarme siempre para seguir adelante.

A todos mis tíos que siempre han estado conmigo en los mejores momentos que he vivido, muchas gracias por todas sus palabras de aliento y de regaño cuando son necesarias y, con especial dedicatoria, a mis tías Cony, Paty y a mis abuelitos por estar conmigo cuidándome, guiándome y siempre haberme dado palabras de experiencia y dedicación.

A mis primas, que son más mis hermanas, por estar siempre conmigo ayudándome y compartiendo momentos inolvidables. Las amo.

A mis amigos de toda la carrera Alejandro Zarraga, Elia Balbuena, Lissete Vera, Ana Miguel, Ana Lizbeth, Ana Laura, Odett Martell, Angie, Viridiana, Araceli, Víctor, Italia, Gerardo, Carmencita, Ana "tacones", Silvia, David, Erik, Chucho, Roxana, Franco y demás amigos y compañeros con quienes compartí excelentes experiencias, grandes momentos que han marcado mi vida, mi corazón y que recordaré siempre con gran alegría.

Comienza a ser feliz, desde y partir de hoy. Que tu búsqueda de respuestas, no tengan como meta el producto final. Disfruta el camino hacia tus logros. No te olvides, que el trayecto, suele ser más largo, que el resultado.

La capacidad de soñar, supera, a la realidad, y a los propios sueños.

Silvia Arzac

AGRADECIMIENTOS

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme abierto las puertas y dejarme cumplir una meta muy importante en mi vida.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza a la cual pertenezco y es un orgullo ser egresado de esta gran facultad. Muchas gracias por el conocimiento y apoyo durante toda la carrera y en especial, la oportunidad de realizar este proyecto de tesis para poder culminar mis estudios de Licenciatura.

A mi Director de Tesis el M. en C. Roberto Cruz González Meléndez, por haberme dado la oportunidad y confianza para realizar este trabajo y formar parte del proyecto. Muchas gracias por su tiempo, su dedicación y paciencia para guiarme siempre de una forma amigable escuchándome, resolviendo dudas y compartiendo sus conocimientos.

A mis sinodales la maestra Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán, la Q.F.B. Georgina E. Ríos Olivera, al Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez y la Q.F.B. Georgina G. Bermejo Torres por su valioso tiempo al revisar este trabajo y señalarme las correcciones pertinentes para mejorarlo.

A mi prima Citlali y a mi amiga diseñadora Paula Andrea Miranda por haberse tomado un momento de su tiempo para poder ayudarme en la realización de la portada de tesis.

A mi amiga Odett Martell por su tiempo al realizarme observaciones y cuestionamientos para mejorar este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	MARCO TEÓRICO	3
1.	APARATO GENITAL	3
1.1	Anatomía y fisiología del aparato reproductor femenino y masculino.....	3
1.2	Microflora vaginal normal.....	8
1.3	Composición y estructura de la comunidad microbiana	8
1.4	Funciones fisiológicas de la microflora normal.....	11
1.5	Alteraciones patológicas de la microflora normal.....	12
2.	INFECCIONES DEL APARATO GENITAL	12
2.1	Infecciones de transmisión sexual y otras infecciones del aparato genital	12
2.2	Epidemiología	13
2.3	Infecciones de transmisión sexual (ITS) y otras infecciones del tracto genital inferior	14
2.4	Lesiones de la piel y las mucosas causadas por ITS	20
2.5	Infecciones de los órganos de la reproducción y otras infecciones del tracto genital superior... ..	27
3.	DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DE LAS INFECCIONES GENITALES	31
3.1	Infecciones del tracto genital inferior	31
3.2	Lesiones de la piel y las mucosas genitales	37
3.3	Diagnóstico de las infecciones por clamidia.....	39
4.	PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE DETECCIÓN DE LOS PATÓGENOS CAUSALES DE LAS ITS	41
4.1	Detección de Gonorrea Gonocócica.....	43
4.2	Detección de <i>Chlamydia trachomatis</i>	44
4.3	Diagnóstico de Tricomoniasis.	44
4.4	Diagnóstico de Candidiasis	45
5.	EL SISTEMA URINARIO	47
5.1	Microorganismos residentes de las vías urinarias	51
5.2	Infecciones del Tracto Urinario (ITU)	53
5.3	Epidemiología	53
5.4	Agentes etiológicos.....	54
5.5	Tuberculosis renal.....	55
5.6	Contagio y etiología de las ITU	57
5.7	Infección viral causantes de ITU.....	58
5.8	Otros tipos de infección que causan ITU	58
6.	PATOGENIA DE LAS INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO	58
6.1	Factores predisponentes a la infección.....	58

6.2	Tipos de infección y sus manifestaciones clínicas	60
6.3	Mecanismos defensivos del huésped	64
6.4	Manifestaciones clínicas de las ITU	65
7.	DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO	66
7.1	Bacteriuria significativa	66
7.2	Toma de muestra	66
7.3	Transporte de muestras	70
8.	EXAMEN DE ORINA	70
8.1	Detección de la bacteriuria significativa	71
8.2	Procedimientos de detección sistemática	72
8.3	Pruebas bioquímicas	74
8.4	UROCULTIVO	76
9.	Principio del método moderno de diagnóstico: Sistema API 20	79
10.	Principio del método actual de diagnóstico: medios cromogénicos	80
11.	Simuladores Anatómicos	81
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	82
IV.	OBJETIVOS	83
	Objetivo General	83
	Objetivos específicos	83
V.	HIPÓTESIS	84
VI.	DISEÑO EXPERIMENTAL	85
	Tipo de estudio	85
	Tipo de Población	85
	Variables	85
	Operacionalización de variables	86
	Materiales	87
	Equipo	88
	Metodología	89
VII.	RESULTADOS	90
VIII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	269
IX.	CONCLUSIONES	275
X.	PROPUESTAS PARA EL MEJORAMIENTO DE LA PRACTICA	276
XI.	REFERENCIAS	277

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones de los aparatos genital y urinario son frecuentes y variadas; algunas son relativamente insignificantes y autolimitadas, pero otras pueden tener graves consecuencias.

El estudio de los agentes patógenos en el área de microbiología nos proporciona la información acerca del tipo de agente etiológico para así poder realizar un correcto diagnóstico y tratamiento al paciente. Especialmente en esta área se estudian las características morfofisiológicas y bioquímicas de éstos microorganismos para poder identificarlos, pero algunas veces llega a ser complicada esta tarea porque no es clara la forma de realizar una correcta toma de muestra y por tal motivo se puede llegar a tener errores que afectan el resultado.

Conforme al programa del laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza, las unidades están organizadas de acuerdo a aparatos y sistemas pero en las prácticas no se realiza ningún tipo de toma de muestra para poder realizar el diagnóstico microbiológico, simplemente se establecen por taxonomía bacteriana. Por tal motivo se realizaron prácticas encaminadas a la identificación de microorganismos causantes de enfermedad en la zona urogenital, las cuales se organizaron acorde a aparatos y sistemas del cuerpo humano para así tener una mejor visión de cómo se realiza en los laboratorios clínicos una correcta toma de muestra, aislamiento e identificación de los microorganismos patógenos.

Las prácticas que se diseñaron corresponden al módulo 5 “Aparato genitourinario”, estas prácticas tienen como apoyo a los simuladores anatómicos femenino y masculino que ayudan en el proceso de toma de muestra, además de que cada práctica está diseñada en base a un control de calidad, medidas de bioseguridad, métodos de identificación novedosos, una estructura ordenada y entendible.

En el presente trabajo se realiza una investigación bibliográfica para conocer de forma general, la anatomía y fisiología femenina y masculina del aparato genitourinario además de mostrar los distintos microorganismos comensales y patógenos que se pueden encontrar en las distintas zonas dentro del mismo aparato genital. También, se mencionan las patologías más comunes, ya sean endógenas o exógenas, encontradas en el laboratorio clínico y la forma de identificar al microorganismo causal.

Después de la revisión bibliográfica, se encuentran las prácticas aplicadas y validadas por los alumnos de noveno semestre, específicamente para la asignatura de Microbiología Médica las cuales establecen los métodos que se van a seguir de acuerdo al tipo de muestra con que se cuente, cepas bacterianas o muestra clínica. Esta metodología es innovadora ya que se divide en método tradicional y método moderno. Dentro del método tradicional se utilizan los medios de cultivo y baterías de pruebas bioquímicas comunes; en el método moderno se utilizan medios actuales y más específicos de identificación como son los medios cromogénicos y el Sistema API 20.

Ambos métodos siguen un control de calidad dividido en: fase preanalítica, analítica y postanalítica, para asegurar la confiabilidad de los resultados y su reproducibilidad dentro del laboratorio clínico. Además, cuentan con las medidas de bioseguridad, los procedimientos tienen una redacción clara con

imágenes acorde a cada paso y se explica detalladamente el uso de los medios cromogénicos y sistema API en cada práctica.

En la etapa preanalítica se obtienen los datos personales del paciente y el tipo de estudio a realizar, se le indican las condiciones previas a la toma de muestra para obtener una muestra representativa. También se mencionan los reactivos que serán empleados y el material necesario para la toma de muestra.

En la etapa analítica se describen los métodos a seguir redactados de manera clara y sencilla además de contar con imágenes propias paso a paso para ser aplicadas por el personal de microbiología. Cuenta con las técnicas tradicionales y modernas estandarizadas que incluyen los reactivos y equipo para obtener un resultado certero. Se muestra la forma de obtención de la muestra apoyado con los simuladores anatómicos, el uso del material, el uso de los medios a utilizar de acuerdo a la metodología a seguir, medios de transporte, pruebas bioquímicas y medios modernos de identificación como el sistema API y medios cromogénicos.

En la etapa postanalítica se reportan los hallazgos observados y se colocan en un apartado especial de laboratorio clínico mencionando las características de los microorganismos encontrados y su sensibilidad a los antibióticos.

Cabe mencionar que estas prácticas cuentan con puntos importantes, como los mencionados anteriormente, que no se encuentran en ninguna otra práctica de microbiología médica y que son esenciales en la formación académica de los alumnos. Posteriormente, fueron evaluadas por los alumnos de noveno semestre y cada validación se encuentra al final de cada práctica, con estos resultados las prácticas fueron aprobadas para ser incluidas dentro del manual de prácticas actual de Microbiología Médica.

La realización y estructuración de las prácticas fueron realizadas en la Clínica Multidisciplinaria Zaragoza y la validación de cada práctica fue realizada en el Laboratorio de Microbiología Médica con los alumnos de noveno semestre de la FES Zaragoza.

Estas prácticas se pretenden implementar en el área de microbiología médica y en áreas afines, por lo que se recomienda que sean conjuntadas en un solo manual de diagnóstico clínico que ayude no solo al alumno en su formación académica, sino también al personal que vaya a realizar este tipo de estudio.

II. MARCO TEÓRICO

1. APARATO GENITAL

1.1 Anatomía y fisiología del aparato reproductor femenino y masculino.

Genitales femeninos externos ⁽¹⁾

La vulva, u órganos genitales externos, constan de monte de Venus, labios mayores, labios menores, clítoris, glándulas vestibulares, vestíbulo vaginal, orificio vaginal y abertura uretral (**Fig. 1-1**). La sínfisis del pubis está cubierta por una almohadilla de tejido graso denominada monte del pubis o de Venus, que en la mujer pospúber está cubierto de grueso vello. Extendiéndose hacia abajo y hacia atrás desde el monte de Venus, se encuentran los labios mayores, integrados por dos pliegues de tejido adiposo cubiertos de piel. Los labios mayores ofrecen un aspecto diferente, dependiendo de la cantidad de tejido graso que rodee el área circundante. Las superficies externas de los labios mayores de la mujer pospúber también están cubiertos de vello.

Los labios menores se encuentran en el interior de los mayores, frecuentemente ocultos entre ellos. Son dos pliegues planos, rojizos y sin vello. Los labios menores confluyen en la parte anterior de la vulva, donde cada labio se divide en dos láminas: el par inferior forma el frenillo del clítoris y el par superior forma el prepucio. Entre el frenillo y el prepucio se aloja el clítoris, una pequeña yema de tejido eréctil, homólogo del pene y centro principal de la excitación sexual. Posteriormente, los labios menores se transforman en dos crestas que se funden para constituir una comisura.

Los labios menores delimitan una zona denominada vestíbulo, que tiene seis aberturas: la uretra, la vagina, los conductos de las dos glándulas de Bartolino y los dos de las glándulas de Skene. Los dos tercios inferiores de la uretra descansan inmediatamente por encima de la pared anterior de la vagina y terminan en el meato uretral, en la línea media del vestíbulo, justo por encima de la abertura vaginal y por debajo del clítoris. Los conductos de Skene drenan un grupo de glándulas uretrales y se abren en vestíbulo a cada lado de la uretra. Las aberturas de los conductos pueden ser visibles.

Genitales externos femeninos.
De Bobak y Jensen, 1993.

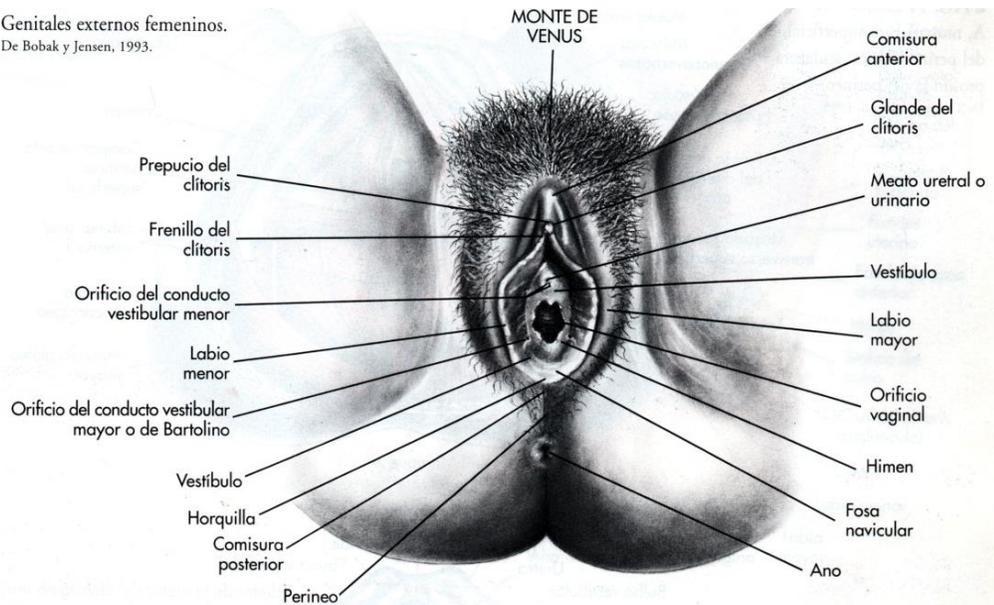


Figura 1-1. Genitales externos femeninos

La abertura vaginal ocupa la porción posterior del vestíbulo y su forma y tamaño son variables. Rodeando esta abertura, se encuentra el himen, una membrana de tejido conectivo que puede ser circular, semilunar o en forma de fimbrias. Una vez que se desgarró el himen y que queda permanentemente dividido, sus bordes pueden desaparecer o cicatrizar, dejando los vestigios himenales. Las glándulas de Bartolino, localizadas posteriormente a cada lado del orificio vaginal, se abren a los lados del vestíbulo, en el hueco entre los labios menores y el himen. Las aberturas ductales no suelen ser visibles. Durante el período de excitación sexual, las glándulas de Bartolino, secretan moco en el introito para lubricarlo.

Genitales internos ⁽¹⁾

La vagina es un tubo musculoso membranoso con arrugas transversales durante la fase reproductora de la vida. Se inclina posteriormente, formando un ángulo aproximado de 45° con respecto al plano vertical del organismo (**Fig. 1-2**). La pared anterior de la vagina está separada de la vejiga y de la uretra por tejido conectivo denominado septo vesicovaginal. La pared vaginal posterior queda separada del recto por el septo rectovaginal. Las paredes anterior y posterior de la vagina suelen estar próximas, con un pequeño espacio entre ellas. El extremo superior de la vagina es un manguito ciego, donde se proyecta el cuello uterino. La bolsa que se forma alrededor del cuello se divide en los fornix anterior, posterior y lateral. Éstos tienen gran importancia clínica, ya que los órganos internos de la pelvis pueden palparse a través de esas finas paredes. La vagina transporta el flujo menstrual desde el útero, sirve de parte terminal del canal del parto y es el órgano receptor del pene durante el acto sexual.

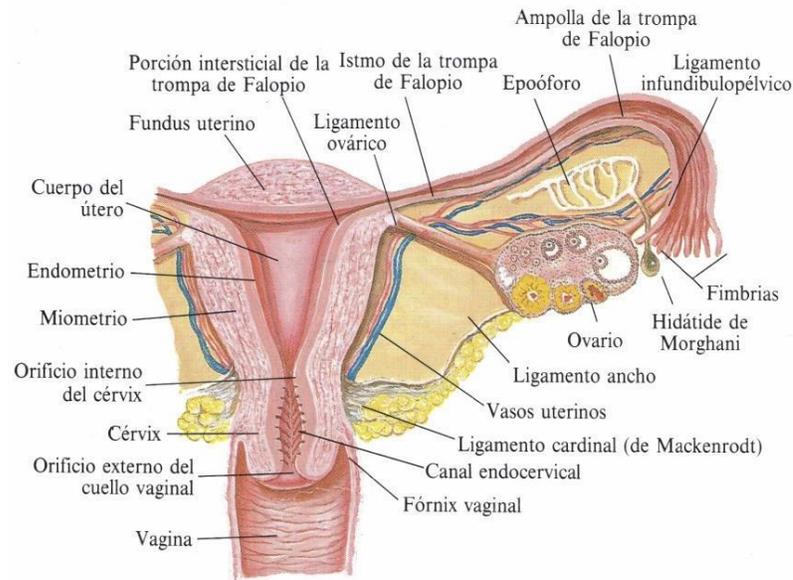


Figura 1-2 Genitales internos femeninos.⁽¹⁾

El útero se encuentra en la pelvis entre la vejiga y el recto. Tiene forma de pera invertida y es un órgano muscular relativamente móvil (**Fig. 1-3**). Está cubierto por peritoneo y limitado por el endometrio, que se descama durante la menstruación. El fondo de saco rectouterino (saco de Douglas) es un pliegue profundo formado por el peritoneo cuando éste recubre la porción posterior e inferior del útero y la parte superior de la vagina, separándola del recto. El útero está aplanado anteroposteriormente y suele estar inclinado hacia adelante en ángulo de 45°, aunque puede estar en anteversión, anteflexión, retroversión y retroflexión. En la mujer nulípara, su tamaño es aproximadamente de 5,5 a 8 cm de longitud, 3,5 - 4 cm de anchura y 2 - 2,5 cm de espesor. El útero de la mujer puede tener 2-3 cm más en cualquiera de sus dimensiones. El peso del útero no gestante es de aproximadamente 60-90g.

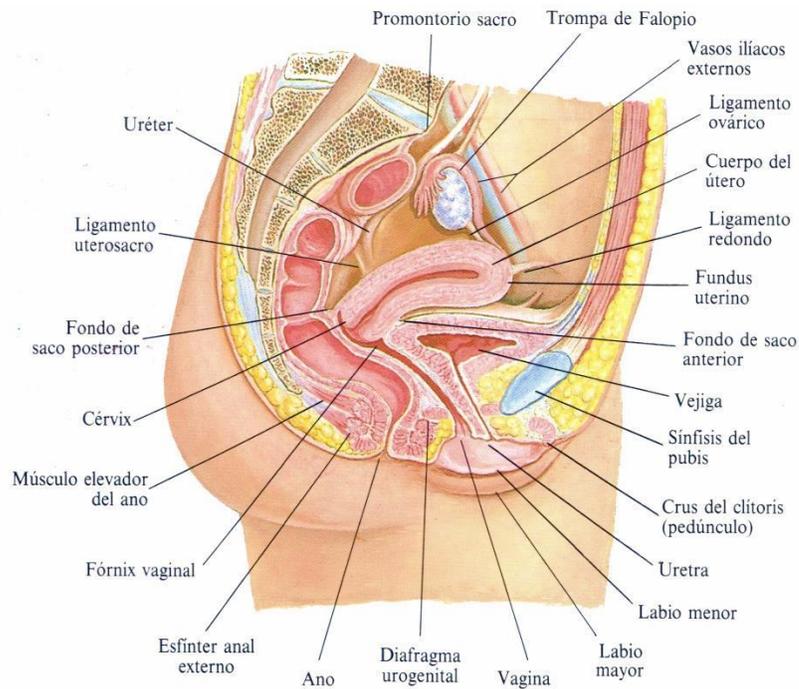


Figura 1.3 Corte mediosagital de los órganos pélvicos femeninos.⁽¹⁾

Genitales masculinos ⁽¹⁾

El pene, los testículos, el escroto, la próstata y las vesículas seminales forman los órganos genitales masculinos (**Fig. 1-4**).

La función fisiológica del pene es servir como órgano excretor final de la orina y, cuando está en erección, como método para introducir el esperma en la vagina. El pene consta de dos cuerpos cavernosos, que forman su dorso y sus laterales, y del cuerpo esponjoso, que contiene la uretra. El cuerpo esponjoso se ensancha en el extremo distal, para formar el glande del pene. El orificio uretral es una abertura, en forma de pequeña hendidura, situada aproximadamente 2 mm en dirección ventral con respecto a la punta del glande. La piel del pene es delgada, redundante para permitir la erección y sin grasa subcutánea. Su pigmentación suele ser más oscura que la piel del resto del cuerpo (**Fig. 1-5**).

A no ser que el paciente haya sido circuncidado, el prepucio cubre el glande. En el varón no circunciso, se observa la formación de esmegma debida a la secreción de material sebáceo por parte del glande y las células epiteliales de descamación procedentes del prepucio. Su aspecto es de material caseoso, y cubre el glande y el fórnix del prepucio.

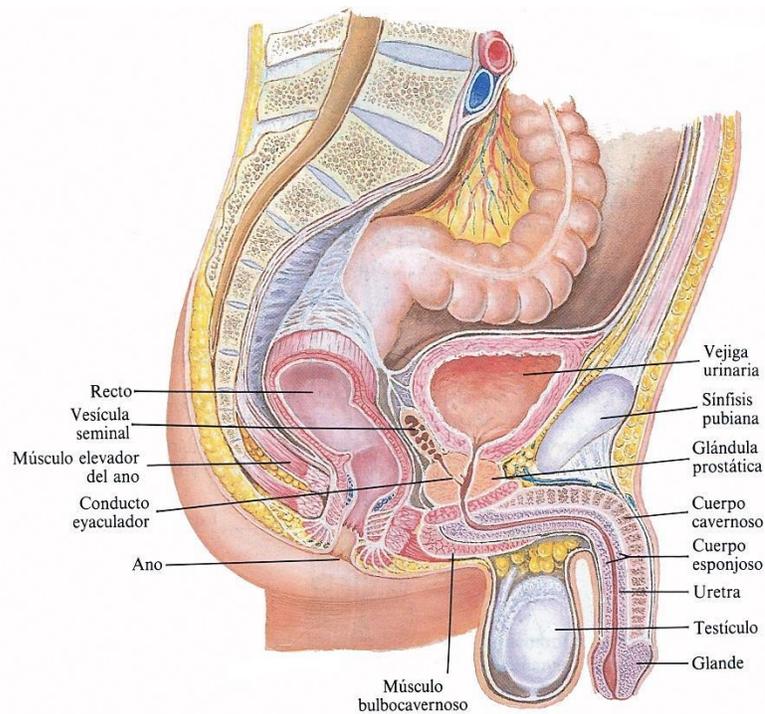


Figura 1-4 Órganos pélvicos masculinos ⁽¹⁾

El escroto, al igual que el pene, suele estar más pigmentado que el resto de la piel. Un tabique divide medialmente el escroto en dos sacos colgantes, cada uno de los cuales contiene un testículo, un epidídimo, un cordón espermático y una cubierta muscular que permite su contracción y relajación. La temperatura del testículo se controla a través de la alteración de la distancia entre los testículos y el cuerpo, mediante actividad muscular. Para su correcta evolución, la espermatogénesis requiere mantener una temperatura inferior a los 37°C.

Los testículos son los responsables de la producción de espermatozoides y de testosterona. El testículo del adulto es ovoide, y mide aproximadamente 4 x 3 x 2 cm. El epidídimo es una estructura blanda, en forma de coma, que se localiza en la parte superior y posterolateral del testículo del 90% de los varones sanos. Actúa como almacén y lugar de paso y maduración del espermatozoides. El conducto deferente comienza en la cola del epidídimo, asciende con el cordón espermático, atraviesa el conducto inguinal y se une con las vesículas seminales para formar el conducto eyaculador.

La glándula prostática, que recuerda a una gran castaña, tiene un tamaño similar al del testículo y rodea la uretra y el cuello de la vejiga. La función fisiológica de la próstata y de sus secreciones aún no está del todo clara. Produce la mayor parte del líquido eyaculador, que contiene fibrinolisisina. Esta enzima licua el semen coagulado, proceso importante para una adecuada motilidad del espermatozoides. Las vesículas seminales se extienden desde la próstata hasta la superficie de la vejiga.

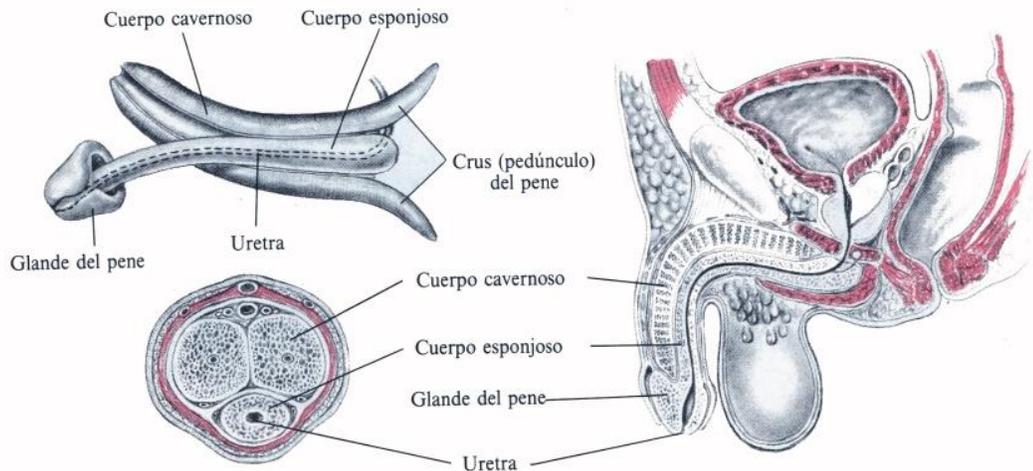


Figura 1-5 Anatomía del pene. ⁽¹⁾

1.2 Microflora vaginal normal

Evidentemente, las condiciones microambientales del hábitat colonizable vaginal son variables a lo largo de la vida, ya que refleja de forma muy sensible la variabilidad de los niveles hormonales. Incluso se producen modificaciones en la flora microbiana vaginal durante el ciclo menstrual: existe un aumento de la densidad microbiana en la primera parte del ciclo, que afecta tanto a la flora grampositiva (*Lactobacillus*) como a microorganismos anaerobios. El nivel de hormonas estrogénicas es paralelo al incremento de la densidad microbiana. La hipótesis clásica para explicar esta relación está basada en el efecto de proliferación del epitelio vaginal mediado por estrógenos, con aumento del depósito de glucógeno. El glucógeno es aprovechado por la flora fermentativa (esencialmente *Lactobacillus* y probablemente, *Bifidobacterium* y *Peptostreptococcus*). Se ha sugerido también un papel estimulador directo o indirecto (secreción de un factor de crecimiento bacteriano) de los estrógenos. La progesterona, por el contrario, no parece ejercer efectos mayores sobre la flora microbiana. En la semana previa a la menstruación se detectan disminuciones importantes en los recuentos de bacterias vaginales. En todo caso, la flora grampositiva vaginal se encuentra firmemente adherida a la mucosa y tiende a formar un crecimiento en microcolonias. ⁽²⁾

1.3 Composición y estructura de la comunidad microbiana ⁽²⁾

La flora normal de la mujer durante el período fértil está compuesta predominantemente por distintas especies de microorganismos:

Cuadro 1.1 Composición de la comunidad microbiana ⁽²⁾

Tipo de microorganismos	ejemplos
Frecuentemente encontrados	
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. cellobiosus</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. jensenii</i> <i>L. plantarum</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Bacilos y cocos grampositivos anaerobios	
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. catenulatum</i> <i>B. detlium</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. prevotii</i> <i>P. magnus</i> <i>P. asaccharolyticus</i> <i>P. micros</i> <i>P. tetraaius</i> <i>P. anaerobius</i>
En mucho menor grado	
<i>Streptococcus</i>	<i>S. acidominimus</i>
<i>Enterococcus</i>	
<i>Actinomyces</i>	
<i>Arachnia</i>	
Flora normal de la mujer sexualmente activa	
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	
<i>Mycoplasma hominis</i>	
Anaerobios gramnegativos	
<i>Bateroides</i> (<10 ⁵ /ml)	<i>B. bivius</i> <i>B. disiens</i> <i>B. fragilis</i>
Flora normal anaerobia	
<i>Mobiluncus</i>	<i>M. mulieris</i> <i>M. curtisii</i>
Nunca encontrados	
<i>Listeria</i>	
Flora no común	
Enterobacterias	<i>Escherichia coli</i>

En condiciones normales, la flora anaerobia puede exceder unas 10 veces a los microorganismos aerobios microaerófilos: recuentos típicos son 10^9 bacterias/ml de anaerobios y 10^8 bacterias/ml de aerobios.

Se pueden encontrar normalmente bacterias de los grupos *Enterococcus* e incluso *Streptococcus agalactiae* (el estado del portador implica algún riesgo para el recién nacido), pero nunca *Listeria*.

Durante el periodo de gestación se producen cambios en la ecología vaginal que repercuten en la composición de la microflora. Los cambios son progresivamente mayores a lo largo del embarazo siendo máximos en el tercer trimestre. Los principales cambios son los siguientes:

- a) reducción de la flora anaerobia. En particular de la flora gramnegativa (*Bacteroides*);
- b) aumento de la flora lactobacilar.
- c) aparición o aumento del número de levaduras (*Candida*). Estos cambios son rápidamente reversibles en el posparto a partir del tercer día se produce un aumento significativo de la flora anaerobia; a las 6 semanas la recuperación de la comunidad vaginal normal es completa.

Durante el período prepuberal, con una mucosa no sometida a efectos hormonales significativos, la flora vaginal es muy diferente. Las bacterias anaerobias gramnegativas son predominantes, incluyendo *Bacteroides* del grupo *fragilis* y *Porphyromonas* (*Bacteroides* del grupo *melaninogenicus*). Son también abundantes los microorganismos de origen cutáneo, *Staphylococcus epidermidis* y *Propionibacterium*, y en un tercio de los casos pueden encontrarse levaduras. La población de *Lactobacillus* es escasa pero a menudo está presente. En los primeros años de la vida tampoco es infrecuente la aparición de *Enterobacteriaceae*, probablemente por una mayor facilidad de acceso desde el tubo digestivo (**Figura 1-6**).

En la menopausia la flora es similar a la del período prepuberal, con *Enterobacteriaceae*, *Bacteroides-Porphyromonas* y reducción de la población lactobacilar. *Lactobacillus* puede mantenerse sin embargo en tasas relativamente altas si se instituye un tratamiento con estrógenos.

No deja de sorprender la analogía, de la flora vaginal con la flora oral, lo que incluye colonizadores comunes, como *Bacteroides* del grupo *melaninogenicus*, *B. gingivalis*, *B. loeschii*, *Actinomyces viscosus*, especies de *Neisseria* y sobre todo en la edad infantil, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* y *Haemophilus influenzae*. Al parecer, en ambos hábitat hay receptores epiteliales comunes, como el ácido siálico; en todo caso, habría que considerar si en el proceso fisiológico de adquisición de flora vaginal en la niña interviene no sólo la flora vaginal materna (parto) sino también la contaminación por flora orofaríngea.

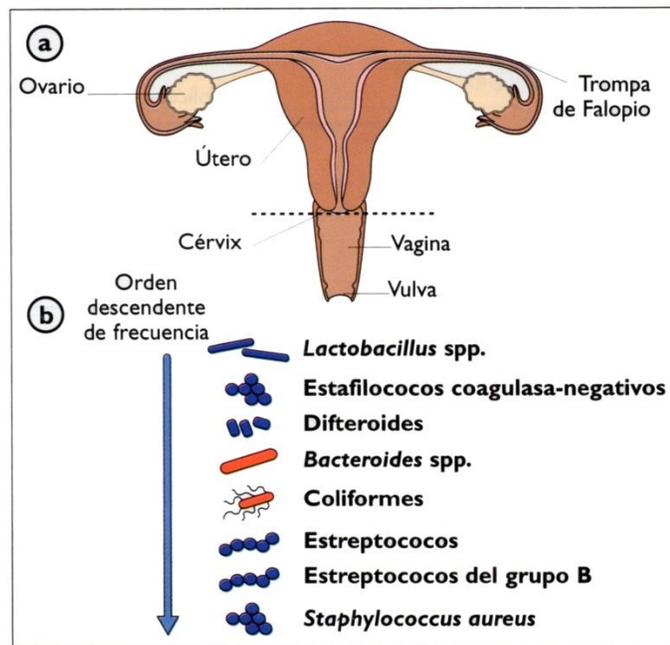


Figura 1-6 (a) Esquema correspondiente al tracto femenino, (b) bacterias que constituyen la flora vaginal normal. ⁽³⁾

1.4 Funciones fisiológicas de la microflora normal ⁽²⁾

Las modificaciones de la flora durante el período de gestación parecen dirigirse a la consecución de tres objetivos principales: a) protección de la infección vaginal durante el embarazo, por el aumento de flora acidófila y la reducción del número de *Bacteroides*; b) disminución de riesgos para la madre y el feto en la fase bacteriemia del parto normal, y c) suministro de flora adecuada al recién nacido, quien a su paso por el canal del parto, "hereda" sus primeros microorganismos de la madre. En cierto sentido, el intestino del recién nacido sigue la misma estrategia de defensa frente a microorganismos potencialmente peligrosos que la propia vagina materna. La alteración en la flora normal "fisiológica" en el tercer trimestre del embarazo puede determinar consecuencias indeseadas: existen estudios que demuestran que el riesgo de prematuridad es mayor si la colonización es anormal, por ejemplo si existen concentraciones elevadas de *Bacteroides* o *Ureaplasma*.

Algunos miembros de la flora vaginal son inhibitorios del desarrollo de microorganismos patógenos, como *Neisseria gonorrhoeae*. Algunos *Lactobacillus* o *Streptococcus* del hábitat endocervical impiden *in vitro* el desarrollo de este microorganismo; las mujeres que son portadoras de bacterias "inhibitorias" tienen un riesgo menor de adquisición de *Neisseria gonorrhoeae* a partir de su pareja colonizada. La mayor cantidad de flora en la primera parte del ciclo hace, de hecho, menos probable el contagio en este período. La capacidad inhibitoria de *Lactobacillus* respecto a *Staphylococcus aureus*, que puede quedar reducida por el uso de tampones vaginales (que absorberían factores de crecimiento para *Lactobacillus*) se ha implicado en la patogenia del síndrome del shock tóxico.

1.5 Alteraciones patológicas de la microflora normal

La referida mayor cantidad neta de microorganismos en la primera fase del ciclo menstrual puede tener algunas consecuencias: al menos en un estudio sobre infecciones posthisterectomía, la frecuencia de éstas fue significativamente mayor cuando la intervención se había realizado en esta primera fase del ciclo. La histerectomía vaginal o abdominal realizada en una mujer en edad fértil, por su parte, disminuye las poblaciones vaginales de *Lactobacillus*, incrementando la presencia de anaerobios gramnegativos (*Bacteroides*), *Staphylococcus aureus* y *Enterobacteriaceae*. La presencia de un tumor ginecológico causa efectos similares con un incremento aún mayor de las poblaciones anaerobias (*Porphyromonas*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium*, *Clostridium*). Estos hechos aumentan la probabilidad de infección quirúrgica. Incluso en ausencia de patología asociada, la flora característica de la mujer menopáusica incrementa la posibilidad de infección en cirugía ginecológica, en comparación con la de la mujer fértil (Figura 1-7).⁽²⁾

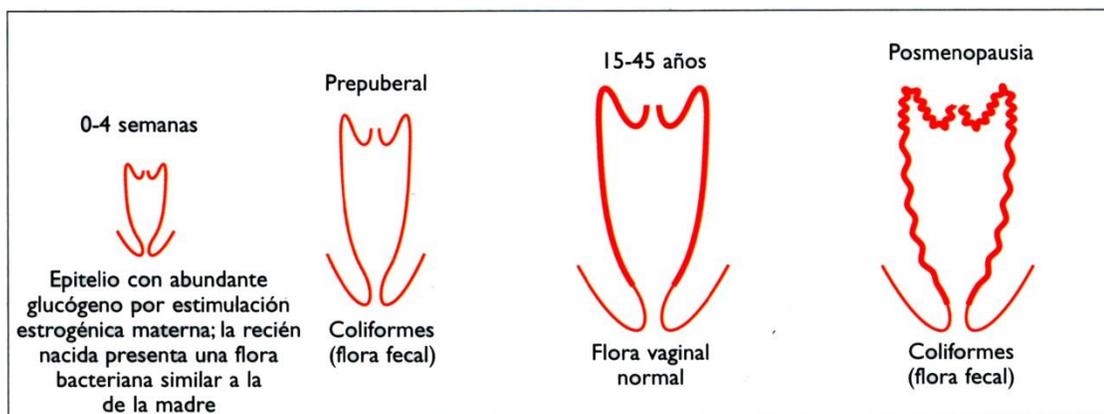


Figura 1-7 Modificaciones que tienen lugar en la flora bacteriana a lo largo de la vida.⁽³⁾

2. INFECCIONES DEL APARATO GENITAL

2.1 Infecciones de transmisión sexual y otras infecciones del aparato genital

Las infecciones del aparato genital pueden clasificarse como endógenas o exógenas. Las **infecciones exógenas** se adquieren durante la actividad sexual y se denominan enfermedades de transmisión sexual (ETS). Por el contrario, las **infecciones endógenas** son causadas por microorganismos integrantes de la flora genital normal del paciente.

En las mujeres las infecciones del aparato genital pueden dividirse según su localización en las del tracto inferior (vulva, vagina y cuello uterino) y las del tracto superior (útero, trompas uterinas, ovarios y cavidad abdominal). Las **infecciones del tracto inferior** por lo general se adquieren por contacto sexual o directo. Si bien los microorganismos que causan estas infecciones no suelen formar parte de la flora del tracto genital normal, algunos microorganismos que en condiciones normales están presentes en cantidades muy bajas pueden incrementarse lo suficiente para causar enfermedad. Las **infecciones del tracto superior** con frecuencia son una extensión de una infección del tracto inferior en la cual los microorganismos de la vagina o el cuello uterino ingresan en la cavidad uterina y, a través del endometrio, en las trompas uterinas y los ovarios. De manera similar, en el varón un

microorganismo puede diseminarse a lo largo de las superficies mucosas contiguas a partir de un sitio de infección del tracto genital inferior (esto es, la uretra) y causar infección en un órgano de la reproducción, como el epidídimo. ⁽⁴⁾

2.2 Epidemiología

De 1991 a 2002, la cervicovaginitis se ubicó entre los 20 principales diagnósticos en el primer nivel de atención y representó 38 % de las consultas a mujeres de 20 a 59 años.

En 2004, la cervicovaginitis en la unidad referida se situó en el decimotercer lugar de los principales motivos de consulta.

Dentro de la etiología de las cervicovaginitis, 22.6 % de los casos son producidos por *Gardnerella vaginalis*, 19.1 % por *Candida spp.*, 7.8 % por *Candida albicans* y 1.5 % por tricomonas.

En los últimos años se ha agregado a los principales agentes causales el estreptococo del grupo D en 11.8 % y el estreptococo beta hemolítico en 4.6 %, por lo que se recomienda realizar cultivo a todas las pacientes con sintomatología sugestiva. ⁽⁵⁾

El hábitat natural de *Gardnerella vaginalis* es la vagina, formando parte del 30-40% en mujeres sanas con flora vaginal normal. Se encuentra en concentraciones elevadas (100%) de mujeres con síntomas de vaginosis bacteriana y en uretra de la mayoría de las parejas masculinas de estas mujeres. No se considera una enfermedad de transmisión sexual (ETS) porque se puede padecerla infección sin actividad sexual. Sin embargo, también puede adquirirse por prácticas sexuales con reinfecciones frecuentes

La úlcera genital representa otro motivo frecuente de atención en urgencias, siendo el herpes la causa más frecuente de ésta, seguida de la sífilis. A su vez, la presencia de úlcera genital supone mayor riesgo para contraer la infección por el VIH y modifica el curso clínico de otras ETS; ahí radica la importancia de un adecuado enfoque desde la asistencia en urgencias. ⁽⁶⁾

La trichomonosis presenta una incidencia de 170 millones de casos anualmente a nivel mundial, de 3 a 10 millones en Estados Unidos y en México en el año 2002, la trichomonosis ocupó el segundo lugar entre las ETS, superada únicamente por la candidiasis urogenital (**Fig. 2-1**). La trichomonosis ha aumentado progresivamente desde 1996, tanto que al 2002 el número de casos casi se duplicó en México. Los cinco estados de la República Mexicana con mayor incidencia de trichomonosis en los últimos siete años son: Veracruz, Estado de México, Puebla, Chiapas y Michoacán. Estos datos sugieren que las medidas de control y prevención que se han implementado para las ETS debido a la epidemia del SIDA no han sido efectivas para reducir la incidencia de trichomonosis en nuestro país. El problema puede ser aún mayor dado que no se cuenta con un método de diagnóstico 100% efectivo y de que más del 50% de los pacientes son asintomáticos, por lo que las cifras reportadas podrían estar subestimadas. ⁽⁷⁾

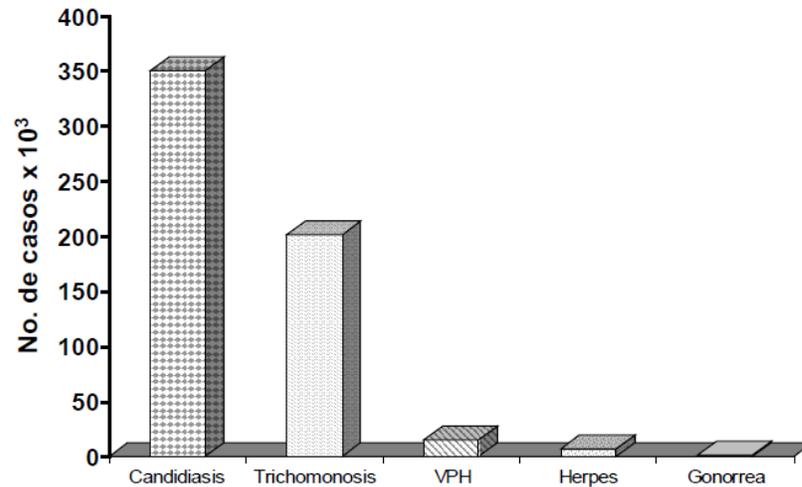


Figura 2-1. Prevalencia de la trichomonosis en México respecto a otras enfermedades de transmisión sexual. ⁽⁷⁾

De acuerdo al Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE), los casos de Enfermedades de Transmisión Sexual hasta la semana epidemiológica 36 del 2012 se han reportado en el Distrito Federal:

- Sífilis adquirida: Hombres 138 y Mujeres 18 casos.
- Infección gonocócica genitourinaria: Hombres: 32 y Mujeres 4 casos.

En la semana epidemiológica 35 del 2012 se han reportado en el Distrito Federal:

- Candidiasis urogenital: Hombres: 126 y Mujeres: 5,506 casos
- Virus del Papiloma Humano: Hombres: 34 y Mujeres: 5,274 casos
- Herpes genital y del tracto anogenital: Hombres: 43 y Mujeres: 29 casos. ⁽⁸⁾

2.3 Infecciones de transmisión sexual (ITS) y otras infecciones del tracto genital inferior

Las infecciones del tracto genital inferior pueden adquirirse por contacto sexual con un compañero infectado o por vías no sexuales. Estas infecciones son algunas de las enfermedades infecciosas más comunes.

Vías de transmisión

Aunque las infecciones del aparato genital pueden ser causadas por integrantes de la flora genital normal del paciente (infecciones endógenas), la enorme mayoría se transmite por contacto sexual.

Transmisión sexual. *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, otros micoplasmas, el virus herpes simple (HSV) y otros microorganismos pueden adquirirse por el contacto sexual.

Además, otros agentes que causan enfermedad del aparato genital y pueden transmitirse por contacto sexual incluyen adenovirus, coxsackievirus, virus del molusco contagioso (un miembro del grupo poxvirus), los papilomavirus humanos (HPV) de las verrugas genitales (condiloma acuminado; tipos 6, 11 y otros) y los asociados con el carcinoma cervical (sobre todo los tipos 16 y 18, si bien también se ha implicado a varios otros), *Calymmatobacterium granulomatis* y ectoparásitos como *Sarcoptes scabiei* y los piojos. Algunos de estos agentes no se aíslan de rutina de las muestras clínicas. Pueden producirse infecciones por más de un agente y por consiguiente siempre deben considerarse las infecciones duales o simultáneas.

Los hábitos y las prácticas sexuales de los individuos determinan sitios posibles de infección. Las prácticas homosexuales y las crecientes prácticas heterosexuales comunes de las relaciones de tipo anal-genital u oral-genital permiten la transmisión de una infección del aparato genital a otros sitios corporales, como la faringe o la región anorrectal. Además, estas prácticas determinaron la consideración de otros patógenos gastrointestinales y sistémicos como agentes etiológicos de las ITS. Los protozoos intestinales *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* y las especies de *Cryptosporidium* son causas importantes de ITS, sobre todo entre las poblaciones homosexuales. En el mismo grupo de pacientes los patógenos fecales como *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* y *Microsporidium* a menudo se transmiten por vía sexual. Es probable que las prácticas orogenitales causen la colonización y la infección del tracto genital por *Neisseria meningitidis*. Los virus presentes en las secreciones o en la sangre (citomegalovirus [CMV]), virus de la hepatitis B y tal vez de las hepatitis C y E, otros virus de hepatitis no A, no B, el virus linfotrópico de células T humano de tipo I (HTLV-I) y el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV); se diseminan por las prácticas sexuales.

Ciertas infecciones de transmisión sexual se producen en el epitelio de superficie del tracto genital inferior o cerca de él. Los patógenos principales de estos tipos de infecciones son HSV, *Haemophilus ducreyi* y *Treponema pallidum*.

Otras vías. Los microorganismos también pueden ingresar en el aparato genital por instrumentación, presencia de un cuerpo extraño o irritación y como consecuencia pueden causar infecciones. Las infecciones transmitidas de esta manera a menudo son causadas por los microorganismos que producen infecciones de la piel y las heridas. Es importante recordar que la infección puede transmitirse también de la madre al niño durante el embarazo o durante el parto. Por ejemplo, la infección transplacentaria es factible en casos de sífilis, HIV, CMV o HSV. El recién nacido también puede adquirir una infección durante el parto por contacto directo entre una lesión o una secreción infecciosa de la madre y un área susceptible de su cuerpo (p. ej., los ojos). Las ETS causadas por HSV, *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* pueden transmitirse de la madre al recién nacido por esa vía. Otros microorganismos (p. ej., los estreptococos del grupo B, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*) que se originan en la madre también pueden transmitirse al recién nacido, antes, durante o después del nacimiento. ⁽⁴⁾

Tabla 2.1 Causas principales de infecciones del aparato genital y enfermedades de transmisión sexual. ⁽⁴⁾

Frecuencia	Enfermedad	Agente	Grupo de micro-organismos
Más comunes	Verrugas genitales y anales (condilomas); displasia cervical; cáncer	Papilomavirus humano	Virus
	Vaginitis	<i>Gardnerella/Mobiluncus, Trichomonas vaginalis, Candida albicans</i>	Bacterias, parásitos, hongos
	Uretritis/cervicitis (también salpingitis aguda, perihepatitis aguda, uretritis, faringitis)	<i>Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum</i>	Bacterias
	Herpes genital (úlceras genitales y cutáneas)	Virus herpes simple de tipo 2 (con menos frecuencia de tipo 1)	Virus
	Sida	Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV)	Virus
	Hepatitis (infección aguda y crónica)	Virus de la hepatitis B	Virus
Menos comunes	Linfogranuloma venéreo	<i>C. trachomatis</i> (serovariedades L-1, L-2, L-3)	Bacterias
	Granuloma inguinal	<i>Calymmatobacterium granulomatis (Donovania)</i>	Bacterias
	Sífilis	<i>Treponema pallidum</i>	Bacterias
	Chancroide	<i>Haemophilus ducreyi</i>	Bacterias
	Sarna, otras infestaciones por ácaros	<i>Sarcoptes scabiei</i>	Ectoparásitos
	Pediculosis del pubis, infestación por "ladillas"	<i>Phthirus pubis</i>	Ectoparásitos
	Enteritis (homosexuales)	<i>Giardia lamblia, Entamoeba histolytica,</i>	

/ proctitis)	especies de <i>Shigella</i> , especies de <i>Salmonella</i> , <i>Enterobius vermicularis</i> , especies de <i>Campylobacter</i> , especies de <i>Helicobacter</i>	Bacterias, parásitos
Molusco contagioso	Virus similar al poxvirus	Virus
Mononucleosis con anticuerpos heterófilos negativos, infecciones congénitas	Citomegalovirus	Virus

2.3.1 Manifestaciones clínicas de las ITS

Asintomáticas. Si bien los síntomas de las infecciones del aparato genital habitualmente determinan que el paciente acuda a la consulta médica, los pacientes con una ITS en especial las mujeres, pueden permanecer asintomáticos. Por ejemplo, la gonorrea o la infección por clamidias en el varón por lo general se evidencian por la presencia de secreción uretral, mientras que las mujeres con cualquiera de estas dos infecciones o con ambas pueden tener síntomas mínimos o carecer de ellos (**Figura 2-2**). Asimismo, la lesión primaria de la sífilis (chancro) puede no ser importante y pasar inadvertida para el paciente. Por lo tanto, la falta de síntomas no garantiza la ausencia de enfermedad. Lamentablemente, estos individuos asintomáticos pueden actuar como reservorios de la infección y por desconocimiento contagiar el patógeno a otros individuos. Además, como en el caso de las infecciones asintomáticas por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis* en las mujeres, las infecciones no tratadas pueden conducir a secuelas graves, como enfermedad inflamatoria pelviana o esterilidad.

Disuria. Si bien es un síntoma de presentación habitual en las infecciones urinarias, la disuria con frecuencia puede ser resultado de una ITS causada por microorganismos como *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* y HSV. ⁽⁴⁾

Uretritis. Inflamación de la uretra masculina o femenina. Puede ser:

- **Química**, por ejemplo, por desinfectantes o anestésicos locales.
- **Mecánica**, por ejemplo, por sondas u otros cuerpos extraños o por un varón preocupado que se “exprime”, es decir, ordeña con sus dedos su uretra durante varios días en busca de signos de enfermedades de transmisión sexual (ETS).
- **Infeciosa**, la causa más común a menudo es como una ETS.

Los dos principales tipos de uretritis infecciosa son **gonorrea** y la llamada uretritis inespecífica (UI) o la **uretritis no gonocócica (UNG)**.

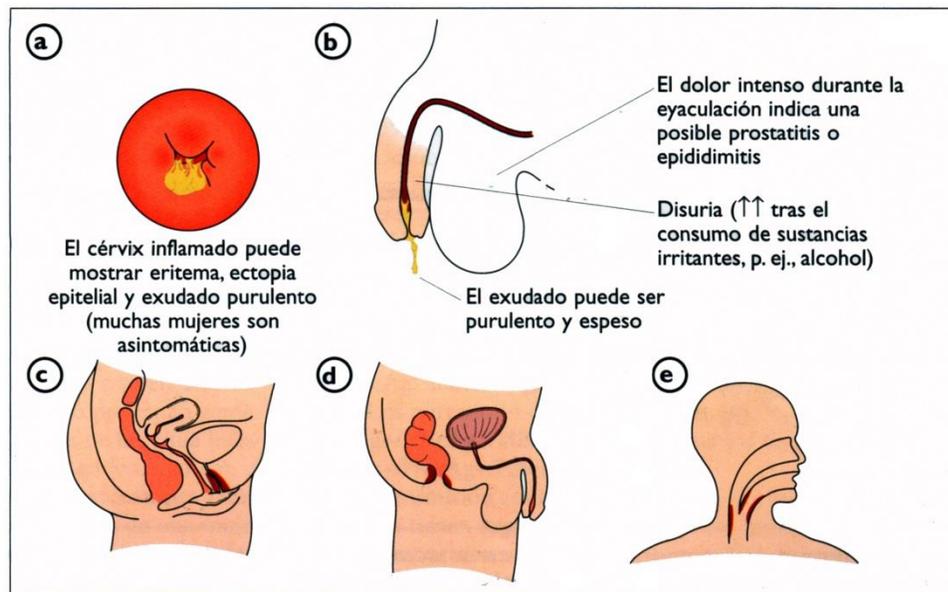


Figura 2-2 En la enfermedad gonocócica el microorganismo puede causar infección del cérvix (a), la uretra y el epidídimo (b); la uretra femenina (c); el ano (d) y la faringe (e).⁽³⁾

2.3.2 Microorganismos causales de la uretritis infecciosa.

La gonorrea se debe a infección con *Neisseria gonorrhoeae*. Este microorganismo patógeno sólo infecta al ser humano y se propaga de una persona a otra, por lo general mediante el contacto sexual. No subsiste bien fuera del huésped humano.

La UNG obedece a dos causas principales: *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma genitalium*. También puede deberse, aunque con menor frecuencia, a *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis* o herpes simple y, raras veces, a *Gardnerella vaginalis* u hongos.

Además de estas enfermedades de transmisión sexual, la uretritis bacteriana (*Escherichia coli*, especies de *Klebsiella*, *Staphylococcus aureus*) se da en caso de sondas, estenosis e infecciones urinarias, entre las que se incluye prostatitis

La frecuencia relativa de estas causas varía según:

Sexo: en las mujeres *Chlamydia trachomatis* produce cervicitis con mayor frecuencia que la uretritis sintomática.

Orientación sexual: la gonorrea predomina en varones homosexuales, *Chlamydia trachomatis* en varones heterosexuales.

2.3.3 Manifestaciones clínicas de uretritis infecciosa.

Los dos síntomas fundamentales son secreción y disuria. La secreción por la uretra varía desde escasa, clara o mucopurulenta, sobre todo en la UNG, hasta pus abundante de color amarillo o amarillo verdoso, sobre todo en la gonorrea.

Disuria significa dolor al orinar y es resultado directo de la infección y una inflamación de la uretra. Varía desde leve, sobre todo en la UNG, hasta extremadamente grave sobre todo en las infecciones gonocócicas. A menudo se acompaña de sensación de urgencia urinaria y de polaquiuria así como nicturia, es decir, eliminación nocturna de orina.

Pueden presentarse sintonías generales, entre los que se incluyen fiebre y malestar en la gonorrea, pero no se presentan en la UNG.

Los signos consisten en hipersensibilidad uretral y secreción, que puede ser únicamente visible después de «ordeñar» la uretra desde la base del pene hacia el glande. Los ganglios linfáticos pueden estar aumentados de tamaño en la gonorrea. Hay que examinar el recto y la garganta, y en los varones los testículos, el epidídimo y la próstata o, en las mujeres, el cuello uterino, las trompas de Falopio y la pelvis (cervicitis y enfermedad inflamatoria pélvica) para identificar la diseminación local o una infección concomitante. La piel y las articulaciones pueden mostrar infección diseminada.

2.3.4 Complicaciones de la gonorrea

Son poco frecuentes, a menos que el tratamiento se demore o sea inadecuado.

Diseminación local. Produce abscesos periuretrales, estenosis uretral, epididimitis o prostatitis, salpingitis y enfermedad inflamatoria pélvica.

Diseminación a distancia. Ocasiona gonococemia con infección cutánea o articular.

Infección concomitante. El recto y la faringe también pueden estar infectados por el contacto directo con la secreción infecciosa, por lo general uretral, la faringitis es asintomática. La proctitis (inflamación del recto) puede ser asintomática, pero es más frecuente que genere dolor y secreción anal.

Uretritis posgonocócica. Es la persistencia de síntomas de uretritis después del tratamiento de la gonorrea. Se debe a gonococos resistentes al antibiótico seleccionado, a la recidiva de la infección, a la infección concomitante por clamidias (la causa más común) o a la infección concomitante por ureaplasma.

2.3.5 Complicaciones de la UNG

Diseminación local. La epididimitis aguda y la prostatitis no son raras en la infección por *Chlamydia* pero sí en la infección por *Ureaplasma*.

Síndrome de Reiter. Es la tríada consistente en uretritis, artritis y conjuntivitis. Además, el 50% de los pacientes tienen lesiones raras en la piel o en las mucosas: queratodermia blenorragica (pápulas duras en la piel con un centro amarillo ceroso, balanitis circinada (exantema con un contorno circular en la piel del pene), vulvitis ulcerosa, iritis, faringitis o glositis. El síndrome de Reiter a menudo se debe a infección genital por clamidias pero también puede ser posdisentérico, es decir, consecutivo a la gastroenteritis bacteriana ocasionada por *Salmonella*, *Campylobacter* o especies de *Yersinia*.⁽⁹⁾

Tabla 2.2 Características de la uretritis (infecciosa)

Clasificación	Microorganismo causal	Manifestaciones clínicas		Pruebas para confirmar diagnóstico
		Secreción	Disuria	
Gonorrea	<i>N. gonorrhoeae</i>	Purulenta, grave	Moderada a intensa	Diplococcos gramneativos polimorfo nucleares
	<i>C. trachomatis</i>	Pus mucoide	Leve a Moderada	PCR o EIA
Uretritis no gonocócica (UNG)	<i>Mycoplasma genitalium</i>	Igual	Igual	Cultivo especial
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Igual	Igual	Cultivo especial
	<i>T. vaginalis</i>	Mínima o nula	Mínima o nula	Microscopio en lámina húmeda
	Herpes simple	Mínima o nula	Mínima o nula	PCR
Uretritis bacteriana	<i>S. aureus</i> o BGN intestinales	Purulenta, moderada	Moderada a intensa	Tinción Gram y cultivo

BGN: bacilos gramnegativo; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; EIA: enzimoimmunoanálisis.⁽⁹⁾

2.4 Lesiones de la piel y las mucosas causadas por ITS

Muchos microorganismos pueden causar lesiones genitales diversas tanto en su aspecto como en sus síntomas asociados. Algunas de estas infecciones, como el herpes genital (causado por HSV) y las verrugas genitales (causadas por HPV), son comunes mientras que otras, como el linfogranuloma venéreo y el granuloma inguinal, son raras en los Estados Unidos. Cabe señalar que HPV específicos, denominados *genotipos*, infectan las células de la mucosa del cuello uterino y pueden causar un espectro progresivo de anomalías clasificadas como **neoplasias** intraepiteliales escamosas de bajo y de alto grado (proceso de crecimiento celular rápido que es más rápido y continuo que el normal, es decir, se forma un tumor) y en algunos casos progresar al cáncer cervical invasor.

2.4.1 Vaginitis

La inflamación de la mucosa vaginal, denominada **vaginitis**, es un síndrome clínico común que determina alrededor de 10 millones de consultas médicas por año. Las mujeres que presentan síntomas vaginales a menudo manifiestan flujo anormal y tal vez otros síntomas, como olor desagradable o prurito (**Figura 2-3**).⁽⁴⁾

Hay cuatro causas infecciosas comunes: candidiasis, tricomoniasis, vaginosis bacteriana y herpes genital.⁽⁹⁾

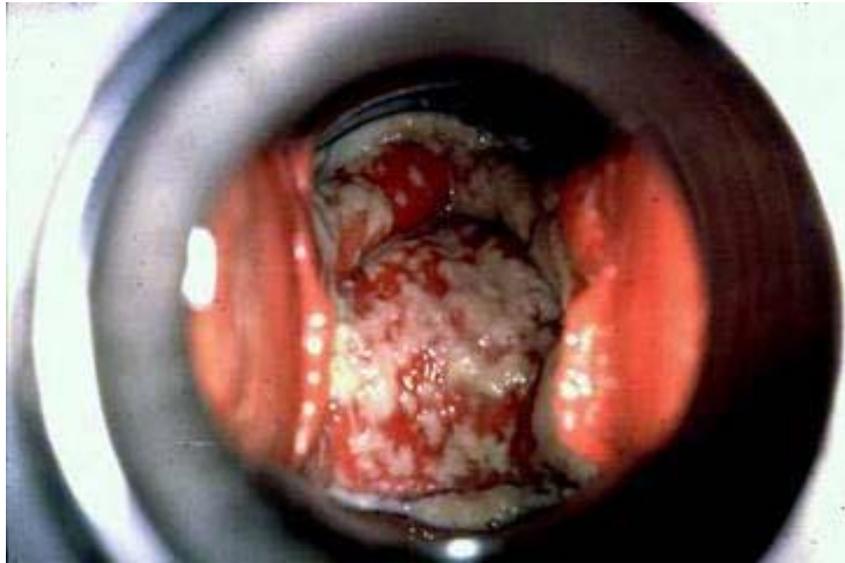


Figura 2-3 Vaginitis por *Candida*.⁽³⁸⁾

Además de la vaginitis causada por estas infecciones hay un tercer tipo de vaginitis denominado **vaginosis bacteriana (VB)**. En un comienzo se creía que la VB era causada por *Gardnerella vaginalis*, pero esta bacteria se aislaba en el 40% de las mujeres sin vaginitis. La creencia actual es que la VB tiene una etiología polimicrobiana, que incluye *Gardnerella vaginalis* y otros microorganismos facultativos y anaerobios. Un estudio reciente que utilizó tres métodos moleculares diferentes que incluyeron la amplificación del gen del rDNA 16S por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de amplio rango confirmó la diversidad bacteriana de los microorganismos implicados en estas infecciones: se detectaron 35 especies bacterianas únicas que incluyeron muchas especies reconocidas recientemente en mujeres con VB.

Este estudio también confirmó la pérdida de lactobacilos vaginales y el sobrecrecimiento concomitante de bacterias anaerobias y facultativas. Se desconoce el mecanismo exacto de instalación de la VB aunque parece asociarse con una reducción de los lactobacilos y la producción de peróxido de hidrógeno, una elevación del pH vaginal y el sobrecrecimiento de los microorganismos asociados con la VB. La actividad sinérgica de varios microorganismos anaerobios, entre ellos especies de *Prevotella*, especies de *Porphyromonas*, peptoestreptococos, especies de *Mobiluncus* (bacilos curvos y móviles) y micoplasmas así como *Gardnerella vaginalis*, parece contribuir a producir VB. La VB se caracteriza por una irritación perivaginal bastante más leve que la de la tricomoniasis o la candidiasis y por lo general se asocia con un flujo maloliente que con frecuencia se describe como con "olor a pescado". Este olor es resultado de los productos del metabolismo bacteriano (poliaminas) que son volatilizados por los líquidos vaginales. Algunas pacientes también refieren molestias abdominales. Es importante destacar que con frecuencia coexisten la VB y la tricomoniasis. Dado que la VB puede recidivar en ausencia de reexposición sexual y otras circunstancias (p. ej., mujeres sin actividad sexual, vírgenes), no sólo se transmite por vía sexual. La VB también aumenta el riesgo de adquirir la infección por HIV, se asocia con un aumento de las complicaciones en el embarazo y puede estar implicada en la patogenia de la enfermedad inflamatoria pelviana. Además, si bien los estudios clínicos terapéuticos informaron tasas

de curación del 30 al 90% en 1 semana, las tasas de recurrencia de las VB fueron del 15 al 30% dentro de los 3 meses.

Los hallazgos de laboratorio incluyeron la elevación del pH de las secreciones vaginales. Asimismo, se observaron muchas células polimorfonucleares, un aumento del número de células parabasales, ausencia de bacilos grampositivos y su reemplazo por algunos cocos grampositivos en la tinción directa de Gram. Debido a la extensa exfoliación de las células epiteliales aparecen células basales. Este síndrome clínico se denomina vaginitis inflamatoria descamativa. Los síntomas asociados con otro trastorno, la lactobacilosis, se asemejan a los de la candidiasis y a menudo son secundarios al tratamiento antimicótico. La tinción de Gram o los preparados en fresco revelan gran cantidad de lactobacilos muy largos. Estos lactobacilos predominantemente anaerobios tienen de 40 a 75 μm de longitud y por lo tanto son bastante más largos que los lactobacilos promedio (5 a 15 micrones) que se consideran como flora normal de la vagina. Por último, las lesiones preexistentes debidas a otras enfermedades pueden resultar infectadas en forma secundaria por una flora anaerobia mixta de fusobacterias y espiroquetas. Esta fusoespiroquetosis puede progresar con rapidez. El examen de la tinción de Gram revela células inflamatorias junto con morfotipos bacterianos fusiformes gramnegativos y espiroquetas.⁽⁴⁾

2.4.2 Candidiasis

La infección por *Candida* suele ser endógena y es favorable por un aumento en el glucógeno, alteraciones en la flora bacteriana normal y deficiente inmunidad mediada por células (IMC), de manera que los factores predisponentes incluyen embarazo o la “píldora anticonceptiva”, antibióticos generales, diabetes, tratamiento con corticosteroides o un exceso de calor y humedad por ropa interior sintética.

La candidiasis se caracteriza por prurito y por una secreción espesa, blanquecina, y que tiene aspecto cuajado. Puede presentarse dispareunia (dolor durante el coito) y disuria. El examen microscópico muestra hongos y pseudohifas con una laminilla húmeda en KOH al 10%.⁽⁹⁾

Candida albicans causa casi el 80-90% de los casos de candidiasis vaginal; otras especies de *Candida* son las causas de los casos restantes. Las levaduras pueden estar presentes en la vagina en cantidades pequeñas y no producir síntomas. Sin embargo, si las condiciones de la vagina cambian de un modo que favorece el desarrollo de las levaduras por sobre el resto de la flora vaginal normal puede producirse una candidiasis. La mayoría de las pacientes refieren **prurito perivaginal**, a menudo con flujo vaginal escaso o ausente. El flujo por *Candida* es clásicamente espeso y con aspecto "caseoso".⁽⁴⁾

2.4.3 Tricomoniasis

La tricomoniasis es causada por el protozoo flagelado *Trichomonas vaginalis*. La infección se adquiere por contacto sexual. La tricomoniasis puede ser asintomática, pero a menudo produce prurito intenso con una secreción abundante, purulenta, espumosa y fétida (**Figura 2-4**). La pared vaginal eritematosa esta enrojecida, el “cuello uterino en fresa” es distintivo, friable y con

hemorragias punteadas. Se examina la secreción vaginal reciente en una laminilla húmeda con solución salina para demostrar tricomonas móviles. ⁽⁹⁾

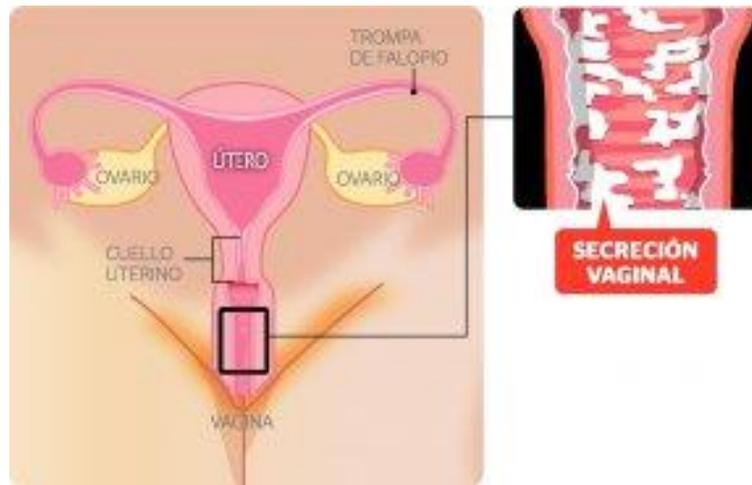


Figura 2-4. Vaginitis por *Trichomonas vaginalis*. ⁽³⁹⁾

2.4.4 Cervicitis

Es la inflamación del cuello uterino, generalmente producida por infección. ⁽⁹⁾

En el endocérnix por lo general hay neutrófilos polimorfonucleares (PMN); sin embargo, una cantidad anormalmente elevada de PMN puede asociarse con cervicitis (inflamación del cuello uterino).⁽⁴⁾ Las causas importantes son:

- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Chlamydia trachomatis*.
- Virus del herpes simple.

Con menor frecuencia, la cervicitis puede ser:

- Granulomatosa, anaerobios y esquistosomiasis.
- No infecciosa

Microorganismos causales de cervicitis

La gonorrea es causada por el diplococo gramnegativo *Neisseria gonorrhoeae* en tanto que *Chlamydia trachomatis* es la otra causa más común de infección endocervical. Se presentan de forma concomitante.

Los gonococos no tienen exotoxina y las respuestas inflamatorias producen lesión en los tejidos.

Las clamidias intracelulares destruyen directamente a las células ayudadas por la respuesta inflamatoria del huésped.

El virus del herpes simple produce infección y ulceración de la porción vaginal del cuello uterino. La cervicitis granulomatosa causada por *Mycobacterium tuberculosis*, anaerobios como *Bacteroides* y especies de *Fusobacterium*, y las infecciones esquistosomíasicas son todas raras.

Manifestaciones clínicas de la cervicitis.

Muchas infecciones son asintomáticas y sólo se descubren cuando se encuentra una pareja sexual infectada (**Figura 2-5**). Cuando se presentan síntomas, éstos incluyen:

- Secreción vaginal.
- Disuria si hay uretritis o se presenta simultáneamente.
- Dolor abdominal y fiebre si la diseminación local ocasiona salpingitis o enfermedad inflamatoria pélvica (EIP).
- Síntomas adicionales por diseminación a distancia.
- El signo diagnóstico es la secreción cervical, que varía desde purulenta hasta clara y desde abundante hasta mínima.



Figura 2-5. Cérnix con varias lesiones sugerentes de inflamación crónica. ⁽⁴⁰⁾

Complicaciones de la cervicitis gonocócica

Diseminación local. El gonococo se mueve como el caballo en el ajedrez, infectando la uretra y no la vagina; el cuello uterino y no el útero, la trompa de Falopio y no las fimbrias (primariamente), el ovario y no la pared abdominal posterior. La salpingitis (infección de la trompa de Falopio) origina bloqueo tubario, abscesos tuboováricos y enfermedad inflamatoria pélvica en casi el 15% de las pacientes.

Diseminación a distancia. La gonococemia es rara y produce infecciones de la piel o de las articulaciones. Se da en el 1 al 3% de las mujeres por cervicitis asintomática no reconocida. La infección diseminada se caracteriza por fiebre, cefalea y postración (que puede evolucionar a shock séptico), exantema cutáneo pustuloso, artralgias migratorias y luego artritis supurada («séptica») de las grandes articulaciones, sobre todo rodillas, muñeras y tobillos.

Infección congénita. La infección puede transmitirse verticalmente al niño durante el parto.

Infección concomitante. La laringe y el recto pueden infectarse por contado directo con la secreción infecciosa, por lo general uretral. La faringitis suele ser asintomática. La proctitis (infección rectal) suele ser asintomática, pero puede ocasionar dolor anal intenso y secreción.

Cervicitis posgonocócica. Es la persistencia de los síntomas de cervicitis después del tratamiento de la gonorrea. Se debe a gonococos resistentes al antibiótico administrado, o reinfección, o infección concomitante por clamidia (la causa más común).

Complicaciones de la cervicitis por clamidia

Diseminación local. La bartolinitis (infección riel conducto de la glándula de Bartolino, en los labios, a un lado de la entrada vaginal) es problemática, pero la salpingitis aguda (en el 10%) y la obstrucción tubárica consecutiva, el embarazo ectópico, la infertilidad o la enfermedad inflamatoria pélvica son consecuencias importantes.

Diseminación a distancia. Puede ocasionar peritonitis y, raras veces, por hepatitis con adherencias peritoneales parecidas a las cuerdas de un violín: síndrome de Fitz-Hugh Curtís.

Infección concomitante. La uretritis por clamidia se presenta en más de 50% de las mujeres con cervicitis por clamidia, y la gonorrea también suele presentarse en forma simultánea en cualquiera de los dos sitios.

Metaplasia citológicacervical. A menudo experimenta regresión después del tratamiento de la infección con clamidia. Si bien la atipia filológica cervical y la displasia (neoplasia intraepitelial) estadísticamente se relaciona con infección por clamidia, el papilomavirus humano (HPV) es el microorganismo causal.

Infección unigénita. Al pasar por un cuello uterino infectado los recién nacidos suelen infectarse y a menudo presentan neumonía por clamidia neonatal.⁽⁹⁾

Enfermedades de transmisión sexual		Infecciones congénitas y perinatales	
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Uretritis, cervicitis, proctitis, faringitis	
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Uretritis, cervicitis, proctitis	
	VHS (principalmente VHS2)	Úlceras genitales y orales	
	<i>Treponema pallidum</i>	Sífilis primaria, secundaria y latente	
	VIH	Sida	
Vaginitis			
	<i>Trichomonas vaginalis</i>		
	<i>Candida albicans</i>	Muguet	
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Vaginosis bacteriana	
Enfermedad inflamatoria pélvica			
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	EIP aguda y crónica	
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	EIP aguda y crónica	
	Coliformes	EIP crónica	
	Anaerobios	EIP crónica	
		Infección posparto, infección ginecológica y aborto séptico	
			Estreptococos del grupo B
			<i>Listeria monocytogenes</i>
			Estreptococos del grupo A y otros estreptococos
			<i>Staphylococcus aureus</i>
			Coliformes
			Anaerobios

Cuadro 2-6. Listado de microorganismos que se deben considerar en distintas situaciones clínicas ⁽³⁾

Manifestaciones clínicas de cervicitis por clamidia

Muchas infecciones son asintomáticas y solo se descubren cuando se encuentra una pareja sexual infectada. Cuando se presentan síntomas, estos incluyen:

- Secreción vaginal
- Disuria si hay alaueritris o se presenta simultáneamente
- Dolor abdominal y fiebre si la diseminación local ocasiona salpingitis o enfermedad inflamatoria pélvica.
- El signo de diagnóstico es la secreción cervical, que varía desde la purulenta hasta clara y desde abundante hasta mínima. ⁽⁹⁾

El HSV y el papilomavirus humano (HPV) también pueden infectar el cuello uterino. En las mujeres con cervicitis por herpes el cuello uterino es friable (sangra con facilidad) y puede tener úlceras. Las pacientes afectadas también pueden presentar dolor en la parte inferior del abdomen.

Lesiones anorrectales. Como ya se mencionó, debida a las prácticas homosexuales y a la práctica heterosexual cada vez más común de relaciones anogenitales es preciso considerar otros sitios de

infección además del aparato genital. La zona anorrectal y la faringe con frecuencia están infectadas en los casos de ITS clásicas, como las verrugas anales causadas por HPV y las lesiones provocadas por otros virus y parásitos. Los pacientes con síntomas de proctitis (inflamación del recto) causadas por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis* refieren prurito, secreción mucopurulenta anal, dolor anal, sangrado y tenesmo rectal (distensión dolorosa durante la defecación). Las infecciones anorrectales causadas por HSV se asocian con dolor anal intenso, secreción rectal, tenesmo y signos y síntomas sistémicos como fiebre, escalofríos y cefaleas.

En los individuos infectados por el HIV y otros pacientes inmunodeprimidos, estas infecciones tienden a durar más y a ser más graves y más difíciles de tratar que las infecciones de los individuos inmunocompetentes. Las lesiones anorrectales son comunes en los pacientes infectados por HIV e incluyen condilomas anales, abscesos y úlceras anales. En esta población de pacientes los abscesos y las úlceras anales pueden deberse a distintos microorganismos, como CMV, complejo *Mycobacterium avium*, HSV, especies de *Campylobacter*, *Shigella* y a los agentes etiológicos tradicionales de ITS.

Bartolinitis. En las mujeres adultas la glándula de Bartholino tiene un tamaño de 1 cm, es productora de moco y está ubicada a cada lado del orificio vaginal. Cada glándula tiene un conducto de 2 cm que se abre en la superficie interna de los labios menores. Si se infecta, este conducto puede bloquearse y producir un absceso de la glándula de Bartholino. Si bien *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis* pueden causar la infección, son más frecuentes las infecciones anaerobias y polimicrobianas originadas en la flora genital normal.

2.5 Infecciones de los órganos de la reproducción y otras infecciones del tracto genital superior

Mujeres. La infección puede producirse a partir de los órganos reproductores femeninos (útero, trompas uterinas, ovarios e incluso la cavidad abdominal). Se cree que la infección se adquiere con frecuencia cuando los microorganismos ascienden desde sitios infectados del tracto genital inferior. Los microorganismos también pueden ingresar en los órganos reproductores por cirugía, instrumentación o durante el parto.

Enfermedad inflamatoria pélvica (EIP). La EIP es una infección que se produce cuando los microorganismos cervicales ascienden hacia el endometrio, las trompas uterinas y otras estructuras pelvianas. Esta infección puede producir uno o más de los siguientes cuadros inflamatorios: endometritis, salpingitis (inflamación de las trompas), peritonitis localizada o generalizada o abscesos que afectan las trompas uterinas o los ovarios. Las pacientes con EIP a menudo presentan dolor abdominal intermitente y a la palpación, flujo vaginal, disuria y en ocasiones síntomas sistémicos como fiebre, pérdida de peso y cefalea. Cuando no se trata la EIP puede causar complicaciones graves como cicatrización permanente de las trompas uterinas y esterilidad (**Figura 2-7**).

La infección del tracto genital inferior de una mujer por *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* o ambos microorganismos, puede conducir a la EIP si no se trata de manera adecuada. Otros microorganismos, como los bacilos gramnegativos anaerobios, los estreptococos y los micoplasmas, pueden ascender a través del cuello uterino, sobre todo después del parto, la dilatación del cérvix o un

aborto. La presencia de un dispositivo intrauterino (DIU) se asocia con una incidencia algo más elevada de EIP. Las infecciones causadas por *Actinomyces* se han asociado con el uso de DIU.

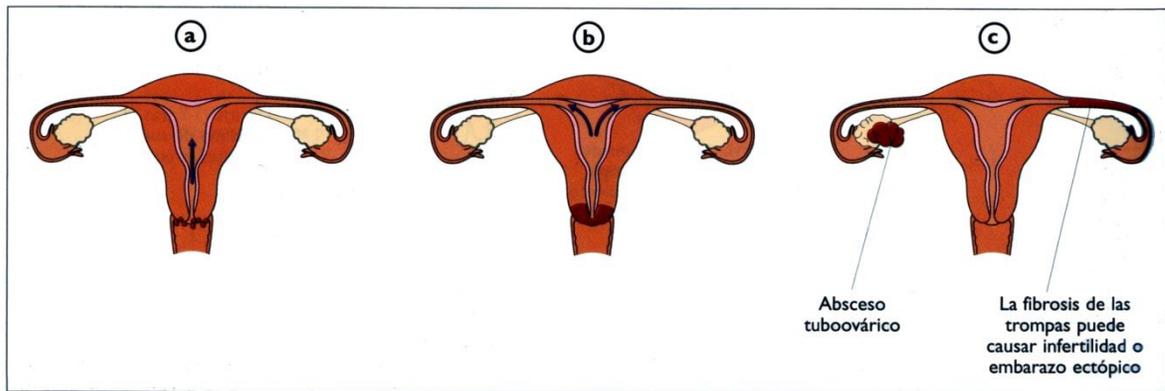


Figura 2-7. En la enfermedad inflamatoria pélvica, las bacterias ascienden hasta el útero (a) y desde este punto alcanzan las trompas de Falopio (b). La infección de las trompas da lugar fibrosis y también pueden producir un absceso tuboovárico(c).⁽³⁾

2.5.1 Infecciones posteriores a la cirugía ginecológica.

Después de una cirugía ginecológica como la histerectomía vaginal las mujeres con frecuencia desarrollan infecciones posoperatorias como celulitis o abscesos pelvianos. En la mayor parte de los casos estas infecciones se originan en la flora vaginal propia de la paciente. En consecuencia, los patógenos principales son los microorganismos de la flora normal: cocos grampositivos aerobios, bacilos gramnegativos, anaerobios como especies de *Peptostreptococcus* y micoplasmas genitales.

Infecciones asociadas con el embarazo. Las infecciones también pueden producirse en la madre durante el embarazo (prenatales) o después del parto (posparto). Es importante destacar que estas infecciones a su vez pueden transmitirse al recién nacido. En consecuencia, no sólo pueden comprometer la salud de la madre sino también la del feto o el neonato.

Mientras se desarrolla dentro del útero el feto está protegido de la mayoría de las influencias ambientales, incluidos los agentes infecciosos. El sistema inmunitario de los seres humanos alcanza su madurez varios meses después del nacimiento. Las inmunoglobulinas que atraviesan la barrera placentaria, sobre todo la inmunoglobulina G (IgG), sirven para proteger al recién nacido de muchas infecciones hasta que comienza a producir sus propias inmunoglobulinas como respuesta a los estímulos antigénicos. Sin embargo, este nicho ambiental singular expone al feto vulnerable a patógenos presentes en la madre.

Las infecciones prenatales (que se producen en algún momento antes del nacimiento) pueden adquirirse a través de la sangre o por vía ascendente de la madre al recién nacido. Si la madre tiene una infección del torrente sanguíneo los microorganismos pueden alcanzar y atravesar la placenta, con la posible diseminación de la infección al feto en desarrollo. Los microorganismos también pueden infectar al feto por vía ascendente desde la vagina por el desgarro o la ruptura de las membranas fetales. La corioamnionitis es una infección del útero y su contenido durante el embarazo (**Figura 2-8**). Esta infección por lo general se adquiere por microorganismos que ascienden desde la vagina o el cuello uterino después de una ruptura prematura o prolongada de las membranas o durante

el trabajo de parto. Otras infecciones maternas que se asocian con resultados adversos del embarazo y que no suelen transmitirse por vía sexual incluyen la infección por parvovirus B19, la rubéola y la infección por *Listeria monocytogenes*.

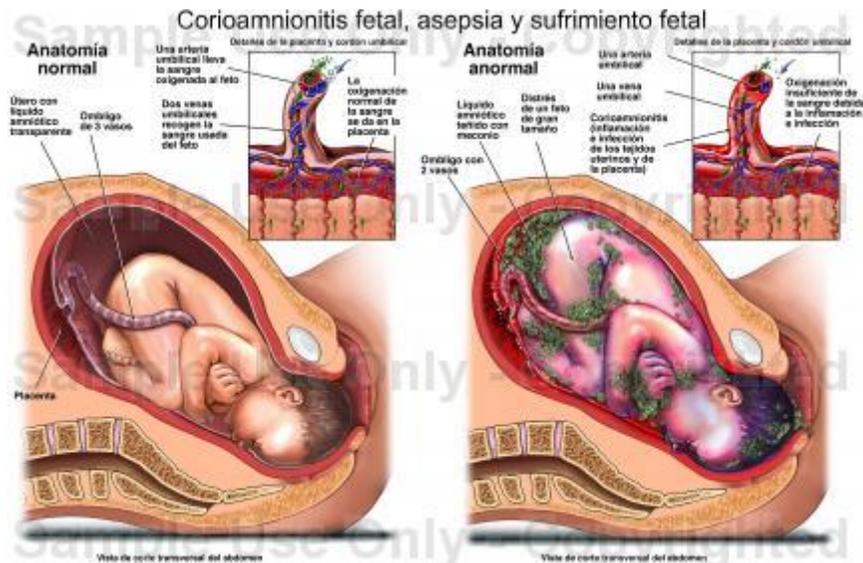


Figura 2-8. Corioamnionitis fetal.⁽⁴¹⁾

Varones. También pueden producirse infecciones en los órganos reproductores masculinos, entre ellas epididimitis, prostatitis y orquitis. La epididimitis, una inflamación del epidídimo, se observa con frecuencia en los varones sexualmente activos. Los pacientes presentan fiebre con dolor y tumefacción de los testículos. *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis* son causas comunes de epididimitis. Sin embargo, los estafilococos entéricos y coagulasa negativos también pueden causar infección en los varones mayores de 35 años y en los homosexuales; estas infecciones a menudo se asocian con obstrucción uretral por la glándula prostática.

Prostatitis es un término utilizado para describir el cuadro clínico de los varones adultos que tienen dolor; perineal, lumbar o en la parte inferior del abdomen, malestar urinario o síntomas asociados con la eyaculación. La prostatitis se produce por causas infecciosas y no infecciosas. Las bacterias pueden producir una prostatitis aguda o crónica. Los pacientes con prostatitis bacteriana aguda presentan disuria y polaquiuria, síntomas que se asocian con las infecciones urinarias bajas. Con frecuencia estos pacientes tienen signos sistémicos de enfermedad, como fiebre. La prostatitis bacteriana crónica es una causa importante de bacteriuria persistente en el varón que provoca infecciones urinarias bacterianas recurrentes. Las causas comunes de estas infecciones son similares a las causas bacterianas de las infecciones urinarias bajas, como *Escherichia coli* y otras enterobacterias.

Por último, la inflamación de los testículos (orquitis) es rara y por lo general se adquiere por diseminación hemática de virus. El virus de la parotiditis epidémica se observa en la mayoría de los casos. Los pacientes presentan dolor y tumefacción testicular luego de la infección. Las infecciones varían de leves a graves.⁽⁴⁾

Tabla 2.5 Resumen de las causas más comunes de las lesiones genitales de la piel y mucosas.⁽⁴⁾

Agente	Enfermedad	Lesión	Síntomas principales
Virus herpes simple	Herpes genital	Pápulas, vesículas (ampollas) pústulas con úlceras o sin ellas	Lesiones múltiples que por lo general son dolorosas y se pueden recidivar.
<i>Treponema pallidum</i>	Sífilis primaria	Úlcera genital (chancro)	Por lo general una lesión única e indolora: las lesiones tienen bordes regulares que representan el primer y tercer estadio de la sífilis.
<i>Haemophilus ducreyi</i>	Chancroide	Pápulas que se convierten en pústulas y se ulceran (cancroide); pueden desarrollarse úlceras múltiples.	La úlcera invade tejidos profundos, es dolorosa y tiene aspecto purulento; los bordes de la lesión son irregulares.
<i>Chlamydia trachomatis</i> Serotipo L1, L2, L3.	Linfogranuloma venéreo	Pequeña úlcera o vesícula que se cura de manera espontánea sin dejar cicatriz	Después de la cicatrización, se observan ganglios linfáticos tumefactos y dolorosos (lindafenopatía), fiebre y escalofríos; puede desarrollarse una obstrucción linfática grave y linfedema.
<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>	Granuloma inguinal	Nódulos subcutáneos únicos o múltiples.	Evolución tórpidamente crónica; aumentan los nódulos de tamaño y erosionan a través de la piel, produce úlceras indoloras de bordes nítidos y color rojo oscuro.
Papiloma humano	Condiloma acumulado (genotipos 6 y 11)	Verrugas genitales	Verrugas de aspecto similar a una coliflor, lesiones múltiples que pueden ser planas o sobre elevadas.
	Condiloma plano (genotipos 16, 18, 31, 33)	Verrugas genitales planas	Se observan verrugas cervicales empleando una lupa después de aplicar ácido acético (colposcopia). Las infecciones causan neoplasias que en algunos casos progresan a cáncer de cuello uterino.

Tabla 2.6 Localización de los microorganismos patógenos. ⁽¹¹⁾

Localización	Patógenos
Vaginal (epitelio estratificado)	<i>Candida spp.</i> <i>Trichomonas vaginalis</i> , Complejo GMM (<i>Gardnerella vaginalis</i> , Anaerobios, <i>Mobiluncus spp.</i> , <i>Mycoplasma spp.</i>): Vaginosis Bacteriana) <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> y <i>parainfluenzae</i>
Endocervical (epitelio columnar)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Mycoplasma spp.</i> <i>Ureaplasma</i> <i>Listeria monocytogenes</i>

3. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DE LAS INFECCIONES GENITALES

3.1 Infecciones del tracto genital inferior

Uretritis, cervicitis y vaginitis

Muestras uretrales. La secreción uretral puede presentarse tanto en varones como en mujeres con infecciones causadas por patógenos como *Neisseria gonorrhoeae* y *Trichomonas vaginalis*. Es más probable que la presencia de infección en las mujeres sea asintomática debido a que la secreción por lo general es menos profusa y puede estar enmascarada por las secreciones vaginales normales. También puede aislarse *Ureaplasma urealyticum* de la secreción uretral masculina.

Para la recolección de la muestra debe utilizarse un hisopo urogenital diseñado en forma expresa para este procedimiento. Estos hisopos son de algodón o rayón tratados con carbón para adsorber el material tóxico para los gonococos y se envuelven herméticamente en el extremo de un alambre delgado. Los hisopos con el extremo de algodón o rayón también pueden utilizarse para la recolección de muestras para el aislamiento de micoplasmas y clamidias. Los hisopos de alginato de calcio por lo general son más tóxicos para HSV, gonococos, clamidias y micoplasmas que los de algodón tratados. Dado que los hisopos de Dacron son los menos tóxicos, se los recomienda para las muestras virales. Los hisopos de Dacron sobre un tallo plástico también son aceptables para clamidias y micoplasmas genitales.

Para obtener una muestra uretral se introduce un hisopo cerca de 2 cm dentro de la uretra y se lo rota con suavidad antes de retirarlo. Dado que las clamidias son patógenos intracelulares, es importante obtener células epiteliales (con el hisopo) de la mucosa uretral (**Figura 3-1**). Se requieren hisopos separados para el cultivo de gonococos, clamidias y ureaplasmas. Cuando hay secreción uretral profusa, sobre todo en los varones, puede recolectarse en forma externa sin introducir dispositivo alguno para la toma de la muestra dentro de la uretra. Sin embargo, para la investigación de clamidias en los varones la muestra debe recolectarse con un hisopo uretral. Para detectar gonococos en los

varones también se han utilizado con buenos resultados unas gotas de la primera parte de la orina emitida.

Dado que *Trichomonas vaginalis* puede estar presente en la secreción uretral, el material para cultivo debe recolectarse con un hisopo como se acaba de describir y se debe de obtener otra muestra con un hisopo y colocarse en un tubo con 0,5 mL de solución fisiológica estéril. Esta muestra debe remitirse de inmediato al laboratorio. A partir de esta segunda muestra pueden realizarse preparados en fresco y cultivos para *Trichomonas vaginalis*. Se dispone de medios comerciales para el cultivo de *Trichomonas*. Las primeras gotas de orina emitidas también pueden representar una muestra conveniente para el aislamiento de *Trichomonas* de los varones infectados, si se inoculan de inmediato en los medios de cultivo. Como alternativa puede prepararse un frotis del material en un portaobjetos para realizar luego una tinción con anticuerpos fluorescentes. También se dispone de sobres plásticos para el examen directo y el cultivo (InPouch TV. BIOMED White City. Ore); la sensibilidad de este sistema es superior a la de otros métodos disponibles y la viabilidad del microorganismo se mantiene hasta 45 horas. Además se dispone de otras técnicas que incluyen enzimoimmunoensayo, pruebas de aglutinación de partículas de látex y la sonda Affirm VPIII (BectonDickinson, Cockeysville, Md); la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) también se utiliza para detectar *T. vaginalis* directamente en muestras clínicas.

Muestras cervicales o vaginales. Los microorganismos que causan flujo vaginal purulento (vaginitis) son *T. vaginalis*, gonococos y, raras veces, estreptococos beta-hemolíticos. Los mismos microorganismos que causan infecciones purulentas en la uretra pueden infectar las células epiteliales del orificio externo del cuello uterino, como el HSV. Se extrae el moco mediante un botado suave del área con una torunda de algodón. Se inserta el hisopo uretral como se describió antes en el canal cervical y se rota y se mueve entre los lados durante 30 segundos antes de extraerlo.

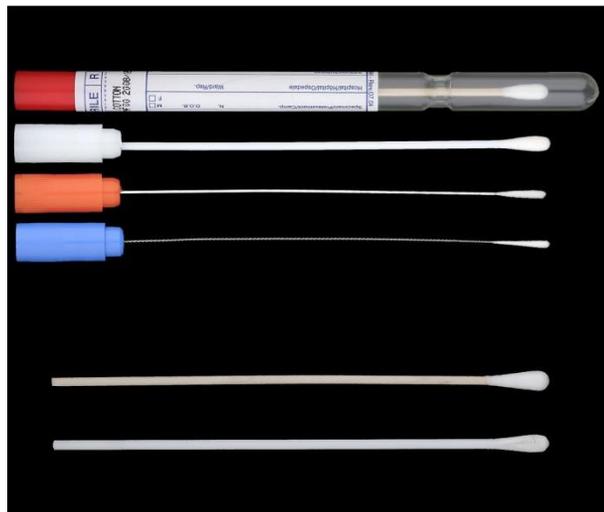


Figura 3-1. Escobillones secos ⁽⁴²⁾

Los hisopos se procesan del mismo modo que los hisopos uretrales para el aislamiento de *Trichomonas* y gonococos. Las clamidias causan una cervicitis mucopurulenta con secreción. Las muestras endocervicales se obtienen después de exponer el cuello uterino con un espéculo que permite la visualización de la arquitectura vaginal y cervical y después de extraer de manera ade-

cuada el moco ectocervical. El espéculo se humedece con agua tibia porque muchos lubricantes contienen agentes antibacterianos. Dado que las secreciones vaginales normales contienen grandes cantidades de bacterias, se debe tener cuidado y evitar o minimizar la contaminación de los hisopos para cultivo por contacto con estas secreciones. Puede utilizarse un cepillo pequeño de nailon asedado o cepillo citológico para asegurar la recolección del material celular, pero su uso se asocia con malestar y sangrado. Hay cierta controversia con respecto a si se obtienen mejores muestras con el cepillado citológico por lo menos para la detección de *Chlamydia trachomatis*.

Además de las muestras cervicales, que son particularmente útiles para aislar herpes, virus, gonococos, micoplasmas y clamidias, pueden recolectarse muestras de flujo vaginal. Los microorganismos con probabilidad de causar flujo vaginal son *Trichomonas*, levaduras y los agentes de VB. Los hisopos para el diagnóstico de VB se sumergen en el líquido que se recolecta del fondo de saco vaginal posterior.

Las infecciones del aparato genital causadas por los agentes transmitidos por vía sexual en los niños (preadolescentes) en la mayoría de los casos son secundarias a abuso sexual. Debido a las implicancias medico legales, el laboratorio debe tratar las muestras de estos pacientes con cuidado extremo e identificar y documentar cuidadosamente todos los aislamientos.

Dado que es imposible descartar la contaminación con flora vaginal, no se recomienda la obtención de hisopos del exudado de las glándulas de Bartholino. Las glándulas infectadas deben aspirarse con aguja y jeringa después de una preparación cuidadosa de la piel y en los cultivos debe buscarse la presencia de anaerobios y aerobios.

Transporte. Los hisopos recolectados para el aislamiento de gonococos pueden transportarse al laboratorio en los medios de transporte modificado de Stuart o con carbón de Arnie y mantenerse a temperatura ambiente hasta su inoculación en los medios de cultivo. Es posible un buen aislamiento de gonococos si los hisopos se cultivan dentro de las 12 horas de la recolección. El material que deba mantenerse mucho más de 12 horas tendrá que ser sembrado directamente en uno de los sistemas comerciales diseñados para el aislamiento de gonococos.

Los hisopos para el aislamiento de clamidias y micoplasmas se transportan mejor en medios de transporte específicos con antibióticos y otros componentes esenciales. Las muestras para el cultivo de clamidias deben transportarse en hielo. (Las muestras transportadas a temperatura ambiente deben sembrarse dentro de los 15 minutos de su recolección.) Pueden conservarse a 4°C hasta 24 horas. Si la siembra del cultivo se retrasa más las muestras deben congelarse con rapidez en un baño con hielo seco y etanol al 95%, y conservarse a -70 °C hasta la realización del cultivo. Si se recolectan y transportan en medios de transporte específicos las muestras para cultivos de micoplasmas pueden transportarse en hielo o a temperatura ambiente. Si no se utilizar medios de transporte para micoplasma genital las muestras deben transportarse en hielo para suprimir el crecimiento de la flora contaminante.

Examen microscópico directo. Además del cultivo la secreción uretral puede examinarse por medio de la tinción de Gram para determinar la presencia de diplococos gramnegativos intracelulares, por lo general indicativa de gonorrea en los varones. Después de la inoculación en los medios de cultivo el hisopo se rota sobre la superficie de un portaobjetos hasta cubrir un área de por lo menos 1 cm². Si la

tinción de Gram es característica, no es necesario realizar los cultivos de la secreción uretral. También pueden examinarse frotis uretrales de mujeres. Sin embargo, el diagnóstico presuntivo de gonorrea a partir de estos preparados sólo es fiable si lo realiza un microscopista con experiencia porque la flora vaginal normal, como *Veillonella* o en ocasiones cocobacilos gramnegativos, puede tener un aspecto similar al de los gonococos. Si observa microorganismos extracelulares similares a *Neisseria gonorrhoeae* el microscopista debe continuar el examen del frotis en búsqueda de diplococos intracelulares. El diagnóstico presuntivo puede ser útil cuando se deben tomar decisiones con respecto al tratamiento inmediato, si bien en las muestras provenientes de mujeres siempre deben realizarse cultivos confirmatorios o un método sin cultivo alternativo. Algunas cepas de *Neisseria gonorrhoeae* son sensibles a la cantidad de vancomicina presente en los medios de cultivo selectivos. Si los microorganismos sospechosos observados en el frotis no crecen en el cultivo, puede ser necesario un cultivo nuevo en agar chocolate sin antibióticos.

Los reactivos con anticuerpos monoclonales conjugados con fluorescencia son sensibles y específicos para la visualización de las inclusiones de *Chlamydia trachomatis* en cultivos de células o de los cuerpos elementales en las muestras uretrales y cervicales que contienen células. Los reactivos para la tinción directa de las muestras están disponibles en el mercado en sistemas de recolección y prueba completos pero el tiempo relativamente mayor insumido por los técnicos para este método limita su utilidad en los laboratorios que reciben muchas muestras, excepto como una prueba confirmatoria de otros sistemas de detección de antígeno con resultados dudosos. En algunos estudios la sensibilidad de la detección visual de clamidias con estos reactivos más nuevos fue similar a la de los cultivos, aunque estos resultados comparativos sólo son obtenidos por técnicos con experiencia en las técnicas fluorescentes y con un examen meticuloso de los portaobjetos. No habrá resultados falsos positivos si se observan en el frotis completo por lo menos 10 cuerpos elementales fluorescentes compatibles desde el punto de vista morfológico. Hasta el presente no hay métodos visuales directos para la detección de micoplasmas, si bien se han evaluado ensayos moleculares.

El examen microscópico directo de un preparado en fresco del flujo vaginal proporciona la prueba diagnóstica rápido más simple para *Trichomonas vaginalis* cuando se dispone de una muestra de este tipo y se la puede examinar de inmediato. El método del sobre plástico combina la visualización directa con el cultivo. En las dos terceras partes de los casos los trofozoítos móviles de *Trichomonas* pueden observarse en un preparado en fresco común realizado por un técnico hábil o puede utilizarse una tinción directa con anticuerpos fluorescentes (1FD) (Meridian Diagnostics, Cincinnati, Ohio).

En los preparados en fresco también pueden identificarse con facilidad las células brotantes y las pseudohifas de levaduras mediante el agregado de hidróxido de potasio (KOH) al 10% en un preparado por separado, que disuelve las proteínas de las células del huésped e incrementa la visibilidad de los elementos micóticos (**Figura 3-2**).

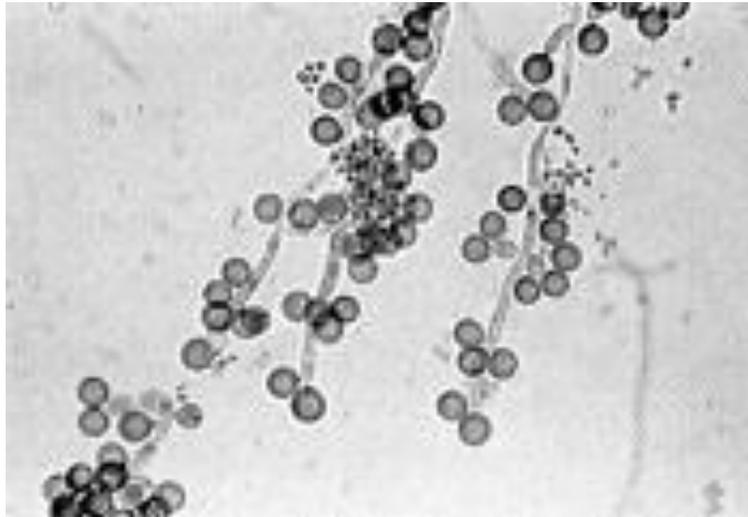


Figura 3-2. Blastoporas y clamidosporas. ⁽⁴³⁾

La VB se caracteriza por un flujo vaginal maloliente y su diagnóstico puede ser clínico o basarse en el examen microscópico. La secreción está constituida por células epiteliales desprendidas, muchas de las cuales están recubiertas por completo por bacilos delgados y cocobacilos gramvariables. Estas células se denominan **células clave**. La ausencia de células inflamatorias en el flujo vaginal es otro signo de VB. Si bien *Gardnerella vaginalis* históricamente se asoció con el síndrome y puede cultivarse en placas con bicapa de sangre humana, el cultivo no se recomienda para el diagnóstico de VB. El diagnóstico clínico de VB se establece mejor mediante el uso de tres o más de los criterios siguientes: flujo gris homogéneo, células "clave" en los preparados en fresco o en la tinción de Gram, un pH mayor de 4.5 y olor a aminas o a pescado desencadenado por el agregado de una gota de KOH al 10% a la secreción en un portaobjetos o en el espéculo.

Es probable que la mejor manera de diferenciar la VB de otras infecciones vaginales sea por medio de la tinción de Gram. Nugent y col. desarrollaron un sistema de graduación para la tinción de Gram del flujo vaginal. Este sistema se basa en la presencia o la ausencia de ciertas morfologías bacterianas. En las pacientes con VB típica los lactobacilos están ausentes o se observan en poca cantidad mientras que predominan los bacilos gramvariables curvos (especies de *Mobiluncus*), *Gardnerella vaginalis* y *Bacteroides*, o una combinación de ellos. La tinción de Gram es más sensible y específica que los preparados en fresco para la detección de células "clave" o los cultivos para *Gardnerella vaginalis* y el frotis puede conservarse y reexaminarse más tarde.

Cultivo. Las muestras para el aislamiento de gonococos pueden inocularse en forma directa en los medios de cultivo, lo que evita la necesidad de un medio de transporte. Existen sistemas comerciales para este propósito y muchos médicos siembran directamente las placas si se dispone de una estufa para la incubación. El medio más utilizado es el de Thayer-Martin modificado, si bien el medio New York City (NYC) tiene la ventaja adicional de favorecer el crecimiento de micoplasmas y gonococos (**Figura 3-3**). Se observa un aislamiento excelente de gonococos cuando las muestras se inoculan en forma directa en cualquiera de estos medios en los sistemas de incubación independientes, como las placas JEMBEC. El hisopo que contiene el material de la muestra se rota en la superficie del agar con rotaciones continuas hacia un lado y el otro con el fin de exponer todas las superficies al medio. La

placa JEMBEC, que genera su propia atmósfera con mayor concentración de dióxido de carbono por medio de un comprimido de bicarbonato de sodio, se inocula con un patrón en W. La placa puede estriarse en cruz con un asa estéril en el laboratorio.

Para el aislamiento de levaduras, estreptococos y micoplasmas las muestras deben sembrarse en otros medios de cultivos. Las levaduras crecen bien en agar Columbia con sangre de carnero al 5% y colistina y ácido nalidíxico (CNA), si bien se dispone de medios de cultivo más selectivos. La mayoría de las levaduras y los estreptococos también crecen en agar sangre estándar; por lo tanto, no se justifica el agregado de medios de cultivo especiales para hongos, como agar infusión de cerebro y corazón de Sabouraud (SABHI).

El cultivo de una muestra obtenida de la parte inferior del canal vaginal y luego del recto con el mismo hisopo a las 35-37 semanas de gestación puede predecir de manera fiable la presencia de estreptococos del grupo B en el momento del parto." El hisopo debe transportarse al laboratorio en un medio de transporte sin nutrientes como el de Amies o el de Stuart sin carbón y luego sembrarse en un medio líquido selectivo recomendado como el caldo de Todd-Hewitt suplementado con gentamicina y ácido nalidíxico o con colistina y ácido nalidíxico. Los caldos enriquecidos selectivos se subcultivan en agar al día siguiente para aislar e identificar estreptococos del grupo B. Además, la presencia de estos estreptococos en la orina de una mujer embarazada en cualquier concentración es un marcador de colonización intensa del tracto genital." Por lo tanto, cualquiera sea la cantidad de estreptococos de grupo B en la orina de las mujeres embarazadas la muestra debe ser procesada en el laboratorio.

Trichomonas vaginalis puede cultivarse en el medio de Diamond o en los sobres plásticos inoculados con el material de la secreción. Las técnicas de cultivo son más sensibles. También se dispone de un sistema comercial bifásico para el cultivo de micoplasmas genitales (Mycotrim-GU, Irvine Scientific, Santa Ana, Calif.) como *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, si bien los medios comerciales no son tan sensibles como los recién preparados. *Mycoplasma genitalium* puede no crecer en los medios de cultivo comerciales debido a la presencia del acetato de talio.⁽⁴⁾



Figura 3-3. Crecimiento de colonias de *N. gonorrhoeae* en Agar Thayer Martín.⁽⁴⁴⁾

Métodos sin cultivos. Para el diagnóstico de las enfermedades del tracto genital pueden utilizarse diversos métodos sin cultivos, como la serología, la aglutinación del látex, las pruebas de hibridación y amplificación del ácido nucleico y los enzimoimmunoensayos. La mayoría de estas pruebas detectan un solo patógeno del aparato genital, o tal vez dos, y están disponibles en el comercio.

Como ya se explicó, la VB puede ser causada por diversos microorganismos. Además de establecer el diagnóstico de VB por la tinción de Gram la enfermedad puede diagnosticarse mediante los criterios de Amsel, que incluyen la determinación del pH, la realización de una prueba de aminas y preparados en fresco de las secreciones vaginales. Sin embargo, este método se ha considerado poco fiable debido a la falta de habilidades en relación con la microscopia y a la disponibilidad de papel de pH en la mayoría de los consultorios médicos. Si bien la tinción de Gram ofrece alta sensibilidad y especificidad, no está disponible de inmediato. En la actualidad existen pruebas comerciales que ayudan a establecer el diagnóstico de la VB pero no todas están disponibles para su uso en los Estados Unidos; hay informes que indican que la prueba para detectar sialidasas (OSOM BVBLUE, Genzyme Diagnostics, Cambridge, Mass) junto con la medición del pH es un medio rápido, muy sensible y específico para diagnosticar VB. (Las sialidasas son enzimas segregadas por los bacilos gramnegativos anaerobios como *Bacteroides* y *Prevotella* así como por *Gardnerella* y participan en la nutrición bacteriana, las interacciones celulares y la evasión de la respuesta inmunitaria, lo que a su vez mejora la capacidad de las bacterias para adherirse, invadir y destruir el tejido de las mucosas.) Vale la pena destacar que se dispone de una prueba de hibridación comercial (Affirm VP III Microbial Identification Test; Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md.) para diagnosticar VB, así como infecciones del aparato genital causadas por especies de *Candida* y *Trichomonas vaginalis*. Una vez que se agregan los reactivos y la muestra apropiados a las bandejas especiales, las pruebas de hibridación se realizan en forma mecánica. Las evaluaciones iniciales indican que este sistema es sensible y específico.⁽⁴⁾

3.2 Lesiones de la piel y las mucosas genitales

Las lesiones genitales externas por lo general son vesiculares o ulcerosas. Las causas de las lesiones pueden establecerse por examen físico, examen histológico y citológico o examen microscópico y cultivo del exudado. Dado que las lesiones genitales pueden ser muy contagiosas, los médicos deben utilizar guantes para llevar a cabo todas las manipulaciones del material procedente de la lesión.

En el área genital las vesículas casi siempre se atribuyen a virus, y el virus herpes simple es la causa más común. Las células epiteliales de la base de una vesícula pueden extenderse sobre la superficie de un portaobjetos y examinarse con el fin de observar las células gigantes multinucleadas de HSV o teñirse con anticuerpos inmunofluorescentes para los antígenos virales.

Se dispone de varios conjugados fluorescentes de anticuerpos monoclonales y policlonales comerciales dirigidos contra antígenos herpéticos de los tipos 1 o 2. Cuando la muestra de una lesión teñida con anticuerpos fluorescentes contiene una cantidad suficiente de células y se observa con luz ultravioleta, el diagnóstico puede establecerse en el 70 al 90% de los pacientes. Los laboratorios que procesan de rutina materiales genitales para herpes y desean una respuesta rápida deben utilizar reactivos para tinciones inmunofluorescentes; por otra parte los cultivos, que por lo general son positivos en 2 días, constituyen el método de elección. También se han conjugado marcadores no

fluorescentes como peroxidasa de rábano picante o fosfatasa alcalina conjugada con avidina y biotina contra esos anticuerpos específicos, lo que a menudo permitió una detección más temprana de las células infectadas por herpes virus en monocapas de cultivos de tejidos. Estos reactivos se desarrollaron para su uso directo en el material clínico, aunque su sensibilidad no es suficiente para preceder al cultivo si se requiere un diagnóstico definitivo.

El material de las lesiones que sugiere sífilis debe examinarse con microscopio con campo oscuro o fluorescente (**Figura 3-4**).



Figura 3-4. *Treponema pallidum* microscopia de campo oscuro. ⁽⁴⁵⁾

Además de los procedimientos descritos, todas las lesiones de etiología presuntamente infecciosa pueden teñirse con Gram. Los frotis del material de la lesión de un paciente con chancroide pueden mostrar muchos bacilos y cocobacilos gramnegativos pequeños y pleomorfos dispuestos en cadenas y grupos, característicos de *Haemophilus ducreyi*. Sin embargo, el cultivo es más sensible para el diagnóstico de este agente. El material obtenido con hisopos de algodón o de Dacron puede transportarse en el medio de Stuart modificado. Las muestras deben sembrarse en los medios de cultivo dentro de la hora posterior a su recolección. Un agar especial, que es agar chocolate enriquecido con Iso Vitale X al 1% (BBL Microbiology Systems) y vancomicina (3 mg/mL), brinda un buen aislamiento si los cultivos se incuban con dióxido de carbono al 5-7% en una atmósfera húmeda, como en una jarra con vela. *Haemophilus ducreyi* crece mejor a 33°C. El *granuloma inguinal* se diagnostica por la tinción de un preparado obtenido por aplastamiento de un trozo pequeño del tejido de biopsia obtenido del borde de la base de la úlcera con la tinción de Wright o Giemsa y el hallazgo de los cuerpos de Donovan característicos (bacilos con tinción bipolar que se hallan a nivel intracelular dentro de los macrófagos). Estas muestras suelen ser examinadas por citólogos o anatomopatólogos, más que por microbiólogos. No se dispone de ningún medio de cultivo aceptable para el aislamiento de *Calymmatobacterium granulomatis*.

Bubones

Los bubones, ganglios linfáticos tumefactos que aparecen en la región inguinal (pelviana), a menudo son evidencias de una infección del aparato genital. Los bubones son comunes en los pacientes con

sífilis primaria, herpes genital, linfogranuloma venéreo y chancroide. Los pacientes con sífilis pueden presentar linfadenopatía generalizada. Los bubones también pueden ser producidos por otras enfermedades que no se transmiten por vía sexual, como peste, tularemia y linfoma. Para el examen microscópico y el cultivo puede obtenerse material de los bubones por aspiración (**Figura 3-5**).⁽⁴⁾



Figura 3-5. Linfogranuloma venéreo.⁽⁴⁶⁾

3.3 Diagnóstico de las infecciones por clamidia

Aunque la *Chlamydia trachomatis*, la *Chlamydia pneumoniae* y la *Chlamydia psittaci* son bacterias, también son parásitos intracelulares obligados. Los cultivos y otras pruebas diagnósticas para la clamidia requieren procedimientos muy parecidos a los empleados en los laboratorios de diagnóstico virológico más que a los empleados en los laboratorios de bacteriología y micología.

Muestras

Para las infecciones óculo genitales por *Chlamydia trachomatis*, las muestras para examen directo del cultivo deben recolectarse de los sitios infectados mediante raspado vigoroso de las células epiteliales superficiales afectadas. Los cultivos de secreción purulenta no son adecuados, y el material purulento debe limpiarse por completo antes de recolectar la muestra. Por tanto, para la conjuntivitis por inclusión se recolecta un raspado conjuntival; para la uretritis se obtiene una muestra por frotamiento de varios centímetros dentro de la uretra; y, para la cervicitis, la muestra se obtiene de la superficie de células columnares del conducto endocervical. Cuando se sospecha infección de la parte superior del aparato genital en mujeres, el raspado del endometrio suministra una buena muestra. El líquido obtenido mediante culdocentesis o aspiración de la trompa uterina tiene una producción baja de *Chlamydia trachomatis* en cultivo. La biopsia de la trompa uterina para cultivo diagnóstico es una herramienta de investigación más que un procedimiento rutinario.

Para la *Chlamydia pneumoniae* se emplean muestras de frotis nasofaríngeo (no faríngeo).

Para el linfogranuloma venéreo el material aspirado de los bubones o de ganglios fluctuantes suministra la mejor muestra para el cultivo.

Para la psitacosis, el cultivo de esputo, sangre o de material de biopsia puede mostrar *Chlamydia psittaci*.

Las muestras de tejido y frotis raspado deben colocarse en medio de transporte. El medio útil tiene 0.2 mol/L de sacarosa en 0.02 M de amortiguador de fosfato, pH 7.0 a 7.2, con 5% de suero de ternera letal. Otros medios de transporte pueden ser igualmente adecuados. El medio de transporte debe contener antibióticos para suprimir otras bacterias diferentes a las especies de *Chlamydia*. La gentamicina, 10 µg/mL, vancomicina, 100 µg/mL, y anfotericina B, 4 µg/ mL, pueden emplearse en combinación puesto que no inhiben a la clamidia. Si las muestras no pueden procesarse con prontitud deben refrigerarse durante 24 h; de otro modo, se deben congelar a -60 °C o más bajo en tanto se procesan.

Microscopia y tinciones

El examen citológico es importante y útil sólo en el análisis de raspado conjuntival para el diagnóstico de conjuntivitis de inclusión y tracoma causados por *Chlamydia trachomatis*. Las inclusiones intracitoplásmicas típicas se pueden observar en las muestras teñidas con Giemsa. Se puede emplear los anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína para el examen directo de las muestras procedentes del aparato genital, pero no son tan sensibles como los cultivos de clamidias o las pruebas diagnósticas moleculares.

Cultivo de clamidias

Para el aislamiento de las especies de *Chlamydia* se recomiendan técnicas de cultivo celular. El cultivo de células de *C. trachomatis* y de *C. psittaci* casi siempre implica inoculación de las muestras clínicas en células McCoy tratadas con cicloheximida, en tanto que *C. pneumoniae* requiere células HL o HEP pretratadas. En una técnica se emplea crecimiento confluyente de células McCoy sobre cubreobjetos de 13 mm en pequeños frascos desechables. El inóculo se coloca en frascos duplicados y se centrifuga sobre monocapas a aproximadamente 3 000 x g seguida de incubación a 35 °C durante 43 a 72 h y se tiñe. Para detectar la *Chlamydia trachomatis* se emplean inmunofluorescencia, tinción con Giemsa, o tinción con yodo para investigar inclusiones intracitoplásmicas (**Figura 3-6**). Las técnicas de inmunofluorescencia son las más sensibles de las tres tinciones, pero requieren reactivos y microscopía para inmunofluorescencia. Giemsa es más sensible que el yodo, pero la microscopía es más difícil. La tinción con yodo es más fácil de emplear para las muestras de infección oculogenital y tiene una sensibilidad de casi 90% en comparación con las tinciones inmunofluorescentes del cultivo primario acopladas con tinción inmunofluorescente del subcultivo ciego del frasco duplicado.

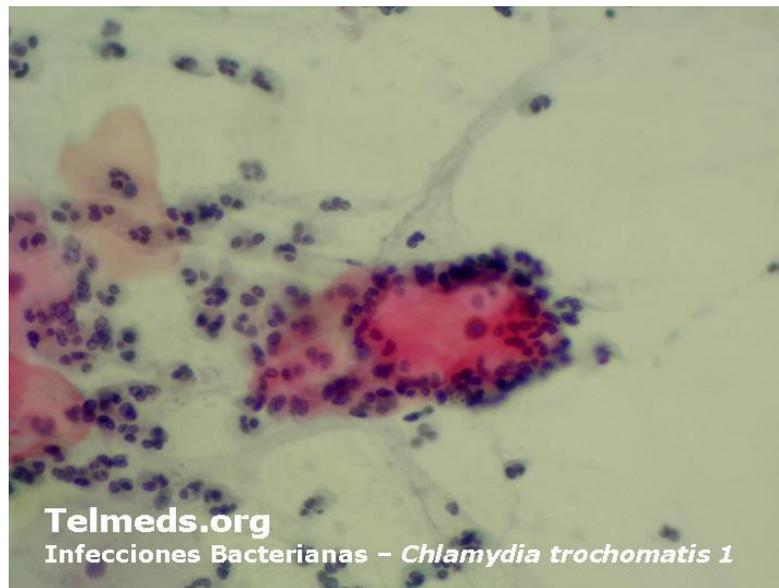


Figura 3-6. *Chlamydia trachomatis*.⁽⁴⁷⁾

Una segunda técnica de cultivo emplea células McCoy en placas de microdilución de 96 pozos y tinción con yodo o anticuerpos fluorescentes. Debido a que el área de la superficie de la monocapa es menor y el inoculo más pequeño, el método de microdilución en placa es menos sensible que la técnica de frasco con cubreobjetos.

Las inclusiones de *Chlamydia trachomatis* se tiñen con yodo, pero las inclusiones de *Chlamydia pneumoniae* y *Chlamydia psittaci* no lo hacen. Estas dos especies se distinguen de *Chlamydia trachomatis* por respuestas diferentes a la tinción con yodo y por su susceptibilidad a la sulfonamida. En cultivo se puede detectar *Chlamydia pneumoniae* mediante un anticuerpo monoclonal específico del género o, aún mejor, por anticuerpo monoclonal específico de especie. Las técnicas serológicas para la diferenciación de especies no son prácticas, aunque *Chlamydia trachomatis* se puede tipificar con el método de microinmunofluorescencia.⁽²⁵⁾

4. PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE DETECCIÓN DE LOS PATÓGENOS CAUSALES DE LAS ITS

Para el diagnóstico en particular de *Gardnerella vaginalis* se siguen los siguientes procedimientos:

- Toma del pH.
- Prueba del KOH.
- Coloración de Gram.
- Cultivo en agar vaginalis e identificación bioquímica.

Toma del pH

Se realiza empleando papel indicador, aplicándolo sobre una lámina portaobjeto donde previamente se haya colocado la secreción vaginal de la paciente. El pH normal oscila entre 4 y 4,5 y generalmente se encuentra elevado a 5-5,5 en las infecciones por *Gardnerella vaginalis*.

Prueba del KOH

Se realiza colocando una gota de la secreción vaginal sobre una lámina portaobjetos y agregándole una gota de KOH 10 %. En las infecciones por este germen hay presencia de aminas aromáticas: putrescina y cadaverina que se liberan durante la reacción desprendiendo un olor a "pescado putrefacto". En estos casos se considera positiva la prueba y negativa cuando no se percibe ese olor.

Coloración de Gram

Se realiza una extensión fina de la secreción vaginal sobre una lámina portaobjetos, a la cual se le realiza coloración de Gram, según las normas establecidas, después de lo cual se realiza observación microscópica con lente de inmersión, buscando:

Células "guías" o "indicadoras" (**Figura 4-1**), que se observan como grandes células epiteliales descamadas de la superficie vaginal a las cuales se adhieren gran cantidad de bacilos cortos Gram negativos. Constituye un importante indicador la ausencia de leucocitos en la secreción vaginal, que puede precisarse tanto en la coloración de Gram como en la observación directa al microscopio del exudado vaginal.

Nota: El diagnóstico de *Gardnerella vaginalis* quedará establecido teniendo en cuenta los criterios anteriormente expuestos de pH mayor de 4.5, KOH positivo, presencia de células guía en la observación microscópica y ausencia de leucocitos.

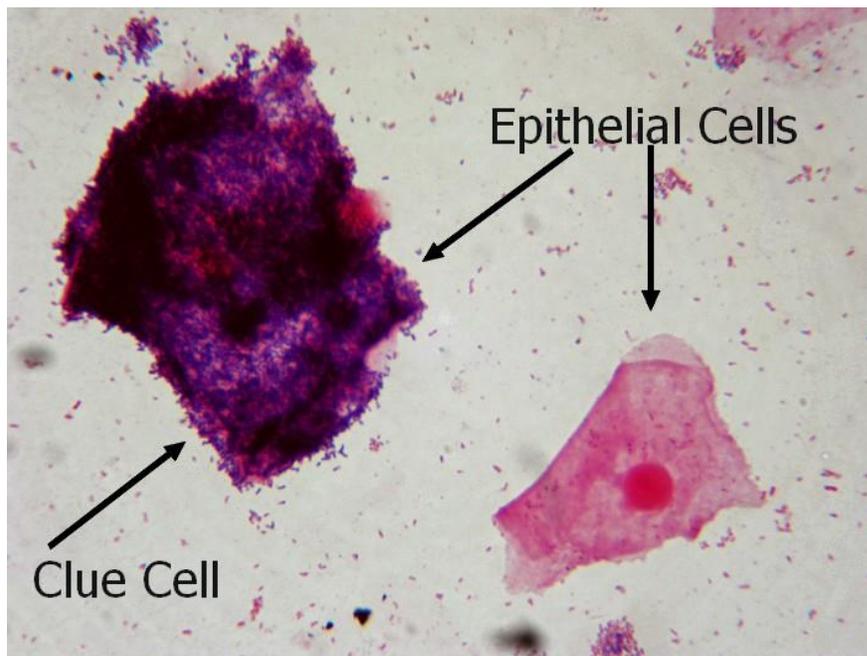


Figura 4-1 Células guía ⁽²⁶⁾

Cultivo en agar vaginalis

Las muestras se inoculan directamente en las placas conteniendo este agar; se estrían con asa de nycrón y se incuban durante 72 horas a 37°C en atmósfera húmeda y 10% de CO₂.

Se realizan lecturas diarias, buscando colonias pequeñas (0,5 mm) grisáceas, de borde entero, superficie lisa y brillante, rodeadas de un halo pequeño de hemólisis Beta, con bordes poco definidos, diferente a la observada en los estreptococos hemolíticos. Se realiza coloración de Gram, prueba de catalasa, que debe ser negativa y se procede al reaislamiento e identificación.

Pruebas bioquímicas

- Hidrólisis del almidón.
- Hidrólisis del hipurato.
- Utilización de glucosa, maltosa y rafinosa.

Esta prueba confirmará el diagnóstico si resultan positivos el almidón y el hipurato, mientras que la rafinosa es negativa.⁽¹⁰⁾

4.1 Detección de Gonorrea Gonocócica

Neisseria gonorrhoeae. Los medios de transporte tipo Stuart-Amies tienen un nivel de recuperación del gonococo a temperatura ambiente del 100% a las 12 horas y de más del 90% a las 24 horas.

Otros medios de transporte como el Transgrow o Jembec son también útiles pero más caros.

La tinción de Gram es una técnica rápida y tan sensible como el cultivo en la uretritis sintomática en hombres, pero es poco sensible en otras localizaciones (**Figura 4-2**).

El gonococo aparece como cocos gramnegativos ovales, arriñonados y en parejas intra y extracelularmente.

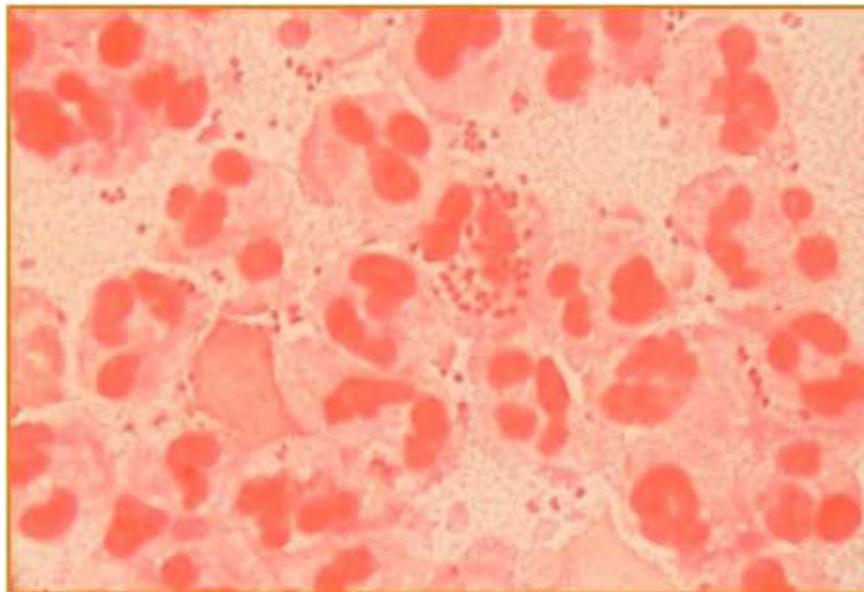


Figura 4-2. Tinción de Gram de exudado uretral de paciente con uretritis gonocócica (x1000)⁽¹²⁾

La identificación presuntiva del gonococo a partir de muestras genitales se realiza mediante cultivo tanto en medios no selectivos, como el agar chocolate (algunas cepas pueden inhibirse en los medios

selectivos), como en medios selectivos: agar Thayer-Martin, Martín-Lewis o medio New York City. El cultivo es la técnica de referencia por su sensibilidad, especificidad, bajo costo e idoneidad para múltiples tipos de muestras.

Los medios se deben incubar en ambiente húmedo y con 5% de CO₂ a 37°C. El cultivo debe examinarse cada 24 h durante al menos 72 horas. La proporcionan una identificación suficientemente adecuada para iniciar el tratamiento antimicrobiano.

Identificación definitiva

Los medios clásicos utilizados para la determinación de los patrones de utilización de los carbohidratos consisten en agar con cistina, tripticasa y soja con dextrosa, maltosa, lactosa o sacarosa al 1%, sin embargo, no proporcionan buenos resultados para la identificación de gonococo ni de meningococo.

Actualmente se utilizan varios métodos de identificación comerciales como el API NH (bioMérieux). Las pruebas de detección de ácidos nucleicos mediante hibridación con sondas y de amplificación de ácidos nucleicos poseen una elevada sensibilidad y especificidad.⁽¹¹⁾

4.2 Detección de *Chlamydia trachomatis*.

Los métodos de diagnóstico se basan en:

1. El aislamiento de *Chlamydia trachomatis* en cultivos celulares
2. La detección directa de diferentes antígenos en la muestra clínica.
3. Pruebas moleculares como la PCR o la LCR.⁽¹¹⁾

El cultivo sigue siendo la técnica más específica (100%) y en algunos países es la única legalmente aceptada para confirmación de *Chlamydia trachomatis* en caso de abusos sexuales. Se utilizan habitualmente células McCoy, HeLa229 y BGMK, y generalmente en *Shell vial*. Las inclusiones citoplasmáticas se pueden observar a las 48 o 72 horas de incubación, tras tinción de las preparaciones con lugol o Giemsa, o con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína.

La inmunofluorescencia directa ofrece mejores resultados en tomas endocervicales y uretrales de pacientes sintomáticos, y requiere personal experimentado en microscopía de fluorescencia y en la observación de cuerpos elementales. Una vez fijada y secada la muestra debe conservarse en cámara oscura y húmeda y observarse en menos de 7 días. Es altamente específica pero requiere un largo tiempo de observación por lo que sólo es útil para laboratorios que procesen pocas muestras. También existen sistemas comerciales como Microtrack®.⁽¹²⁾

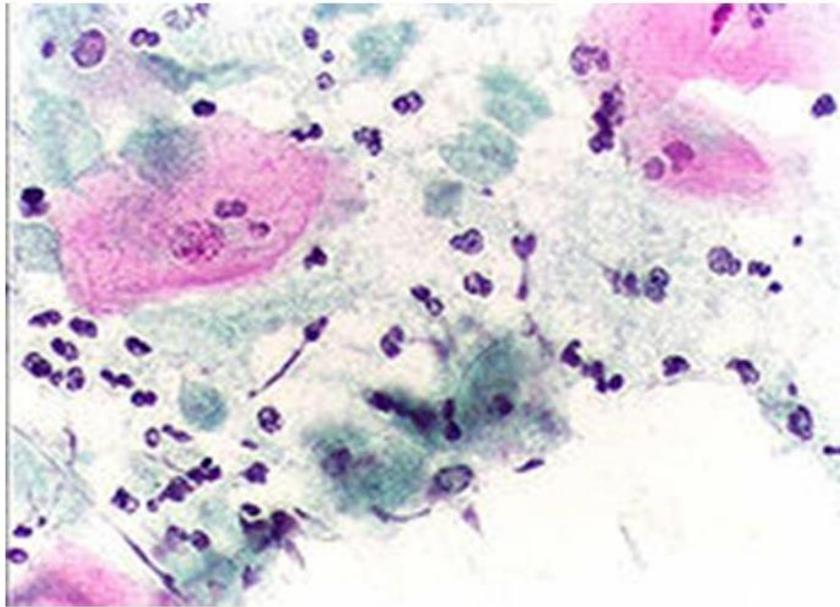
4.3 Diagnóstico de Tricomoniasis.

El diagnóstico se establece por microscopía, con el exudado teñido con Giemsa o naranja de acrinidina o en fresco con el exudado mezclado con suero salino, método específico en caso de vaginitis purulenta (**Figura 4-3**).⁽¹¹⁾

El cultivo es el método más sensible y específico de diagnóstico; pueden utilizarse diferentes medios como el Tricosel (BBL), que se incuba en anaerobiosis. ⁽¹¹⁾

Diagnóstico:

- a) pH: generalmente está aumentado, pero a diferencia de vaginosis bacteriana, puede cursar la infección con pH <4.5.
- b) Prueba de aminas: en la mayoría de los casos es positivo, aunque raramente puede ser negativo.
- c) Microscopía: es el método de diagnóstico más importante en la práctica diaria. La visualización del parásito es posible mediante el examen en fresco con solución fisiológica o luego de la tinción (Giemsa). La microscopía sólo detecta un 40-80% de los casos de infección. El visualizar un solo parásito establece el diagnóstico.
- d) Respuesta inflamatoria: suele ser positiva
- e) Cultivo: a diferencia de lo que ocurre con otras infecciones cervicovaginales, el cultivo es menos sensible que la microscopía, especialmente en pacientes asintomáticos. Los cultivos deben incubarse en anaerobiosis y en la mayoría el aislamiento ocurre dentro de las 48 h., pero un cultivo negativo debe mantenerse en observación por 7 días y ser reexaminado periódicamente.
- f) Citología cervical (PAP): la sensibilidad es del 60 a 70%, similar al examen en fresco, aunque los falsos positivos son comunes y deben confirmarse por visualización directa o cultivo. ⁽¹¹⁾



Trichomonas móviles en el exudado

Figura 4-3 Diagnóstico de tricomoniasis ⁽⁶³⁾

4.4 Diagnóstico de Candidiasis

Candida albicans es la causa de un 80-90% de los casos, seguida de *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, y *Candida krusei*. Para el diagnóstico se realiza la observación microscópica de

levaduras en el exudado vaginal mediante visualización en fresco o tras tinción de Gram. Esta técnica tiene la ventaja de la rapidez, pero su sensibilidad es baja (50%). La confirmación diagnóstica se realiza mediante cultivo en agar Sabouraud o en agares cromogénicos (**Figura 4-4**) y posterior identificación con la prueba de la filamentación y/o la identificación por métodos comerciales como el API C AUX (bioMérieux) (**Figura 4-5**).⁽¹²⁾

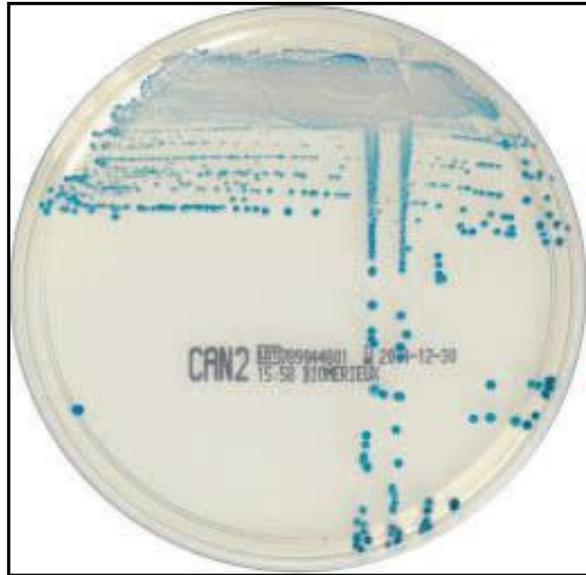


Figura 4-4 Colonias de *Candida albicans* en Cromoagar CAN2 (color azul).

Los medios de cultivo indicados para estas muestras son medios sólidos selectivos para el aislamiento de levaduras, sobre todo agar de Sabouraud suplementado con antibióticos (SDAC).

Otros medios con sustratos fluorogénicos (Fluoroplate Candida, SDCA-MUAG agar) y cromogénicos (Albicans ID, Candiselect, Candichrom) orientados a la detección de la enzima β -galactosaminidasa, han supuesto un avance importante para la identificación presuntiva de *Candida albicans* en los cultivos primarios de muestras vaginales, pero no pueden equipararse al medio CHROMagar Candida que diferencia, además, otras especies.⁽⁴⁴⁾

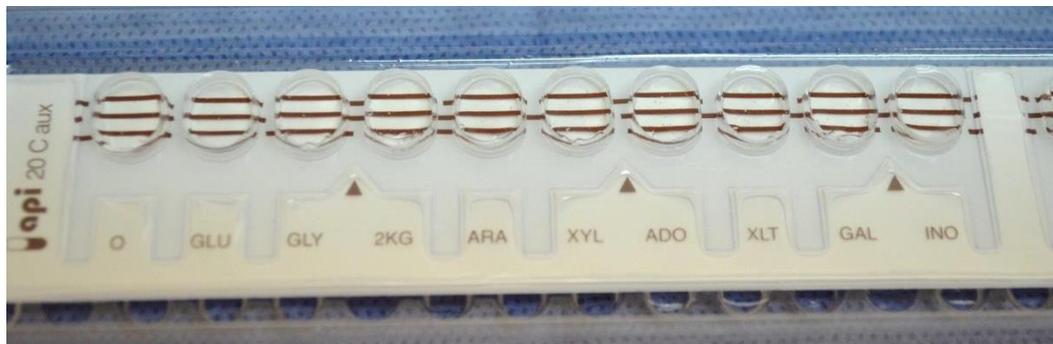


Figura 4-5 Sistema API C AUX

5. EL SISTEMA URINARIO

El sistema urinario consta de riñones, uréteres, vejiga y uretra. Los riñones funcionan como un sistema especializado de filtro, para limpiar la sangre de muchos materiales de desecho, reabsorbiendo selectivamente sustancias que pueden ser reutilizadas. Los materiales de desecho se excretan en la orina, que por lo regular es ácida, debido a la excreción en exceso de los iones hidrógeno, provenientes de los alimentos y el metabolismo. La orina alcalina sugiere una infección con una bacteria que produce ureasa, que convierte la urea de la orina en amoníaco. Los antimicrobianos se excretan habitualmente en la orina y llegan a concentraciones más altas que las del torrente circulatorio. Cada riñón está drenado por un uréter, que lo conecta con la vejiga urinaria. La vejiga actúa como un tanque de almacenamiento. Una vez lleno, se vacía a través de la uretra. Las infecciones del tracto urinario ocurren con más frecuencia en mujeres que en varones, debido a que la uretra femenina es corta (unos 4 cm, en comparación con los 20 cm de la masculina) y se encuentra adyacente a las aberturas de los tractos genital e intestinal (**Figura 5-1**). Grupos especiales de músculos cerca de la uretra mantienen cerrado el sistema la mayor parte del tiempo y ayudan a evitar la infección. El flujo descendente de la orina ayuda también a limpiar el sistema sacando los microorganismos antes de que tengan la oportunidad de multiplicarse y causar infección.⁽¹³⁾

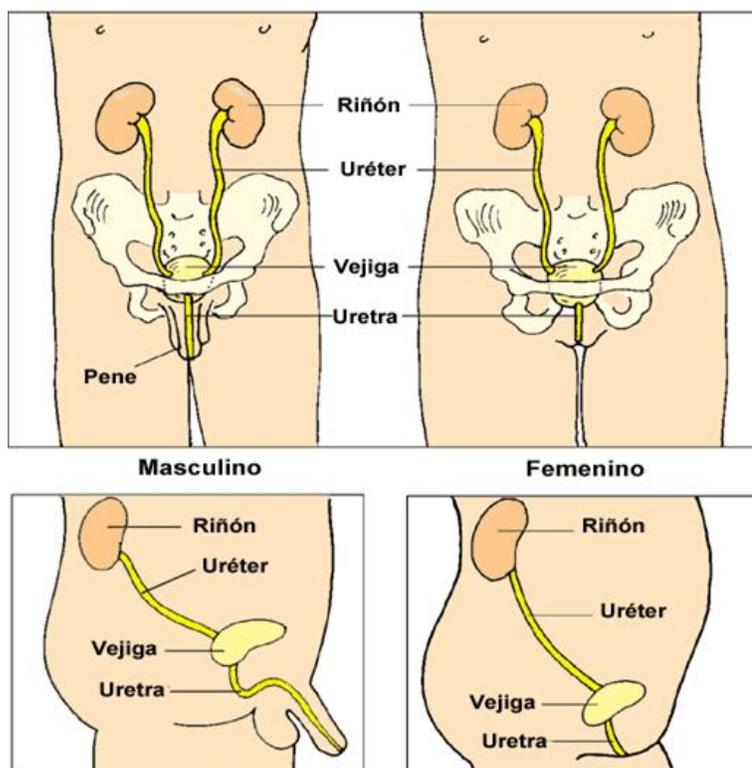


Figura 5-1 Aparato urinario femenino y masculino.⁽⁴⁸⁾

La anatomía de la uretra femenina es de importancia particular para la patogenia de las infecciones del tracto urinario. La uretra femenina es relativamente corta, comparada con la masculina, y también se encuentra más próxima a la región perirrectal, caliente y húmeda, en la que abundan microorganismos. Debido a la longitud de la uretra en el huésped de sexo femenino las bacterias pueden alcanzar la vejiga con más facilidad.

A menudo las infecciones del tracto urinario (**ITU**) se clasifican en altas o bajas, en mayor medida de acuerdo con la localización anatómica de la infección: el **tracto urinario inferior** comprende la vejiga y la uretra y el **tracto urinario superior** abarca los uréteres y los riñones (**Figura 5-2**).⁽⁴⁾

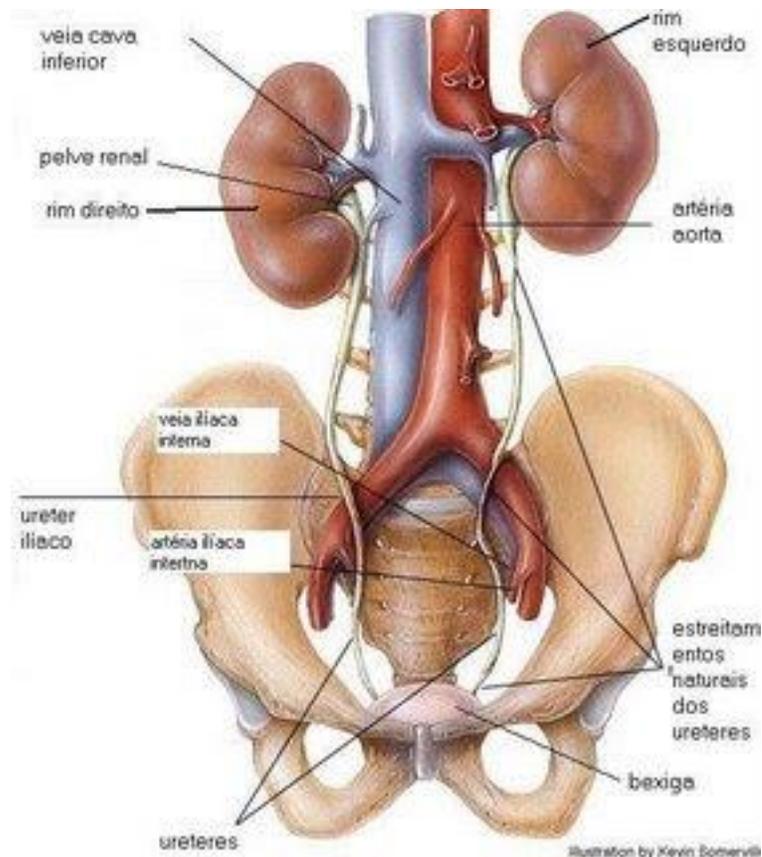


Figura 5-2 Sistema urinario⁽⁴⁹⁾

Los riñones son dos órganos del aparato urinario que se encuentran alojados a uno y otro lado de la columna vertebral en su región lumbar, por debajo del diafragma, por detrás de los órganos abdominales y del peritoneo que envuelve a éstos; por delante de las masas musculares lumbares y arriba de la pelvis.

Los riñones tienen forma semejante a una semilla de frijol; en ellos se distingue un polo superior y un polo inferior; un borde interno convexo, y otro interno formado por tres convexidades más cortas, que están en relación con la pelvis renal.

Si se hace un corte longitudinal por la parte media del riñón puede observarse a simple vista la presencia de dos zonas. La externa o periférica, llamada corteza renal y la central, llamada zona medular. (**Figura 5-3**)⁽¹⁴⁾

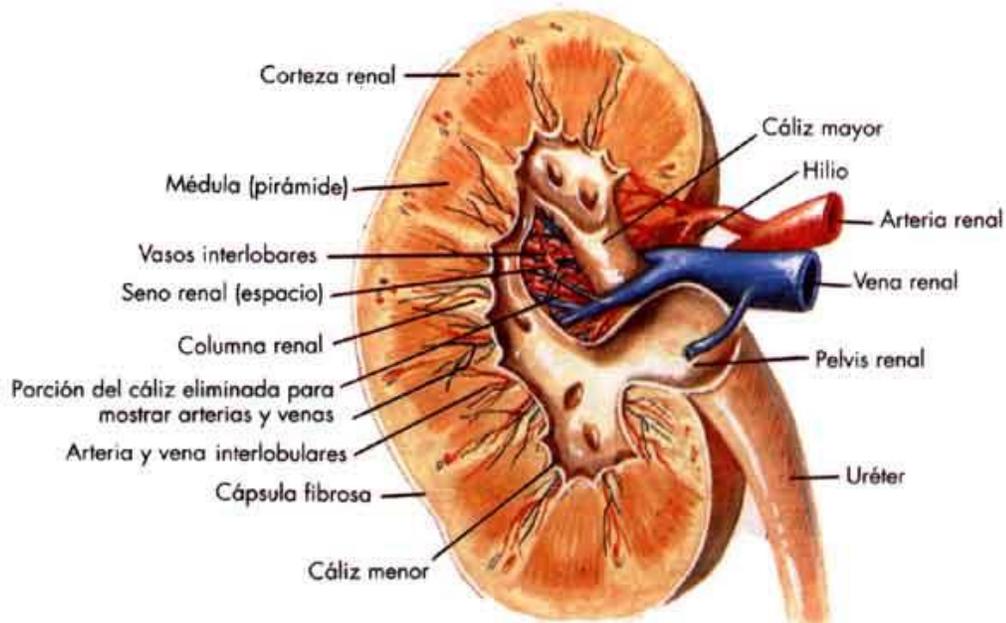


Figura 5-3. Corte longitudinal del riñón.⁽⁵⁰⁾

La **zona medular** está formada por un conjunto de estructuras triangulares al corte, de base contigua a la parte cortical y de vértice interno, a las que se llama *pirámides de Malpigio*.

Los vértices de dichas pirámides constituyen las llamadas *papilas urinarias* por donde fluye la orina eliminada, y tales papilas se acoplan a los *cálices* de la *pelvis renal*, por donde se vacía la orina.

La **pelvis renal** puede compararse a un embudo en cuya entrada están los cálices renales que sirven de receptáculo a las papilas urinarias, y en cuya salida está, sin límite de demarcación, el *uretero*, que conduce la orina a la vejiga.

El **uretero o uréter**, de cada lado, es un tubo que se extiende desde la pelvis hasta la *vejiga urinaria* en la que desemboca.

Microscópicamente los riñones están constituidos por la unión de múltiples unidades estructurales unidas entre sí por tejido conectivo.

Dichas unidades estructurales a la vez que funcionales, se llaman *glomérulos de Malpigio*.

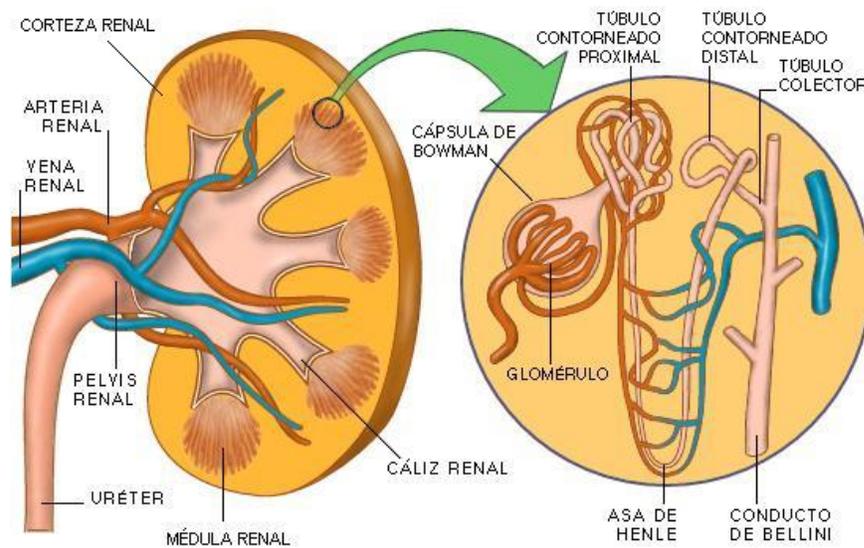


Figura 5-4 Glomérulo de Malpighio ⁽⁵¹⁾

El **glomérulo de Malpighio** está formado por la *cápsula de Bowman* que se continúa con el *tubo contorneado proximal*; éste se continúa hasta el *asa de Henle*, y ésta, a su vez, con el *túbulo contorneado distal*.

Por el borde interno de los riñones penetra una *arteria renal* que se divide, en el parénquima del órgano, en vasos cada vez más pequeños hasta alcanzar el diámetro capilar.

Esos vasos renales llegan hasta la cápsula de Bowman en cuyo interior, de forma de copa, se introducen formando así la *arteria aferente*.

A través del vaso glomerular y de la pared de la cápsula se realiza el filtrado de sustancias que se deben eliminar.

El otro extremo del vaso, o sea el que sale, llamado por eso *eferente*, después se pone en contacto con los túbulos renales a través de los cuales se realiza la reabsorción de cierta cantidad de agua y de algunos elementos.

Al conjunto de vasos aferente y eferente, de cápsula, de túbulos, y de asa de Henle, se lo llama *glomérulo de Malpighio*. (**Figura 5-4**)

El paso del agua y solutos a través de la arteria glomerular y la cápsula de Bowman, se llama filtrado glomerular.

El tamaño de las moléculas filtrables también influye en la posibilidad de filtración; las que no se filtran son más grandes (proteínas).

El filtrado glomerular está constituido por agua, sales minerales y algunos productos finales del metabolismo, como son la urea, la creatinina, el ácido úrico y una pequeña porción de coloides metabólicos.

El volumen de orina eliminado en 24 horas por adulto sano en circunstancias ordinarias varía entre 1,000 y 1,800cc.

La orina producida en los riñones llega hasta la vejiga a través de los *ureteros*. Los ureteros son dos tubos que van desde la pelvis renal a la vejiga, en la cual desembocan en su pared posterior y en su tercio interior formando los ángulos posteriores de una región de la vejiga llamada *trígono vesical*.

La vejiga urinaria es un tubo o bolsa, alojado en la parte inferior del abdomen y superior de la pelvis. Se encuentra por debajo de la cavidad peritoneal y es un órgano extraperitoneal.

La vejiga urinaria está constituida por una capa de tejido seroso en cuyo interior se encuentra una túnica muscular revestida por su cara interior de un epitelio mucoso estratificado.

La uretra es diferente en el hombre y en la mujer. La uretra femenina es corta y casi recta; en cambio en el hombre es larga y flexuosa. La uretra masculina es un conducto común para el aparato urinario y para el genital (**Figura 5-5**).⁽¹⁴⁾

La uretra femenina desemboca en la región genital por abajo y atrás de la sínfisis del pubis.

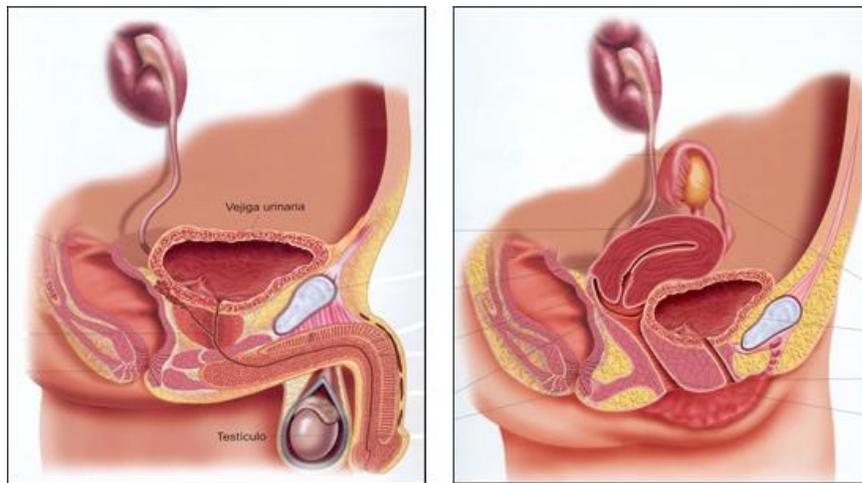


Figura 5-5 Uretra masculina y femenina.⁽⁵²⁾

5.1 Microorganismos residentes de las vías urinarias

La uretra tiene una flora residente que coloniza su epitelio en la porción distal. Los patógenos incluidos los bacilos aerobios gramnegativos sobre todo los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y algunas levaduras, también están presentes como colonizadores transitorios. Todas las áreas del aparato urinario por encima de la uretra son estériles en un ser humano sano. En los casos típicos la orina es estéril, pero con los métodos no invasivos se obtienen muestras de orina que pasaron a través de un entorno contaminado. Por consiguiente se usan cultivos cuantitativos para el diagnóstico de ITU con la finalidad de diferenciar entre contaminación, colonización e infección (**Figura 5-6**).⁽⁴⁾

5.1.1 Microflora uretral normal

En condiciones normales, la uretra proximal no contiene flora microbiana. Evidentemente, existen factores que impiden dicha colonización (arrastre mecánico por la orina, actividad antibacteriana normal de la orina). La uretra distal suele contener escasa cantidad de microorganismos, pero bien adheridos al epitelio. Una parte de esta flora procede de la piel (vulva, prepucio, glande) y está compuesta por *Staphylococcus epidermidis*, en ocasiones por *Staphylococcus saprophyticus*, junto con *Streptococcus* del grupo *Viridans*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*. La otra fuente de flora uretral la constituye el ecosistema vaginal. En la mujer pueden aislarse también normalmente (flora adherida) *Lactobacillus*, *Candida*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* y *Gardnerella vaginalis* y, en personas mayores, *Escherichia coli*. La flora anaerobia debe estar también presente, pero se la ha estudiado poco. En el varón sexualmente activo se encuentran, en la uretra anterior, por razones obvias, el mismo tipo de microorganismos; en ausencia de actividad sexual, predomina la flora de tipo cutáneo junto con *Candida*, sobre todo en individuos no circuncidados. Sería de interés el estudio de flora uretral de individuos homosexuales, pero los datos disponibles son muy escasos. Si bien es discutible que pueda hablarse, *sensu stricto*, de la existencia de una comunidad microbiana establecida (flora normal) de la uretra, Reid y Sobel han sugerido la posibilidad de que la flora de la piel que coloniza la uretra distal (*Lactobacillus*) tenga un efecto en la prevención de colonizaciones exógenas e infecciones urinarias, en particular por un mecanismo de "ocupación" de zonas epiteliales de adhesión, pero también a través de la producción de sustancias antibióticas.⁽²⁾

En la parte anterior o distal de la uretra de hombre se puede encontrar flora de la piel: micrococos, estafilococos, enterococos, corinebacterias y algunos micoplasmas; en hombres no circuncidados la flora puede ser más abundante y variada. *Mycobacterium smegmatis* se localiza en el esmegma y surco balanoprepucial.⁽¹⁵⁾

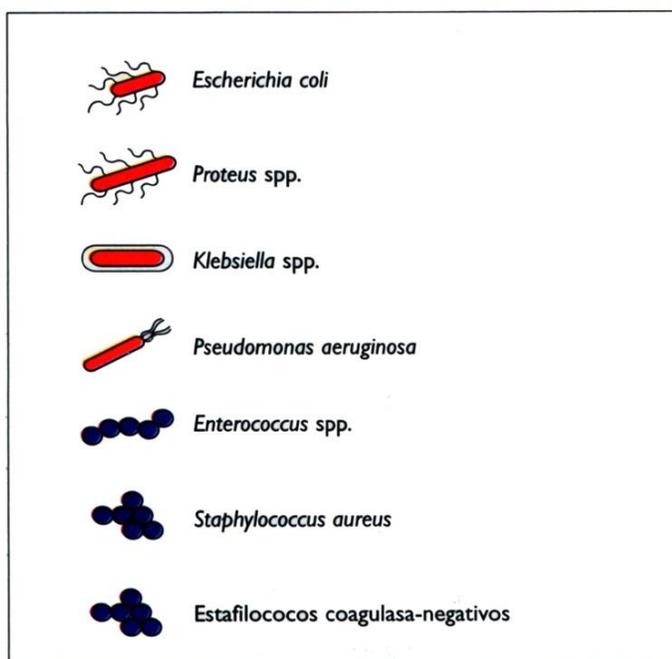


Figura 5-6. Algunas de las bacterias implicadas más a menudo en la ITU.⁽³⁾

5.2 Infecciones del Tracto Urinario (ITU)

La única parte del aparato urinario con flora bacteriana residente es la uretra. Este aparato suele ser estéril por arriba de la válvula vesiculouretral y cualquier bacteria que entra a la vejiga es eliminada por los sistemas defensivos de las mucosas o barrida por el flujo de la orina. El aparato urinario se infecta cuando las bacterias logran llegar a la vejiga, con o sin participación de ureteros y riñones; ahí comienzan a multiplicarse. Se han hecho intentos por distinguir entre infecciones que afectan a los riñones (pielonefritis) y ureteros y aquellas en las que sólo es afectada la vejiga (cistitis). Esto es importante para establecer el pronóstico a largo plazo de las infecciones recurrentes, ya que la infección repetida del riñón mismo se relaciona con la condición de daño renal permanente acompañado de cicatrización conocida como la pielonefritis crónica (un diagnóstico patológico y no microbiológico); sin embargo, la diferencia entre afección de las vías urinarias no existe, y en principio es mejor considerar al aparato urinario como una sola entidad.

Estas infecciones se pueden dividir en dos tipos, primario y secundario. Las infecciones primarias ocurren en personas con aparato urinario normal y son poco comunes en varones. El factor principal que hace a la infección del aparato urinario primaria una enfermedad exclusiva de las mujeres es la anatomía de la uretra. La uretra femenina es corta (5 cm); constituye una barrera pequeña a la entrada de bacterias a la vejiga y se abre hacia la superficie de la vulva, un área enormemente colonizada enormemente de bacterias, mientras que la uretra masculina, mucho más larga es una mejor protección para la vejiga y se encuentra bastante lejos del perineo. Además, la relación anatómica de la uretra femenina con la vejiga la hace más susceptible al traumatismo durante la relación sexual (cuando las bacterias pueden ser empujadas de la uretra a la vejiga) y durante el parto. La infección del aparato urinario primaria en mujeres es por lo tanto más frecuente en relación con la actividad sexual y el embarazo.

La infección del aparato urinario secundaria es el resultado de alguna anormalidad o de instrumentación, y se presenta tanto en varones como en mujeres. El factor predisponente puede ser cualquier cosa que perturbe el funcionamiento; por ejemplo: obstrucción del flujo o incapacidad para evacuar la orina. La lista de posibilidades incluye constricción o válvulas uretrales, divertículos en la vejiga, cálculos urinarios, crecimiento de la próstata, carcinoma de la vejiga, cistitis renal, ureteros dobles, riñones en herradura, vejiga neurogénica y procedimientos terapéuticos como cateterización de la vejiga o cistoscopia.

La infección del aparato urinario secundaria es una complicación frecuente del manejo de muchas otras situaciones de pacientes hospitalizados, es especial cuando es necesaria la cateterización.⁽¹⁶⁾

5.3 Epidemiología

La infección del aparato urinario es una de las enfermedades infecciosas más comunes. Numerosos estudios en mujeres entre 15 y 50 años en varios países demuestran que en cualquier momento de 4 a 6% de ellas presentan bacteriuria significativa, lo que representa que una gran proporción debe presentar cuando menos un episodio de esta infección durante este intervalo de edades, y tal vez varios episodios. Aproximadamente la mitad de los casos de bacteriuria significativa detectados de esta manera son asintomáticos y en la mayoría de las mujeres con infección (sintomática o

asintomática) no hay pruebas de anomalías del aparato urinario, incluso en aquellas que han presentado repetidos episodios de infección.

Aproximadamente el 1% de los niños presentan infección del aparato urinario en el primer año de vida. Es más común en los niños varones y suele ser secundaria a anomalías congénitas del aparato urinario, que con frecuencia son menores. ⁽¹⁶⁾

Las infecciones nosocomiales más frecuentes del tracto urinario en pacientes portadores de sonda urinaria se presentan en un 40%. Asimismo, alrededor de un 30% de pacientes hospitalizados se someten a cateterismo urinario, de ellos un 10% -15% presentan bacteriuria asintomática, con un riesgo de infección del 3% al 5% por día de cateterización. Las bacterias más frecuentes en infecciones del tracto urinario son, *Escherichia coli* el 80%; *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* en el 10-15% de casos y *Enterococcus faecalis* en un 5-10%, rara vez *Staphylococcus aureus*. ⁽¹⁷⁾

Las ITU son complicaciones importantes de la diabetes, las enfermedades renales, el trasplante renal y las anomalías estructurales y neurológicas que interfieren en el flujo de orina. En el 40 al 60% de los receptores de trasplantes renales las vías urinarias son la fuente de la bacteremia y en esos pacientes la tasa de recurrencia es cerca del 40%. Además, las ITU sin una causa importante de sepsis por gramnegativos en los pacientes hospitalizados y representa el origen de alrededor de la mitad de todas las infecciones nosocomiales causadas por sondas urinarias. ⁽⁴⁾

De acuerdo al Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE), los casos de Enfermedades Transmisibles hasta la semana epidemiológica 35 del 2012 se han reportado en el Distrito Federal:

- Infección de vías urinarias: Hombres: 66,461 y Mujeres: 190,134 casos. ⁽⁸⁾

5.4 Agentes etiológicos

En la infección simple sin complicaciones, el 80% de las infecciones son causadas por *Escherichia coli*, entre el 7% y el 8% por *Proteus mirabilis* y una proporción similar por *Staphylococcus saprophyticus*. El restante 5% en su mayoría es por enterococos.

Tabla 5-1 Bacterias que causan infección del aparato urinario. ⁽¹⁶⁾

Incidencia de especies (%)		
ITU Primario		ITU secundario
80	<i>Escherichia coli</i>	60
8	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1
8	<i>Proteus mirabilis</i>	15
3	<i>Enterococcus</i>	10
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5-10
<1	Especies de <i>Klebsiella</i>	5-10
	Otras enterobacterias	
	Otros estafilococos	

Escherichia coli es por menos lejos la causa más frecuente de ITU no complicadas adquiridas en la comunidad. A nivel molecular la cepa de *E. coli* que causa ITU es lo suficientemente diferente de los otros tipos de *E. coli* como para que se le designe *E. coli* uropatógena (UPEC, del inglés “uropathogenic” *E. coli*).⁽⁴⁾

Staphylococcus saprophyticus es un comensal de la piel que se localiza en la superficie perineal, y menos a menudo en otras partes del cuerpo. Produce infección principalmente en mujeres jóvenes; con síntomas notables en las vías urinarias inferiores (frecuencia y disuria), hematuria y piuria intensa.

En la infección secundaria muchos casos son causados por otros bacilos gramnegativos, en especial los más resistentes a antibióticos relacionados con hospitales, como *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Pseudomona aeruginosa*.⁽¹⁶⁾

Tabla 5-2 Etiología de las infecciones del tracto urinario.⁽¹⁵⁾

Microorganismos	Hospitalarias	Extrahospitalarias
<i>Escherichia coli</i>	47.3	56.5
<i>Proteus mirabilis</i>	20.6	14.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9.5	8.7
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	8.3	4.1
<i>Enterococcus faecalis</i>	4.5	2.1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.3	4.1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1.2	2.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.2	1.3
<i>Proteus</i>	1.2	0.6
<i>Serratia marcescens</i>	1.2	0.0
<i>Candida albicans</i>	1.1	0.6
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0.5	0.6
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0.0	1.4
otros	2.1	3.2

5.5 Tuberculosis renal

La tuberculosis del aparato urinario es una infección del tipo secundario (del adulto) que se presenta cuando focos de tuberculosis en los riñones, implantados por el torrente sanguíneo durante la fase primaria de la enfermedad, se reactivan produciendo destrucción y caseificación del parénquima renal. Ocurre daño renal progresivo y se excretan en la orina células de pus o piocitos (polimorfos) y *Mycobacterium tuberculosis*. La vejiga también puede estar infectada, con inflamación crónica que causa engrosamiento de la pared de la vejiga y vaciado incompleto.⁽¹⁶⁾

Aunque *Mycobacterium tuberculosis* es el agente más común de infección renal, otras micobacterias, como *M. bovis*, *M. kansasii*, *M. avium-intracellulare*, y *M. leprae*, también pueden causar infección renal (**Figura 5-7**).



Figura 5-7 Tuberculosis renal ⁽⁵³⁾

Pacientes inmunosuprimidos son más vulnerables a infecciones por micobacterias. El trasplante renal también es un factor de riesgo para el desarrollo de tuberculosis renal.

Hay dos tipos de tuberculosis renal: tuberculosis miliar y cavitaria:

a) Tuberculosis miliar (infección diseminada)

El involucramiento renal puede ser resultado de la diseminación hematógica de una infección tuberculosa primaria, de una lesión pulmonar activa o de una reactivación de una lesión tuberculosa sanada. La tuberculosis miliar es a menudo clínicamente silenciosa y se enmascara por manifestaciones clínicas de la infección sistémica. Frecuentemente, el riñón muestra nódulos blancos de alrededor de 1mm de diámetro, los cuales son más frecuentes en la corteza que en la médula. Microscópicamente, el tubérculo temprano es granuloma caseoso que consisten en células epiteloideas y neutrófilos y tienen necrosis caseosa central. A menudo células mononucleares se infiltran como linfocitos, monocitos y células plasmáticas se encuentran presentes.

El tubérculo se puede contener y curar, o la infección se puede expandir y, si en la médula renal, puede alcanzar la pelvis renal, permitiendo la liberación de microorganismos hacia el tracto urinario. En pacientes que fallecieron por tuberculosis pulmonar, tubérculos renales fueron encontrados en más del 60% de las autopsias.

b) Tuberculosis cavitaria (Infección del tracto urinario localizado)

Una alta cantidad de hombres presentan tuberculosis genital, afecta particularmente el epidídimo y menos frecuente, la próstata. La tuberculosis genital (si se presenta usualmente es en las trompas de Falopio). El tracto urinario inferior es comúnmente afectado en la tuberculosis cavitaria. Por lo tanto, la posibilidad de una infección ascendente del tracto urogenital aumenta.

En la forma cavitaria de la tuberculosis renal, también llamada caseosa y ulcerativa, la mayoría de los síntomas son resultado de la participación del tracto urinario inferior, particularmente de la vejiga, y

manifestaciones frecuentes como disuria y hematuria. En la orina común se encuentra piuria y hematuria microscópica (**Figura 5-8**).

El diagnóstico de la tuberculosis renal requiere un cultivo positivo para micobacterias y un cultivo de orina, obtenido de 3 a 5 días consecutivos. Métodos más sensibles incluyen PCR de orina para micobacterias, éste incrementa la exactitud del diagnóstico.

Microscópicamente se observan lesiones de material caseoso típicas y en las particiones periféricas se demuestra reacción granulomatosa. ⁽¹⁸⁾

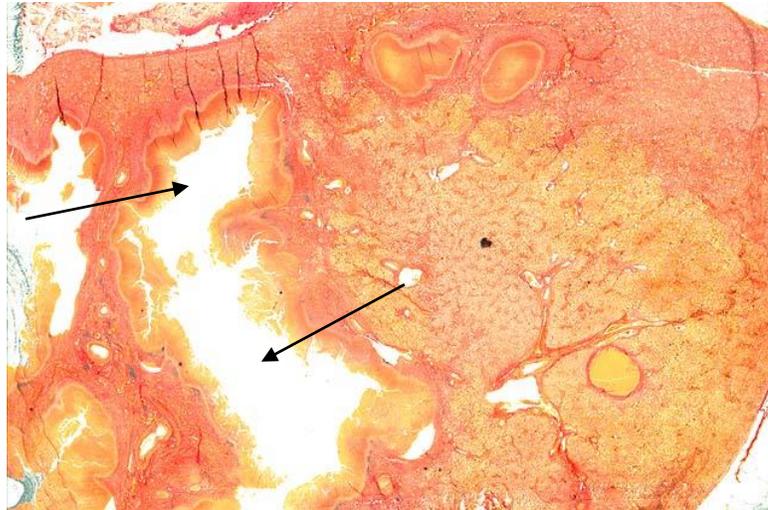


Figura 5-8 Tuberculosis renal ulcerocaseosa. El corte histológico panorámico presenta una extensa lesión cavitaria abierta hacia la pelvis renal. ⁽⁵⁴⁾

5.6 Contagio y etiología de las ITU

La infección bacteriana se suele adquirir por vía ascendente, desde la uretra hasta la vejiga, y puede continuar hasta el riñón. En ocasiones, las bacterias que infectan el tracto urinario invaden el torrente sanguíneo para causar septicemia. Con menos frecuencia, la infección puede deberse a diseminación hematogena de un microorganismo hasta el riñón, y en esos casos la primera parte del tracto que se infecta es el tejido renal.

Las infecciones ascendentes del tracto urinario son causadas la mayoría de las veces por el bacilo gramnegativo *Escherichia coli*. También pueden participar otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae*; *Proteus mirabilis* se asocia frecuentemente con cálculos urinarios, probablemente debido a que el germen produce una ureasa potente que actúa sobre la urea para producir amoníaco y conviene la orina en alcalina.

Klebsiella, *Enterobacter*, *Serratia* y *Pseudomona aeruginosa* se encuentran con más frecuencia en la infección del tracto urinario (ITU) adquirida en el hospital, debido a que su resistencia frente a los antibióticos favorece la selección en los pacientes hospitalizados.

Entre las especies grampositivas, *Staphylococcus saprophyticus* parece tener tendencia particular a causar infecciones en mujeres jóvenes sexualmente activas. *Staphylococcus epidermidis* y *Enterococcus* se asocian más frecuentemente con ITU en pacientes hospitalizados. En épocas más recientes, las especies capnófilicas (organismos que crecen mejor en aire enriquecido con CO₂), como corinebacterias y lactobacilos, han sido implicadas como causas posibles de ITU. Por otra parte, los anaerobios obligados participan muy rara vez.

Cuando se ha producido diseminación hematógena hasta el tracto urinario, se pueden encontrar otras especies, por ejemplo, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculosis renal).⁽¹⁹⁾

5.7 Infección viral causantes de ITU

Las causas virales de infección del tracto urinario parecen ser raras, aunque es posible recuperar ciertos virus de la orina en ausencia de enfermedad del tracto urinario. Los poliomavirus humanos JC y BK entran en el cuerpo a través del tracto respiratorio, se diseminan e infectan las células epiteliales de los túbulos renales y el uréter, donde establecen latencia con persistencia del genoma viral, pero sin presencia de virus infecciosos. Aproximadamente la tercera parte de los riñones de individuos sanos contienen secuencias del ADN de los poliomavirus. Sin embargo, esos virus pueden reactivarse asintómicamente durante el embarazo normal, con aparición de grandes cantidades de ellos en la orina. La reactivación ocurre también en pacientes inmunocomprometidos. Pueden eliminarse grandes cantidades de citomegalovirus en la orina, sin producir síntomas, en lactantes con infección congénita. En contraste con la diseminación asintomática, algunos serotipos de adenovirus han sido implicados como causa de cistitis hemorrágica.⁽¹⁹⁾

5.8 Otros tipos de infección que causan ITU

Las causas no bacterianas de infección del tracto urinario incluyen a los hongos *Candida* e *Histoplasma capsulatum*. Muy pocos parásitos son responsables de infecciones en el tracto urinario. El protozoo *Trichomonas vaginalis* puede causar uretritis tanto en los varones como en las hembras, pero se considera más frecuentemente como causa de vaginitis.

Las infecciones por *Schistosoma haematobium* producen inflamación de la vejiga y muchas veces hematuria. Los huevos atraviesan la pared vesical, y en las infecciones graves pueden ocurrir grandes reacciones granulomatosas con posible calcificación de los huevos. Las infecciones crónicas se asocian con cambios malignos, aunque no está clara la causa de tales cambios. La obstrucción del uréter a consecuencia de las lesiones inflamatorias inducidas por los huevos también puede producir hidronefrosis.⁽¹⁹⁾

6. PATOGENIA DE LAS INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO

6.1 Factores predisponentes a la infección

Los factores mecánicos son importantes. Cualquier cosa que trastorne el flujo normal de la orina o el vaciamiento completo de la vejiga, o que facilite el acceso de gérmenes a la vejiga, predispondrá a la

infección. La uretra femenina, más corta, constituye una barrera menos eficaz para la infección que la uretra masculina. El coito facilita el ascenso de microorganismos por la uretra, sobre todo en las hembras, por lo que la incidencia de ITU es más alta entre las mujeres sexualmente activas que en las núbiles. Quizá sea más importante la colonización bacteriana previa del área periuretral de la vejiga. En los lactantes varones, las infecciones del tracto urinario son más comunes entre los no circuncidados, y eso se asocia con colonización del interior del prepucio y la uretra por organismos fecales (**Figura 6-1**).

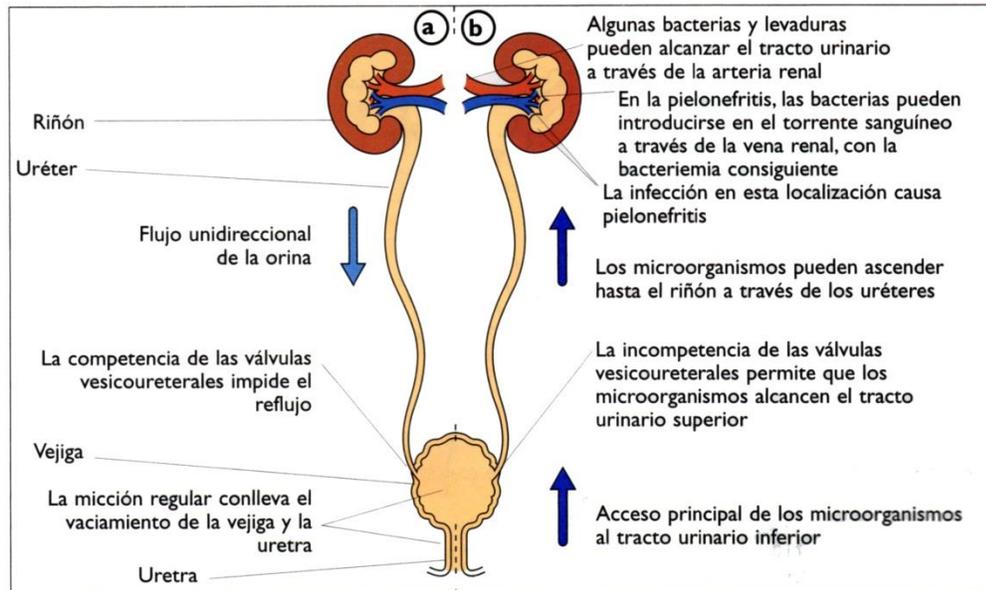


Figura 6-1. Tracto Urinario. (a) Estructura y fisiología normales mantienen estéril el tracto urinario. (b) Las bacterias pueden introducirse al tracto urinario a través de la uretra o del torrente sanguíneo. ⁽³⁾

El embarazo, la hipertrofia prostática, los cálculos renales, los tumores y la estenosis de cualquier tipo son las causas principales de obstrucción al vaciamiento completo de la vejiga. Cuando existe un residuo de orina superior a 2-3 ml, la infección es más probable. La infección superpuesta a obstrucción del tracto urinario puede ascender hasta el riñen y producir destrucción rápida del tejido renal. La pérdida del control neurológico de la vejiga y los esfínteres (p. ej., en casos de espina bífida, paraplejía o esclerosis múltiple), y el gran volumen de orina residual resultante en la vejiga, causan una obstrucción funcional al flujo de orina y tales pacientes experimentan predisposición particular a las infecciones recurrentes.

El reflujo vesicouretral (reflujo de orina desde la cavidad vesical hacia los uréteres, y a veces hasta la pelvis o el parénquima renal) es común en los niños con anomalías anatómicas del tracto urinario, y puede predisponer a la infección ascendente y a la lesión renal. El reflujo puede ocurrir también en asociación con infección en los niños sin anomalías subyacentes, pero en esos casos tiende a desaparecer con la edad.

A pesar de las comunicaciones que afirman que la pielonefritis (infección del riñón) es un hallazgo común en el examen posmortem de diabéticos, las revisiones clínicas no han proporcionado pruebas convincentes de que exista una diferencia significativa en la prevalencia de ITU entre individuos diabéticos y no diabéticos de la misma edad. Sin embargo, los diabéticos pueden sufrir infecciones

urinarias más graves, y cuando la neuropatía diabética interfiere con la función vesical normal, son frecuentes las infecciones urinarias persistentes.

El cateterismo es otro importante factor predisponente a la infección del tracto urinario. Al insertar la sonda, las bacterias pueden ser transportadas directamente a la vejiga y mientras permanece colocado, el catéter facilita el acceso de las bacterias a la vejiga a través de la luz de la sonda o entre el exterior del catéter y la pared uretral. La sonda trastorna la función vesical normal y potencia el efecto de un pequeño número de bacterias.⁽¹⁹⁾

6.2 Tipos de infección y sus manifestaciones clínicas

Las ITU abarcan una gran variedad de cuadros clínicos que difieren en lo que se refiere a la presentación, el grado de invasión tisular, el contexto epidemiológico y la necesidad de tratamiento antibiótico. Hay cinco tipos principales de ITU: **uretritis, bacteriuria asintomática, cistitis, síndrome uretral y pielonefritis**. En ocasiones las ITU se clasifican como **no complicadas** o **complicadas**. Las primeras se presentan en mayor medida en mujeres sanas en otros aspectos y a veces en lactantes del sexo masculino y adolescentes y varones adultos. La mayoría de las infecciones no complicadas responden con rapidez a los antibióticos a los que el agente etiológico es sensible. Las infecciones complicadas se observan en ambos sexos. Las infecciones complicadas son más difíciles de tratar y causan mayor morbilidad (p. ej., daño renal, bacteriemia) y mortalidad que las no complicadas.

La presentación clínica de las ITU puede variar entre una infección asintomática y la pielonefritis florida (la infección del riñón y su pelvis).⁽⁴⁾

Las infecciones del tracto urinario (ITU) se clasifican en infecciones urinarias bajas y altas.

Las infecciones urinarias bajas incluyen:

- Uretritis: infección de la uretra, por lo general de transmisión sexual.
- Cistitis: infección de la vejiga urinaria, a menudo denominada vagamente infección urinaria baja (**Figura 6-2**).
- Trigonitis: cistitis situada en el triángulo entre los orificios de la uretra y los dos uretrales.
- Síndrome uretral: cistitis situada en el triángulo entre los orificios de la uretra y los dos uretrales.
- Prostatitis: infección de la próstata.

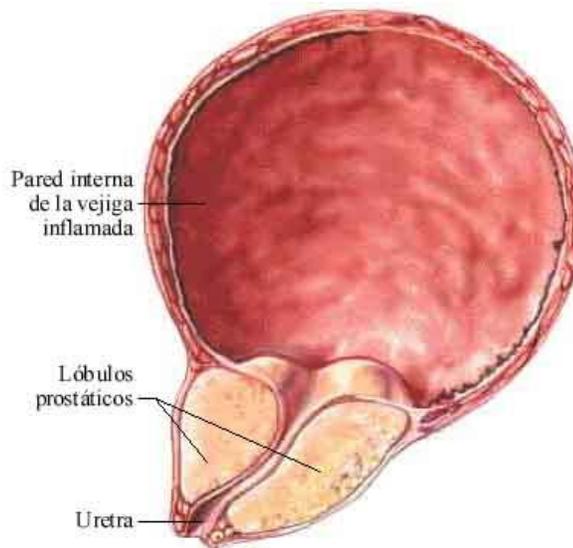


Figura 6-2. Cistitis en hombres. ⁽⁵⁵⁾

Las infecciones urinarias altas incluyen:

- Uretritis: infección del uréter, es rara y suele deberse a tuberculosis renal.
- Pielitis: infección de la pelvis renal.
- Pielonefritis aguda: infección de la pelvis renal y parte del tejido renal.
- Pielonefritis crónica: Nefritis intersticial difusa con cambios inflamatorios. ⁽⁹⁾

6.2.1 Uretritis

Los síntomas asociados con la uretritis (infección de la uretra), la disuria (micción dolorosa o difícil) y la polaquiuria son similares a los asociados con las ITU bajas. La uretritis es una infección frecuente. Como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Trichomonas vaginalis*, son causas comunes de uretritis y se consideran microorganismos de transmisión sexual. ⁽⁴⁾

Bacteriuria asintomática

La bacteriuria asintomática o ITU asintomática es el aislamiento de un recuento cuantitativo específico de bacterias en una muestra de orina recolectada de manera adecuada y obtenida de una persona sin síntomas ni signos de infección urinaria. La bacteriuria asintomática es frecuente pero su prevalencia presenta grandes variaciones de acuerdo con la edad, el sexo y la presencia de anomalías genitourinarias o enfermedades subyacentes. Por ejemplo, en las mujeres sanas la prevalencia de la bacteriuria aumenta con la edad de cerca del 1 % entre las niñas de edad escolar al 20% o más entre las mujeres de 80 años o mayores que viven en la comunidad mientras que la bacteriuria es rara entre los hombres jóvenes. La base de estas pautas reside en la premisa de que es apropiado realizar pruebas de detección de la bacteriuria en los individuos asintomáticos si la bacteriuria tiene consecuencias adversas que pueden prevenirse con el tratamiento antimicrobiano. Por lo tanto, la detección y el tratamiento de la bacteriuria asintomática se recomiendan en las mujeres embarazadas (debido al riesgo de progresión a una ITU sintomática grave y posible daño del feto), en los varones sometidos a la resección transuretral de la próstata y en los pacientes que deben ser sometidos a

procedimientos urológicos en los que se anticipa hemorragia de la mucosa. Por el contrario, la detección o el tratamiento de la bacteriuria asintomática no se recomiendan en las mujeres premenopáusicas no embarazadas, en las mujeres diabéticas, en las personas mayores que viven en la comunidad, en los ancianos que residen en instituciones, en las personas con lesión de la médula espinal ni en los pacientes con sondas, siempre que éstas se encuentren bien colocadas (**Figura 6-3**).⁽⁴⁾

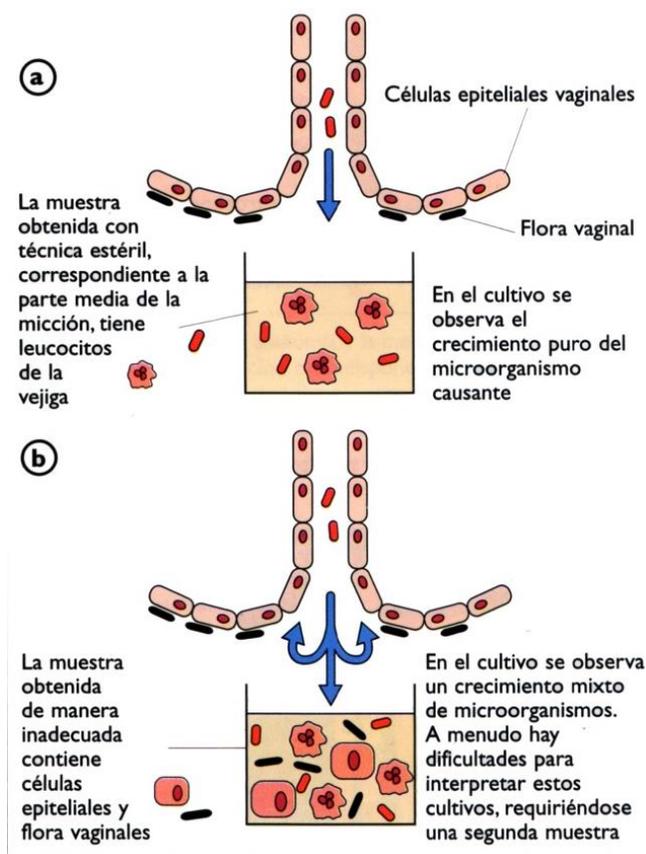


Figura 6-3.

(a) En la mujer una muestra de orina obtenida en condiciones estériles es representativa del contenido de la vejiga.

(b) Una muestra contaminada contiene células epiteliales vaginales y bacterias adheridas.⁽³⁾

6.2.2 Cistitis

La vejiga suele infectarse desde el perineo y la uretra, sobre todo cuando la actividad sexual o higiene perianal deficiente producen contaminación fecal.⁽⁹⁾

En los casos típicos los pacientes con cistitis (infección de la vejiga) manifiestan disuria, polaquiuria y urgencia miccional (necesidad imperiosa de orinar). Estos síntomas no se deben sólo a la inflamación de la vejiga sino también a la multiplicación de las bacterias en la orina y la uretra. A menudo el paciente refiere dolor espontáneo y a la palpación sobre la zona de la vejiga. En algunos casos la orina es sanguinolenta a simple vista. El paciente puede notar orina turbia y con mal olor. Como la cistitis es una infección localizada, por lo general no hay fiebre ni otros signos de enfermedad sistémica (que afecta el organismo en su conjunto).⁽⁴⁾

Microorganismos causales

Los microorganismos patógenos en orden descendente de frecuencia son:

- * *Escherichia coli*
- * Bacilos gramnegativos fecales: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, especies de *Proteus* y *Pseudomonas aeruginosa* (sobre todo en las ITU hospitalarias),
- * *Staphylococcus saprophyticus* coagulasa negativos (sobre todo en mujeres jóvenes sexualmente activas).
- * Cocos grampositivos que incluyen enterococcus.
- * Otros microorganismos como *Mycobacterium tuberculosis* y especies de *Candida*.⁽⁹⁾

Síndromes clínicos

- * Disuria, sensación de urgencia de orinar, polaquiuria y nicturia, dolor suprapúbico, hipersensibilidad y febrícula.
- * Puede presentarse fiebre elevada con dolor en la fosa renal y en el ángulo renal e hipersensibilidad, sobre todo en caso de obstrucción.
- * En los ancianos las ITU pueden presentarse sin síntomas.
- * En varones con cistitis debe examinarse la próstata.
- * El **síndrome uretral** consiste en disuria, polaquiuria sin cistitis; puede deberse a uretritis, vaginosis, prostatitis, herpes genital o microorganismos patógenos difíciles de detectar, por ejemplo, clamidias.⁽⁹⁾

6.2.3 Síndrome uretral agudo

Otro tipo de ITU es el síndrome uretral agudo, que es más frecuente en mujeres jóvenes y sexualmente activas que refieren disuria, polaquiuria y urgencia miccional pero cuya orina presenta en el cultivo menos de 10^5 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL). (El criterio clásico de más de 10^5 UFC/mL de orina es un indicador muy preciso de infección en la mayoría de los pacientes con ITU). Casi el 50% de todas las mujeres que consultan al médico por síntomas de cistitis aguda pertenecen a este grupo. Aunque la uretritis por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, las infecciones por anaerobios, el herpes genital y la vaginitis explican algunos casos de síndrome uretral agudo, la mayoría de estas mujeres están infectadas por microorganismos idénticos a los que causan cistitis pero en un número menor de 10^5 UFC/mL de orina. Para este grupo se debe usar un valor de corte de 10^2 UFC/mL en lugar de 10^5 UFC/mL pero debe insistirse en la necesidad de que haya piuria (presencia de ocho o más leucocitos por milímetro cúbico en el examen microscópico de orina sin centrifugar) simultánea. Alrededor del 90% de estas mujeres tienen piuria, una característica importante para determinar la infección.⁽⁴⁾

6.2.4 Pielonefritis

La pielonefritis, que consiste en la inflamación del parénquima, los cálices (división en forma de taza de la pelvis renal) y la pelvis renal (el extremo superior del uréter que se localiza dentro del riñón), en general es causada por una infección bacteriana (**Figura 6-4**). La presentación clínica típica de una infección del tracto urinario superior incluye fiebre y dolor lumbar (parte inferior de la espalda) y con frecuencia sintonías del tracto inferior (polaquiuria, urgencia: miccional y disuria). Los pacientes también pueden mostrar signos sistémicos de infección como vómitos, diarrea, escalofríos, aumento de la frecuencia cardíaca y dolor en la región abdominal inferior.⁽⁴⁾

Las vías son la infección ascendente, como en la cistitis, o (raras veces) hematógica en la endocarditis, la bacteriemia o la sepsis, sobre todo cuando se debe a *S. aureus*.

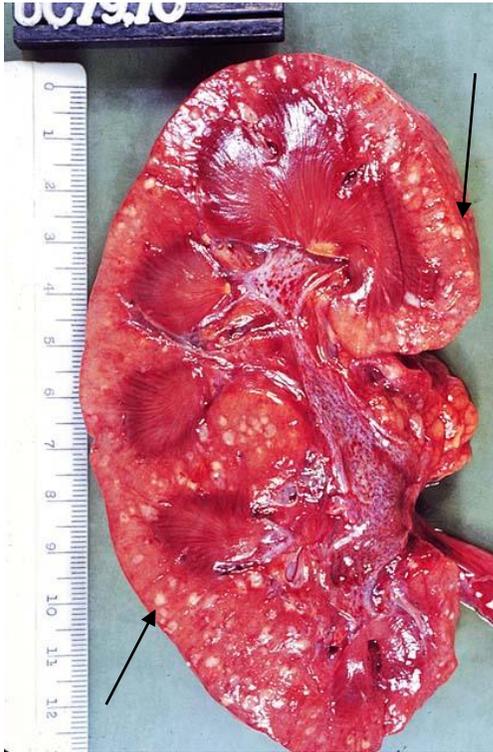


Figura 6-4.

Pielonefritis aguda con numerosos puntos blanquecinos correspondientes a microfocos supurados en la corteza renal. ⁽⁵⁶⁾

Microorganismos causales

Son similares a los que se presentan en la cistitis. *Proteus mirabilis* se asocia sobre todo a cálculos (cálculos urinarios), probablemente porque su ureasa produce amoníaco y orina alcalina, lo cual favorece la formación de cálculos.

Manifestaciones clínicas de la pielonefritis

Son comunes la disuria, la sensación de urgencia para orinar, polaquiuria y nicturia, así como fiebre elevada con vómito, dolor e hipersensibilidad en la fosa renal y en el ángulo renal. ⁽⁹⁾

Complicaciones

- * Destrucción local, que produce abscesos renales o necrosis papilar, sobre todo en la diabetes, la anemia falciforme o con el consumo excesivo de analgésicos.
- * Diseminación local, que ocasiona absceso perirrenal.
- * Diseminación a distancia, que causa bacteriemia. ⁽⁹⁾

6.3 Mecanismos defensivos del huésped

A excepción de la mucosa uretral, el tracto urinario normal es resistente a la colonización bacteriana, y habitualmente elimina los microorganismos de forma rápida y eficaz. El pH, el contenido de sustancias químicas y la acción de lavado de la orina ayudan a eliminar los organismos de la uretra.

Aunque la orina proporciona un buen medio de cultivo para muchas bacterias, tiene efecto inhibitorio sobre otras, y los anaerobios y otras especies (estreptococos no hemolíticos, corinebacterias y estafilococos), que comprenden la mayor parte de la flora uretral normal, no se multiplican con facilidad en la orina

Se conoce mal el papel de la inmunidad humoral en la defensa contra la infección del tracto urinario. Tras la infección del riñón se pueden detectar en la orina anticuerpos IgG e IgA secretores, pero no está claro su papel protector contra la infección subsiguiente. La infección del tracto urinario inferior se suele asociar con una respuesta serológica débil o no detecta bien, lo que refleja la naturaleza superficial de la infección; la mucosa de la vejiga y la de la uretra rara vez son invadidas en las infecciones del tracto urinario.

6.4 Manifestaciones clínicas de las ITU

6.4.1 Tracto urinario inferior

Las infecciones agudas del tracto urinario inferior se caracterizan por comienzo rápido con disuria (dolor y ardor durante la micción), urgencia (necesidad urgente de orinar) y polaquiuria (micción frecuente). Sin embargo, las infecciones del tracto urinario en los ancianos y en sujetos con sondas permanentes suelen ser asintomáticas. La orina es turbia debido a la presencia de células de pus (piuria) y bacterias (bacteriuria), y puede contener sangre (hematuria). El examen de muestras de orina en el laboratorio es esencial para confirmar el diagnóstico. Los pacientes con infecciones del tracto genital, como moniliasis vaginal, o con uretritis por clamidias, pueden presentar síntomas similares.

La piuria en ausencia de positividad del cultivo de orina se puede deber a infección por clamidias o tuberculosis, y se observa también en pacientes que reciben terapia antibacteriana por infección del tracto urinario; las bacterias son inhibidas o muertas por el agente antibacteriano antes de que haya cedido la respuesta inflamatoria.⁽¹⁹⁾

Las infecciones recurrentes del tracto urinario inferior ocurren en una proporción significativa de pacientes. Puede tratarse de recidivas causadas por la misma cepa del organismo o de reinfecciones producidas por un germen distinto. Las infecciones recurrentes pueden dar lugar a cambios inflamatorios crónicos en la vejiga, la próstata y las glándulas periuretrales. La prostatitis bacteriana aguda produce síntomas sistémicos (fiebre) además de locales (dolor perineal y lumbar, disuria y polaquiuria). Puede deberse a infección ascendente o hematógena, y quizá sean más susceptibles los individuos que carecen de sustancias antibacterianas normales en el líquido prostático. Sin embargo, la prostatitis bacteriana crónica, aunque suele estar causada por *Escherichia coli*, es difícil de curar y puede constituir una fuente de infección recidivante dentro del tracto urinario.⁽¹⁹⁾

6.4.2 Tracto urinario superior

Aunque es importante saber si una infección está limitada a la vejiga (tracto urinario inferior) o ha ascendido hasta el tracto urinario superior y el riñón, no existen métodos satisfactorios para conseguirlo, aparte de examinar la orina obtenida directamente del uréter mediante cateterismo.

Los pacientes con pielonefritis (infección del riñón) se quejan de síntomas del tracto inferior y de modo habitual tienen fiebre. Los estafilococos son una causa común y muchas veces existen abscesos renales. Los episodios recurrentes de pielonefritis inducen una pérdida de función del tejido renal, que puede originar hipertensión una causa de lesión renal por sí misma. La infección asociada con formación de cálculos puede causar obstrucción del tracto renal y septicemia.

La hematuria es un dato de endocarditis y una manifestación de enfermedad por inmunocomplejos, así como un resultado de la infección del riñón, y su presencia justifica una investigación cuidadosa. La piuria se puede asociar por infección renal por *Mycobacterium tuberculosis*.⁽¹⁹⁾

7. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

7.1 Bacteriuria significativa

Las infecciones del tracto urinario se diagnostican habitualmente por la sintomatología, la presencia de leucocitos y bacterias en el sedimento urinario y el cultivo microbiológico de la orina. Los síntomas clínicos pueden introducirnos a sospechar la existencia de la infección, al igual que la información suministrada por el análisis microscópico del sedimento urinario, pero esta sospecha debe ser confirmada, si es posible, mediante la demostración del agente etiológico.⁽¹⁵⁾

El tracto urinario es normalmente estéril, aunque la región distal de la uretra está colonizada por organismos comensales que pueden incluir gérmenes periuretrales y fecales. Puesto que las muestras de orina se suelen recoger mediante micción, la muestra contenida en un recipiente estéril será contaminada por la flora periuretral durante la recogida. Es posible distinguir entre infección y contaminación con métodos de cultivo cuantitativo. La bacteriuria se define como «significativa» cuando una muestra de orina recogida de la porción media de la micción con técnica correcta contiene $>10^5$ gérmenes por mililitro. La orina infectada suele contener una sola especie bacteriana. La orina contaminada tiene, en general, $<10^4$ gérmenes por mililitro y muestra frecuentemente más de una especie bacteriana. La distinción entre infección y contaminación puede ser difícil cuando el recuento oscila entre 10^4 y 10^5 organismos por mililitro. La recogida cuidadosa y el transporte rápido de la muestra al laboratorio son requisitos esenciales.

Tiene importancia reconocer que los criterios de «bacteriuria significativa» no se aplican a las muestras de orina recogidas de catéteres o tubos de nefrostomía o mediante aspiración suprapúbica directamente de la vejiga. En esas muestras puede ser significativa cualquier cifra de organismos, puesto que la muestra no está contaminada por la flora periuretral. Además, la infección de lugares del tracto urinario por debajo de la vejiga y la causada por gérmenes no componentes de la flora fecal normal pueden no producir un número significativo de bacterias en la orina.⁽¹⁹⁾

7.2 Toma de muestra

Las condiciones de obtención de la orina desempeñan un papel fundamental en la fiabilidad de los resultados del análisis microbiológico, puesto que la zona saprófita de la zona terminal de la uretra y de los genitales externos puede contaminar la orina en el momento de su emisión.

7.2.1 Micción directa o espontánea

Se refiere a la recogida de la orina emitida, siendo la parte media de la micción matinal la más representativa del estado de las vías urinarias y la más idónea para el cultivo. La primera parte de la micción se desecha porque contiene la flora de arrastre de la porción distal de la uretra, y la parte final también por su escaso contenido microbiano. Se recogen unos 10-15 mL de orina de la parte media de la micción. ⁽¹⁵⁾

Esa muestra se debe recoger en un contenedor estéril con boca ancha, tras limpieza cuidadosa de los labios mayores o el glande con jabón (no antiséptico) y agua, y después de permitir el vaciamiento de la primera parte de la micción (eso ayuda a eliminar los contaminantes de la uretra inferior). Con instrucción adecuada, la mayoría de los pacientes adultos puede recoger muestras satisfactorias con una supervisión mínima. Los problemas son mucho mayores en los ancianos y en los pacientes encamados, y se debe prestar atención a esas dificultades cuando se interpretan los resultados. ⁽¹⁹⁾

En varones es fácil la recolección de una muestra de orina del chorro medio; después de limpiar el glande y el meato uretral con jabón suave, se deja que fluya la primera parte del chorro de orina, que arrastra consigo contaminantes de la uretra; entonces se colecta una muestra de la parte media del chorro en un recipiente estéril (**Figura 7-1**). La recolección en caso de las mujeres requiere mayor atención a los detalles, en condiciones cómodas, deben limpiarse la vulva y el área periuretral de la paciente con unos tres o cuatro hisopos (sin antiséptico); entonces se separan los labios y se colecta una muestra de orina de chorro medio en un recipiente estéril de boca ancha. ⁽¹⁶⁾

Es preferible que la primera orina de la mañana, pues contiene mayor número de microorganismos, reproducidos durante la noche, y está más concentrada, pero no es imprescindible. ⁽²⁰⁾



Figura 7-1.

Orina por vaciado directo. ⁽⁵⁷⁾

7.2.2 Bolsa colectora

La orina de lactantes se recoge en una bolsa de plástico estéril dispuesta para tal fin, que se adosa directamente a los genitales, tras un lavado previo de los mismos y de la zona anal, manteniéndola hasta la micción (**Figura 7-2**). En el caso de que la micción no se produzca dentro de los 30 minutos siguientes a la colocación de la bolsa, debe sustituirse ésta después de un nuevo lavado para evitar así el sobrecrecimiento de la flora cutánea. La recogida se puede facilitar estimulando la micción mediante la ingesta de líquidos o por el reflejo de Pérez (golpeo de los músculos paraespinales,

sosteniendo al niño por el abdomen). Es conveniente comprobar en la muestra de orina la ausencia de restos fecales acompañantes. ⁽¹⁵⁾

Esos problemas se pueden superar mediante aspiración suprapúbica de orina directamente desde la vejiga. ⁽¹⁹⁾



Figura 7-2

Bolsa colectora. ⁽⁵⁸⁾

Cateterismo o sondaje vesical

El cateterismo vesical efectuado de manera aséptica, después de un lavado cuidadoso del meato uretral y de los genitales externos, es adecuado para recoger orina en buenas condiciones, pero conlleva un gran peligro de sobreinfección de las vías altas y producción de microtraumatismos que pueden acarrear complicaciones: en el hombre debe evitarse porque existen mayores posibilidades de sobreinfección. Se recurre al sondaje ante la imposibilidad de obtener buenos resultados por los métodos directos (**Figura 7-3**). ⁽¹⁵⁾

Normas para el cuidado del catéter

- Evitar el cateterismo siempre que sea posible
- Mantener el cateterismo el menor tiempo posible
- Si es posible, utilizar el sondaje intermitente, en lugar del continuo
- Insertar la sonda con buena técnica aséptica usar un sistema de drenaje cerrado estéril mantener el drenaje por gravedad
- Usar antisépticos tópicos alrededor del meato en las mujeres
- Lavarse las manos antes y después de insertar la sonda y recoger muestras, y después de vaciar las bolsas de drenaje ⁽¹⁹⁾



Figura 7-3. Toma de muestra por punción del catéter. ⁽⁵⁹⁾

7.2.3 Punción o aspiración suprapúbica

Cuando la recogida de orina es dificultosa por cualquier procedimiento, sobre todo en lactantes, puede realizarse una punción vesical, ya que a esta edad la vejiga es un órgano abdominal y se palpa bien cuando está llena. Se punciona directamente, después de aseo, antisepsia y anestesia local, considerando significativo cualquier crecimiento bacteriano en la orina así obtenida. La punción está contraindicada en pacientes con problemas de hemostasia. Las complicaciones que puede presentar son leves y se traducen en hematuria y hematomas.

7.2.4 Recogidas especiales

A veces interesa recoger la orina en un espacio de tiempo o momento determinado. Así, cuando se quiere descartar *Mycobacterium tuberculosis*, se recoge la primera orina de la mañana completa, después de una retención de 12 horas, o bien la totalidad de la orina emitida durante 24 horas, con inicio de la primera orina de la mañana, que aumenta la probabilidad de detectar la emisión de bacilos. Otra modalidad de excelentes resultados consiste en recoger la orina completa de tres micciones matinales consecutivas. En estos casos, la orina debe refrigerarse mientras dure el proceso de recogida. ⁽¹⁵⁾

Para detectar *Schistosoma haematobium* se deben examinar los últimos mililitros de una micción recogida a primera hora de la mañana después de hacer ejercicio.

Lo ideal es que las muestras sean recogidas antes de iniciar la terapia antimicrobiana. Sin embargo, si el paciente está recibiendo tratamiento o lo ha recibido en las últimas 48 horas, se debe indicar con claridad en el formulario de solicitud. ⁽¹⁹⁾

7.3 Transporte de muestras

Como la orina es un medio excelente para el desarrollo de la mayoría de las bacterias, debe refrigerarse o se le debe de agregar un conservante de inmediato. Los recuentos bacterianos en la orina refrigerada (4°C) permanecen constantes hasta 24 horas después de su obtención. Los tubos para transporte de orina (B-D Urine Culture Kit-Becton Dickson Vacutainer Kits, Rutherford, N.J.) con ácido bórico, glicerol y formato de sodio conservan las bacterias hasta 24 horas sin refrigeración cuando la muestra de orina inicial, habría más de 10^5 UFC/mL (100,000 microorganismos por mililitro). El sistema puede inhibir el crecimiento de ciertos microorganismos y deben usarse mínimo 3 mL de orina. También hay otro sistema de conservación (StarplexScientific, Inc. Etobicoke, Ontario, Calif). Ambos productos con ácido bórico conservan la viabilidad bacteriana en la orina durante 24 horas en ausencia de antibióticos. Para los pacientes en los que un recuento de colonias menor de 100,000/mL podría tener importancia clínica se recomienda la siembra en placas dentro de las 2 horas de la obtención de la muestra. Ninguno de los equipos presenta ventaja con respecto a la refrigeración, excepto quizá en lo que se refiere a la comodidad o al transporte de orina desde zonas alejadas en cuyo caso la refrigeración no es práctica.⁽⁴⁾

8. EXAMEN DE ORINA

La orina es generalmente clara. Una turbidez aparente puede deberse a infección, pero también a la presencia de cristales o sales amorfas (fosfatos, uratos); la existencia de sangre o hemoglobina se diferencia fácilmente.

El pH de la orina suele ser ácido. La alcalinidad puede ser indicativa de infección, o bien, consecuencia de la dieta alimenticia, en cuyo caso es poco duradera.

El olor pútrido de la orina nos puede orientar sobre la instauración de un proceso infeccioso.

El examen microscópico en fresco del sedimento urinario permite apreciar la citología de la orina (hematíes, leucocitos, células epiteliales) y la presencia de cristales, sales amorfas, cilindros y bacterias. Una orina normal contiene escasos leucocitos y hematíes, no más de tres de cada uno de estos elementos por campo óptico de 400 aumentos; la visualización de hematíes, leucocitos y cilindros en un número significativo constituye un hallazgo patológico (**Figura 8-1**).⁽¹⁵⁾

Después de centrifugar la orina, durante 3 min a 2.500 rpm se observa el sedimento: la presencia de 5-10 leucocitos por campo (x 400) se considera el límite de la normalidad; un número superior hace sospechar una bacteriuria, aunque luego no se confirme, ya que hay leucocituria o piuria sin bacteriuria, y a la inversa. La proteinuria alta, más de 3g en 24 h, suele ser indicativa de lesión glomerular.

Las bacterias se detectan directamente por examen en fresco o por tinción y cultivo. La observación en una gota de orina sin centrifugar, depositada en un portaobjetos, dejada secar, fijada y teñida con azul de metileno o por el método de Gram, de algún leucocito y alguna bacteria ya es un buen indicio de la existencia de infección en más del 80 % de los casos, de la posible existencia de bacteriuria significativa, con más de 100.000 bacterias/ml de orina. Las tinciones, lógicamente, no distinguen

entre bacterias viables y bacterias muertas y, por otro lado, bacteriurias de $<10^4$ /ml pueden no ser detectadas por microscopia.⁽²⁰⁾

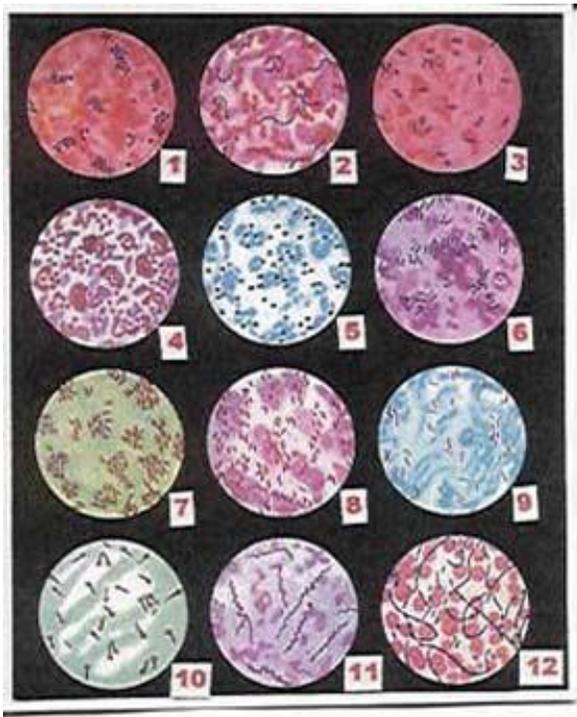


Figura 8-1.

El examen microscópico del orina proporciona muchos datos valiosos para la detección diagnóstico diferencial y valoración de las operaciones del tracto urinario.⁽⁶⁰⁾

8.1 Detección de la bacteriuria significativa

Como ya se ha dicho, el diagnóstico en el laboratorio de bacteriuria significativa requiere cuantificación de las bacterias en una muestra de orina. Los métodos convencionales proporcionan resultados al cabo de 18-24 horas, pero se dispone también de métodos rápidos, basados en bioluminiscencia, turbidimetría y citometría de flujo. En algunos laboratorios, la detección de un número anormal de leucocitos o bacterias durante el examen microscópico lleva a realizar pruebas de susceptibilidad a los antibióticos, de forma que se dispone de los resultados del cultivo y las pruebas de susceptibilidad a las 24 horas.

La interpretación del resultado del cultivo depende de varios factores:

- Recogida: la muestra se debe recoger adecuadamente.
- Almacenamiento: la orina se debe cultivar en el plazo de una hora a partir de la recogida, o mantenerse a 4 °C durante no más de 18 horas antes del cultivo.
- Antibióticos: si el paciente está recibiendo antibióticos, una cifra inferior de gérmenes puede ser significativa y representar la aparición de una población resistente. Se dispone de métodos de laboratorio simples para detectar la presencia de sustancias antibacterianas en la orina.
- Ingesta de líquidos: el paciente puede haber bebido más o menos líquido de lo normal, y eso tendrá una influencia sobre el resultado cuantitativo.
- Muestra: las guías cuantitativas son válidas para muestras de OPMM; no se aplican a muestras recogidas con catéter, aspiración suprapúbica o nefrostomía.⁽¹⁵⁾

Tabla 8-1 Causas de Leucocituria ⁽¹⁵⁾

Procesos clínicos que pueden cursar con leucocituria	
Infección del tracto urinario	Diabetes descompensada
Uretritis	Traumatismos
Prostatitis	Procesos inflamatorios
Tuberculosis genitourinaria	Deshidratación
Cistitis virásica o química	Absceso renal cortical
Glomerulonefritis	Apendicitis
Otras nefropatías	Estenosis
Hipertensión arterial grave	Tumores
Lupus eritematoso	Litiasis

8.2 Procedimientos de detección sistemática

Es posible que hasta el 60-80% de toda la muestra de orina que el laboratorio de un centro médico de atención de agudos recibe para cultivo no contengan agentes etiológicos de infecciones o que en caso de que los contengan solo sean contaminantes.

Es importante destacar que una prueba de detección sistemática confiable para determinar la presencia o la ausencia de bacteriuria proporciona a los médicos información importante el mismo día de su realización tanto que un cultivo de orina convencional puede tardar un día o más para proporcionar la misma información.

8.2.1 Tinción de Gram

Es un método fácil y económico que proporciona información inmediata acerca de la naturaleza del microorganismo infectante (bacterias o levaduras) para orientar el tratamiento empírico. Después de dejar secar la orina al aire una gota de orina bien mezclada el frotis se fija, se tiñe y se examina con inmersión en aceite (100x) para determinar la presencia de ≥ 1 o 5 bacterias por campo.

Si se utiliza el criterio de ≥ 1 o 5 bacterias por campo se obtiene una sensibilidad del 96 y del 95%, respectivamente, y una especificidad del 91% cuando se correlaciona con una bacteriuria significativa ($> 10^5$ UFC/mL).

La tinción de Gram no debe usarse para detectar leucocitos polimorfonucleares en la orina porque los leucocitos se deterioran con rapidez en la orina que no está recién emitida o que no se conservó de manera adecuada. ⁽⁴⁾

8.2.2 Tiras reactivas para Urianálisis

Las tiras reactivas de urianálisis (orina) son tiras de plástico en las cuales se han fijado parámetros en áreas separadas de reactivos. El examen sirve para la detección cualitativa y semicuantitativa de uno o más de los siguientes analitos en orina: Ácido Ascórbico, Glucosa, Bilirrubina, Cuerpos Cetónicos, (ácido acetoacético), Gravedad Específica, Sangre, pH, Proteínas, Urobilinógeno, Nitritos y Leucocitos.

Las tiras reactivas de Urianálisis (orina) pueden ser usadas para una evaluación general de la salud, y como ayuda en el diagnóstico y monitoreo de enfermedades metabólicas o sistémicas que afectan la función renal, desordenes endocrinos y enfermedades o desordenes del tracto urinario.

8.2.2.1 Reactivos y funcionamiento

Basado en el peso seco al tiempo de impregnación, las concentraciones dadas pueden variar entre las tolerancias fabricadas. La siguiente tabla marca tiempos y funcionamiento característicos de cada parámetro.

Reactivo	Tiempo de Lectura	Composición	Descripción
Acido Ascórbico (ASC)	30 Segundos	2,6-Diclorofenolindofenol, tampón e ingredientes no-activos.	Detecta ácido ascórbico desde 5-10 mg/dl (0,28-0,56 mmol/l).
Glucosa (GLU)	30 Segundos	glucosa oxidasa, peroxidasa, ioduro potasio, tampón e ingredientes no-activos.	Detecta glucosa desde 50-100 mg/dl (2,5-5 mmol/l).
Bilirrubina (BIL)	30 Segundos	Sal de diazonio 2,4-dicloroanilina; tampón e ingredientes no-activos.	Detecta bilirrubina desde 0,4-1,0 mg/dl (6,8-17 μ mol/l).
Cuerpos Cetónicos (KET)	40 Segundos	Sodio nitroprusiano, tampón.	Detecta ácido acetoacético desde 2,5-5 mg/dl (0,25-0,5 mmol/l).
Gravedad Específica (SG)	45 Segundos	indicador de azul de bromtimol, tampón e ingredientes no-activos. Poli (anhidrido metil vinil ester/maleico anhídrido), hidróxido sódico.	Determina la gravedad específica entre 1,000-1,030. Los resultados correlativos con los valores obtenidos por el método del Index refractario entre $\pm 0,005$.
Sangre (BLO)	60 Segundos	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB); diisopropilbenzeno dihidroperóxido	Detecta hemoglobina libre desde 0,018-0,060 mg/dl o 5-10 Ery/ μ l en muestras de orina con, contenido de ácido ascórbico de <50 mg/dl.
pH	60 Segundos	Rojo metilo, sal sódica, azul de bromtimol, tampón e ingredientes no-activos	Permite la diferenciación cuantitativa de valores de pH entre el Rango de 5-9.
Proteínas (PRO)	60 Segundos	Azul de tetrabromofenol, tampón e ingredientes no-activos	Detecta albúmina desde 7,5-15 mg/dl (0,075-0,15 g/l).
Urobilinógeno (URO)	60 Segundos	p-dietilaminobenzaldehida, tampón e ingredientes no-activos	Detecta el urobilinógeno desde 0,2-1,0 mg/dl (3,5-17 μ mol/l).
Nitritos (NIT)	60 Segundos	ácido p-arsanílico; N-(1-naftil) etilenediamina, tampón e ingredientes no-activos	Detecta el nitrito de sodio desde 0,05-0,1 mg/dl, en orina con una gravedad específica baja y con menos de 30 mg/dl de ácido ascórbico.
Leucocitos (LEU)	120 Segundos	ácido pirrol amino ester derivado, sal de diazonio, tampón e ingredientes no-activos	Detecta leucocitos desde 9-15 glóbulos blancos Leu/ μ l en orinas clínicas.

PRECAUCIONES

- Para diagnóstico *in vitro* únicamente. No utilizar después de la fecha de expiración.
- La tira debe permanecer en el tubo hasta el momento de utilizarla.
- No tocar las áreas reactivas de la prueba.
- Descartar cualquier tira del tubo que se encuentre descolorida ya que puede estar deteriorada.
- Todas las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas, como cualquier agente infeccioso.
- Las tiras utilizadas deben ser desechadas de acuerdo a las regulaciones locales después del examen. ⁽²¹⁾

8.3 Pruebas bioquímicas

8.3.1 Índices indirectas

Están disponibles de forma comercial distintos test rápidos en tiras reactivas (nitritos, esterasa, leucocitaria), que se desarrollaron con el objetivo de permitir el diagnóstico rápido de la bacteriuria significativa, e incluso se han propuesto en alguna ocasión como método de cribaje para descartar muestras para cultivo. Se pueden considerar pruebas indirectas, porque no detectan las bacterias ni los leucocitos, sino productos del metabolismo de éstas y enzimas celulares, o alguna característica que indica la presencia de bacterias.

8.3.2 Prueba de la nitrato reductasa (Greiss).

Las bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* producen una enzima denominada nitrato reductasa, que transforma los nitratos en nitritos. El test detecta los nitritos presentes en la orina. La reacción en medio ácido, de estos con el ácido sulfanílico y la α -naftilamina presentes en la tira, proporciona un compuesto de color rojo (aril-hidracina). El cambio de color a rojo se interpreta como una prueba positiva. El límite de detección puede variar algo según el fabricante, pero se sitúa entre 0.05-0.075 mg/dl.

El test positivo es específico y diagnóstico para bacteriuria significativa (10^5 UFC/mL de enterobacterias), mientras que el test negativo no excluye la posibilidad de la infección, porque las bacterias tardan de cuatro a seis horas en hacer la transformación de nitratos a nitritos (por este motivo la mejor muestra es la primera orina de la mañana), y por qué hay bacterias que pudiendo ser causa de infección, no sintetizan esta enzima. También puede darse falsos negativos en casos de orinas con bajos recuentos y en pacientes sometidos a dietas sin vegetales o que toma diuréticos, o si la orina contiene gran cantidad de ácido ascórbico o urobilinógeno. Los falsos positivos pueden deberse a fármacos que colorean la orina o que se hacen rojos en medio ácido.

Se ha calculado que su sensibilidad varía entre el 35-80%, y la especificidad entre el 92-100%.

8.3.3 Prueba de la esterasa leucocitaria.

En este caso la tira está impregnada con un éster del ácido indoxil carboxílico, que la esterasa transforma en indoxilo, y que al reaccionar con una sal de diazonio, produce in

color azul-violeta. La reacción detecta tanto las células integra, como la enzima libre de las células lisadas.

La sensibilidad del test para detectar más de 10 leucocitos por mm^3 es del 75-96%, y la especificidad es del 94-98%.

Los falsos positivos pueden estar causados por la presencia de *Trichomonas vaginalis*, grandes cantidades de ácido ascórbico, detergentes o conservantes (formaldehído), y ciertos fármacos como la nitrofurantoina, gentamicina, imipenem, meropenem y ácido clavulánico, así como por altas concentraciones de albumina en la orina (>300mg/dl).

El test detecta solo la piuria, pero esta puede estar causada por inflamación, tumores o contaminación con flujo vaginal; así que aunque sea muy sensible y específica para detectar la piuria, un test positivo no es diagnóstico de infección y necesita confirmación mediante urocultivo.

8.3.4 Catalasa.

La presencia de la enzima catalasa en las bacterias constituye la base de este test enzimático para detectar microorganismos. Disponible en kit Uriscreen®.

La técnica consiste en depositar dos mililitros de orina en un tubo y añadir cuatro gotas de peróxido de hidrogeno al 10%. Transcurridos dos minutos se observa si hay transformación de espuma en la superficie de la orina, lo que se interpreta como resultado positivo.

Es test es muy sensible, pero le falta especificidad ya que la catalasa es una enzima que está presente en leucocitos, eritrocitos y células de descamación, y estos cuando aparecen en orina pueden provocar un resultado positivo. Es por ello que esta prueba tampoco distingue entre ITU y otras causas de inflamación.

Resultados falsos negativos pueden observarse en infecciones producidas por bacterias no productoras de catalasa, como *Enterococcus sp.* ⁽²²⁾

8.3.5 Sistemas automatizados y semiautomatizados

Los sistemas de detección sistemática automatizados ofrecen la posibilidad de manejar una gran cantidad de muestras con trabajo mínimo y procesamiento rápido en comparación con los cultivos convencionales. Sin embargo, estas ventajas pueden ser anuladas por el coste enorme que implica adquirir la instrumentación. A menudo este coste sólo puede justificarse en laboratorios que reciben gran cantidad de muestras.

En el comercio existen algunos sistemas automatizados o semiautomatizados para el estudio sistemático de la orina que son independientes o dependientes del crecimiento bacteriano. Mediante el examen de imágenes de muestras de orina sin centrifugar con una cámara de vídeo el sistema IRIS 939 UDx (International Remote Imaging Systems, Inc., Chatsworth Calif.) y el Sysmex UF-100 (TOA Medical Electronics; Kobe, Japón) permiten reconocer muchas estructuras celulares, como leucocitos y bacterias (**Figura 8-2**). Para la detección sistemática en orina se introdujo un instrumento robótico, Cellenium-160LS (Combact Diagnostic Systems Ltd., Hertzliya, Israel), que utiliza sondas fluorescentes para teñir una monocapa de bacterias

provenientes de orina sobre una membrana. Tras la tinción la membrana se examina con gran aumento mediante técnicas de formación de imágenes computarizadas con microscopía de fluorescencia. Si bien se elimina la necesidad de cultivar muestras de orina negativas, sólo se ha publicado una cantidad limitada de datos acerca del valor clínico. Por último, otro instrumento semiautomatizado, el sistema Coral U II Screen (Coral Biotechnology. San Diego. Calif), utiliza un agente liberador de la célula somática para liberar y destruir primero el adenosintrifosfato (ATP) en las células somáticas mientras el ATP bacteriano permanece protegido dentro de la célula bacteriana. Luego se libera el ATP bacteriano, que es detectado por el aparato. Los estudios realizados hasta la fecha demuestran que este instrumento tiene una sensibilidad y una especificidad del 86 y del 75,5%, respectivamente. Aunque para el estudio de la orina existen otros sistemas automatizados en diversas etapas de desarrollo, hasta el presente no han logrado gran aceptación entre los laboratorios de microbiología clínica. ⁽⁴⁾



Figura 8-2.

UF-100 Urine Cell Analyze. ⁽⁶¹⁾

8.4 UROCULTIVO

Una vez examinada la orina en fresco o teñida se procede a la fase siguiente cual es el cultivo. Por razones económicas o colapso del laboratorio se admite que las orinas sin proteinuria, leucocituria, microhematuria y ausencia de bacterias en la observación directa sean consideradas sin interés bacteriológico (como cultivos negativos), por lo que no se prosigue la investigación. La fiabilidad de este proceder alcanza alrededor del 90 % de los casos. Se exceptúan aquellas orinas obtenidas por punciones directas (vesical o renal), ya que se consideran como muestras únicas y valor diagnóstico definitivo. No obstante, dada la mayor fiabilidad del cultivo, en la práctica clínica se prefiere el cultivo de orina independientemente del resultado del sedimento.

El cultivo es muy interesante ya que permite conocer el número de colonias, y por lo tanto de bacterias vivas en la muestra sembrada, la posterior identificación del género, especie, fenotipo, biotipo y genotipo en su caso de la bacteria involucrada, imprescindibles desde un punto de vista clínico y epidemiológico, para conocer la etiología de la infección urinaria, tratamiento adecuado, diferenciar reinfecciones de recaídas, y, también, la posibilidad de realizar pruebas de sensibilidad bacteriana a los diferentes antimicrobianos.

Habitualmente se usan dos tipos de cultivos, el sistema clásico en placas de Petri, sembradas con asas de platino calibradas, que permite recuento y aislamiento, y recientemente, sobre todo en los hospitales y centros con muchas muestras, los sistemas automatizados, de gran valor como muestreo

y detección de bacterias de crecimiento rápido. En el método clásico se emplea dos medios de cultivo. Con un asa de platino calibrada se deposita 0,01 ml de orina en un medio rico de crecimiento, habitualmente Agar Sangre, que permite, al cabo de 18-20 horas de incubación a 35,5 ° C, el conteo de las bacterias vivas que había en la orina, por extrapolación del número de colonias detectadas en la placa, UFC/mm. Una cantidad igual de orina se siembra en otro medio, este selectivo, como puede ser el EMB de Levine o McConkey, que impiden el crecimiento de bacterias contaminantes, facilitan el desarrollo de la mayoría de las enterobacterias como *Escherichia coli* y evitan el crecimiento en sábana al que tiende *Proteus mirabilis*. Las dos placas pueden sustituirse por una única con medio de CLED (Cistina Lactosa Electrolito Deficiente), un medio diferencial no selectivo que permite el crecimiento de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* y *Candida* y el desarrollo como colonias puntiformes de *Streptococcus agalactiae*, inhibiendo además el fenómeno de "swarming" de *Proteus spp.* En muchos laboratorios se utiliza como único medio de cultivo éste agar. ⁽²³⁾

Si se sospecha la implicación de microorganismos especiales, hay que disponer de medios de cultivo definidos: agar chocolate o agar Thayer-Martin para *Neisseria gonorrhoeae*, medio Lowenstein-Jensen para *Mycobacterium tuberculosis*, previa descontaminación de la orina para eliminar la flora acompañante, agar Sabouraud con cloranfenicol para levaduras, agar sangre incubado en condiciones de anaerobiosis para bacterias anaerobias estrictas.

Para el recuento se utiliza generalmente un asa calibrada de 0.001 (1µL) o 0.010 ml (10µL) de capacidad, o bien se parte de diluciones de la orina en solución salina estéril (1/10, 1/100), las cuales se inoculan en razón de 0.1 ml por placa. Las placas inoculadas se incuban a 35-37°C durante 18-24 horas antes de proceder al recuento de las colonias crecidas, teniendo en cuenta el volumen de orina sembrado para calcular el número de colonias (UFC) por mililitro; la identificación del microorganismo es necesario para valorar su significado clínico. ⁽¹⁵⁾

La observación de ciertos tipos de bacterias en el examen directo (por ejemplo bacilos grampositivos o cocos gramnegativos) pondrá en guardia al bacteriólogo para el uso complementario de medios de cultivo y atmósfera especiales.

Una vez transcurrido el periodo de incubación se podrá informar semicuantitativamente del número de unidades formadoras de colonias por ml de orina (UFC/mL), multiplicando el factor de la alícuota tomada por el número de colonias contadas en la placa. Las cifras obtenidas se comparan con las ya definidas en la literatura, que tratan de soslayar las posibles contaminaciones. ⁽²³⁾

8.4.1 Interpretación de los resultados de los cultivos

A la hora de valorar el número de colonias que se aíslan en un cultivo, clásicamente, según los criterios de Kass, del año 1956, se ha considerado que recuentos iguales o superiores a 10^5 UFC/mL, en una orina obtenida por micción espontánea, son indicativos de bacteriuria significativa en un 80% de los casos, porcentaje que se eleva al 95% cuando se repite en más de un cultivo o se acompaña de síntomas de infección. Conteos inferiores a 10^3 UFC/mL se han considerado como de contaminación, y entre las dos cifras, dudosos o indicativos de otras circunstancias. Cuando la orina se obtiene por cateterismo, un solo conteo de 10^4 UFC/mL ya es indicativo de bacteriuria significativa, e inferior habla de una probable infección. En el caso de que la orina se hubiese obtenida por punción vesical

suprapúbica o renal percutánea lumbar, cualquier recuento debe considerarse como significativo de bacteriuria; no obstante, estos criterios, universalmente admitidos hasta ahora, están en revisión desde hace algunos años, sobre todo desde 1992 de acuerdo con los criterios de un comité de expertos de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas, ya que son frecuentes las circunstancias clínicas en que no se cumplen. Son muchas las ocasiones en que recuentos por debajo de los indicados responden a una auténtica infección urinaria y, por lo tanto, no pueden considerarse sólo como excepciones. Tal es el caso de las orinas muy diluidas, o las que tienen pH extremos, incompatibles con la vida bacteriana, o cuando existen microorganismos de crecimiento lento como *Corynebacterium spp*, que requieren más de 18-24 horas para su desarrollo, tiempo habitual que se mantienen en incubación los cultivos de orina, o el caso de las uretritis o las prostatitis, de lo que nos ocuparemos más adelante, o cuando existe obstrucción ureteral, pielonefritis crónica, etc.; y sobre todo, dos circunstancias demasiado comunes en la práctica diaria como para considerarlas excepciones, como son el síndrome uretral femenino y los enfermos que, por su sintomatología específica, u otra causa, están siendo tratados con antibióticos. En el síndrome uretral femenino es común encontrar conteos bajos de enterobacterias o de *Staphylococcus saprophyticus*, a veces *Chlamydia trachomatis* y, cada vez menos en nuestro medio, *Neisseria gonorrhoeae*, con síntomas poco específicos, datos a tener en cuenta a la hora de procesar los cultivos. Estos últimos casos, así como algunos de cistitis en mujeres jóvenes han hecho que, hoy día, se deba considerar recuentos de 10^3 UFC/mL e, incluso inferiores, como indicadores de infección ante una mujer con síntomas del tramo urinario inferior.

Una vez aislado el agente causante, por motivos asistenciales, epidemiológicos y científicos obvios se procede a su identificación mediante una serie de pruebas bioquímicas o de otra índole preestablecidas, no necesariamente iguales en cada laboratorio de microbiología. ⁽⁴⁰⁾

Como norma general podemos considerar las siguientes situaciones:

- ❖ Una bacteriuria igual o inferior a 1,000 UFC/mL corresponde con un cultivo negativo o ausencia de ITU.
- ❖ La bacteriuria comprendida entre 1,000 y 10,000 UFC/mL se considera que no tiene significado patológico y semana una simple contaminación en el acto de la micción, sobre todo si contiene flora mixta.
- ❖ Entre 10,000 y 100,000 UFC/mL de un único microorganismo existe clara sospecha de ITU y hay que valorar cada caso por separado. La repetición del cultivo recogiendo la orina en condiciones irreprochables, la presencia de leucocitos en el sedimento urinario y la sintomatología clínica son indispensables para una interpretación correcta de bacteriuria. Un cultivo repetido con más de 50,000UFC/mL del mismo microorganismo confirma la existencia de ITU y solo en los casos de crecimiento bacteriano mixto puede pensarse en una posible contaminación. En ciertos pacientes (niños, diabéticos, cateterizados) un recuento bajo puede ser valorable.
- ❖ Recuentos iguales o superiores a 100,000 UFC/mL son indicativos de ITU. Las infecciones mixtas son raras y, generalmente, producto de una mala recogida de la muestra, salvo en pacientes con catéteres permanentes o anomalías anatómicas. Conviene confirmar el resultado del cultivo con el estudio de otra muestra. ⁽¹⁵⁾

9. Principio del método moderno de diagnóstico: Sistema API 20

Los sistemas miniaturizados API20 son métodos rápidos que permiten la identificación de microorganismos a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas.

Cada microtubo del sistema debe inocularse con una suspensión de un cultivo puro del microorganismo a ser identificado. En algunos casos estos microtubos deben llenarse completamente con la suspensión, mientras que en otros se requiere del añadido de parafina líquida estéril, que proporciona las condiciones anaeróbicas necesarias.

Todas las instrucciones para la preparación de la suspensión, así como para la inoculación de cada uno de los microtubos, y las condiciones de incubación se pueden encontrar claramente especificadas en los instructivos de uso señalados por el fabricante para cada tipo de galería.

La presencia de enzimas y/o de productos metabólicos generados durante el periodo de incubación reacciona con los sustratos contenidos en los microtubos y desarrollan en los mismos una coloración que puede aparecer en forma espontánea o con el agregado de algún reactivo para su revelado.

La interpretación de los resultados se basa en la observación de las coloraciones desarrolladas, ésta se lleva a cabo mediante la comparación del color obtenido en cada microtubo con el que muestra la carta de colores. De acuerdo a esa interpretación se puede establecer un resultado positivo (+) o negativo (-).

Después del periodo de incubación y comparar, con la carta de colores, los resultados obtenidos en cada microtubo se colocan en la hoja de resultados que suministra el fabricante.

Los datos así obtenidos pueden transformarse en un código de 7 dígitos denominado “perfil numérico” que resulta de la suma de los valores correspondientes a las pruebas positivas asignados previamente en la planilla. En algunos sistemas miniaturizados se recomienda la realización de pruebas bioquímicas opcionales, que permiten obtener dos dígitos adicionales.

El código obtenido se corresponderá a un determinado género o especie de acuerdo a la información contenida en las bases de datos suministradas por el fabricante y que pueden encontrarse disponibles en forma impresa y/o electrónica.

La lectura de estas reacciones se hace por comparación con un control de crecimiento y la identificación se obtiene, a partir de un código numérico, mediante un catálogo analítico o un programa informático.

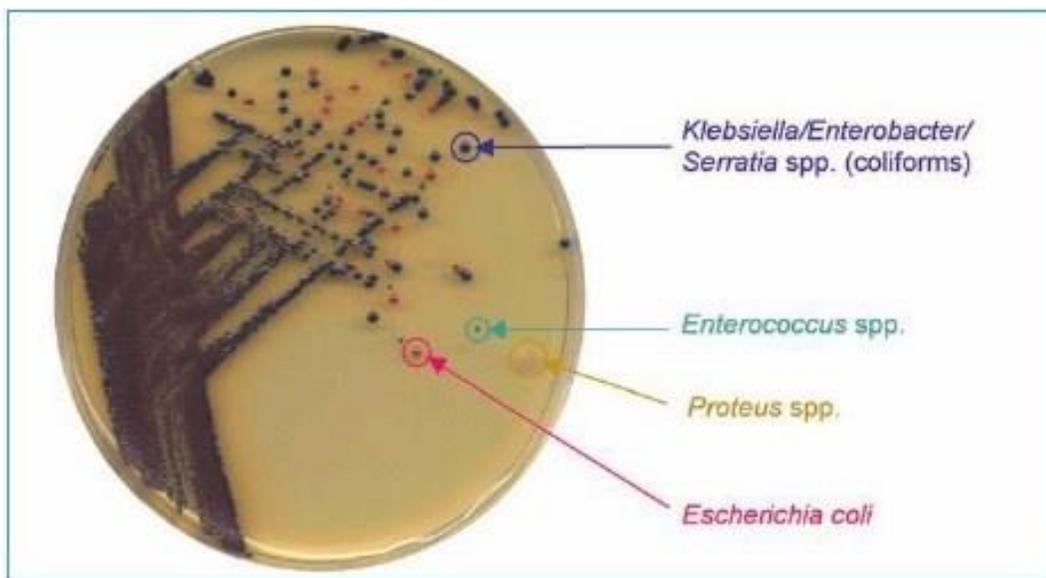
10. Principio del método actual de diagnóstico: medios cromogénicos

Medios selectivo-diferenciales

En los medios selectivos siempre crecen algunas bacterias diferentes a la búsqueda, por ello, para diferenciar las distintas colonias, se añade a los medios selectivos sustancias que confieren un color diferente a las colonias según la distinta actividad metabólica de las bacterias que las forman, convirtiéndolos en medios selectivos-diferenciales.

Para ese propósito se utilizan azúcares como el manitol, la lactosa, el sorbitol y otros, junto con un indicador de pH (rojo neutro, azul de bromotimol, etc.). En la actualidad, los medios selectivo-diferenciales tienden a prepararse utilizando sustancias cromogénicas. Los sustratos enzimáticos cromogénicos son compuestos que actúan como sustratos para enzimas específicas y cambian de color debido a la acción de la enzima sobre el sustrato.

Dichas sustancias son productos químicos de síntesis que son incoloros cuando se unen a sustratos naturales por enlaces que son hidrolizados por enzimas microbianas específicas. Cuando la enzima microbiana hidroliza el enlace, se libera el enlace cromogénico, que adquiere un color intenso. Así, por ejemplo, la galactosa se une a un colorante, el ortonitrofenol (ONF), por un enlace químico que es reconocido por una enzima bacteriana, la β -galactosidasa, cuya función natural es reconocer e hidrolizar el enlace entre la galactosa y la glucosa (que constituyen la lactosa). El complejo galactosa-ONF es incoloro, pero cuando es hidrolizado por la β -galactosidasa y se libera el ONF, éste adquiere un intenso color amarillo. La aparición de ese color en la colonia y a su alrededor indica la presencia de la enzima. Algunas enzimas son específicas de un género, una especie o propias de un reducido número de especies, por lo que su detección permite su identificación.

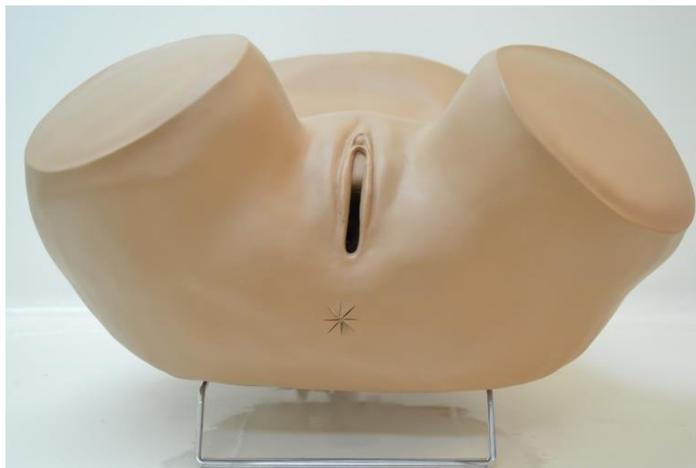


11. Simuladores Anatómicos

Los simuladores anatómicos son un instrumento educativo eficaz de gran utilidad para la enseñanza de la anatomía del cuerpo humano sin que haya consecuencias adversas lo cual nos permite aprender y corregir errores clínicos sin ninguna complicación. Estos simuladores están destinados a facilitar el desarrollo de habilidades y la adquisición de destrezas clínicas, teniendo siempre una relación con los conocimientos adquiridos en el curso teórico.

Gracias a los avances tecnológicos, es posible la enseñanza y capacitación con simuladores plásticos del cuerpo humano con el objetivo principal de mejorar la calidad de atención médica para el paciente, disminuir los errores técnicos y complicaciones que se presenten durante el procedimiento.

Los simuladores anatómicos de los aparatos reproductores masculino y femenino permitirán al alumno familiarizarse con las estructuras anatómicas y así poder realizar prácticas más reales que enseñen al alumno a realizar una correcta toma de muestra biológica emulando de esta forma la práctica profesional frente a un paciente.



III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el laboratorio de microbiología clínica la tarea más importante es el estudio del agente causal de alguna patología ya sea desde leve a muy seria, es por eso que es necesaria una correcta identificación para poder saber de qué tipo de microorganismo se trata y así poder clasificarlo. Por tal motivo es esencial que se lleve a cabo una correcta toma de muestra al paciente para así poder llegar a un diagnóstico certero.

En el programa de Microbiología Médica de la FES Zaragoza, específicamente el programa de laboratorio, no se cuenta con prácticas que ayuden al estudiante a realizar una correcta toma de muestra proveniente del sistema genital del cuerpo humano además de que las practicas existentes están enfocadas por taxonomía bacteriana. Por tal motivo, se diseñaron prácticas encaminadas al diagnóstico microbiológico conforme a aparatos y sistemas que permitan identificar al microorganismo causante de la enfermedad en el tracto genitourinario teniendo en cuenta siempre las buenas prácticas de laboratorio así como las precauciones para evitar la contaminación al personal y a la muestra obtenida.

Las prácticas diseñadas corresponden al módulo “Aparato Genitourinario”, en donde se describe e ilustra el procedimiento para realizar una correcta toma de exudado vaginal, exudado uretral así como la realización de urocultivo, desde la forma de recolección de la muestra hasta la identificación del microorganismo patógeno presente.

Con el propósito de mejorar la enseñanza de los alumnos, se realizaron practicas acorde a las ya existentes pero mejorando el proceso de aprendizaje del módulo de Microbiología Médica con la finalidad de darle un enfoque por aparatos y sistemas más que por taxonomía bacteriana siguiendo dos métodos alternativos, un tradicional y un moderno, dando así mayor flexibilidad a las prácticas para utilizar un método u otro según sea el caso además de que cada práctica cuenta con una metodología innovadora la cual incluye un control de calidad dividido en: fase preanalítica, analítica y postanalítica, medidas de bioseguridad en el laboratorio, procedimiento paso a paso con imágenes propias, la inclusión de agares cromogénicos y sistema API 20, el uso de simuladores anatómicos del aparato genitourinario y cepas bacterianas ATCC como control de calidad.

Posteriormente, se propone reunir las prácticas en un solo manual de diagnóstico clínico con un formato entendible y gráfico que describa de forma sencilla y completa los procedimientos de ambas metodologías teniendo en cuenta las medidas de bioseguridad y control de calidad para así obtener resultados confiables en cada una de las practicas, las cuales ayudaran en su formación académica los alumnos de noveno semestre que cursen la materia de Microbiología Médica.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General

Diseñar nuevas prácticas para el programa de Microbiología Medica de la FES Zaragoza siguiendo dos métodos: tradicional y moderno, que ayuden a una mejor y eficaz identificación del microorganismo causante de patologías en el aparato genitourinario, describiendo de forma clara y sencilla la metodología a utilizar para poder identificar al microorganismo y poderlo clasificar de forma más exacta, mejorando la formación académica de los alumnos.

Objetivos específicos

- ★ Desarrollar nuevas prácticas de laboratorio encaminadas al estudio por aparatos y sistemas utilizando los simuladores anatómicos femenino y masculino como apoyo en la aplicación de las prácticas.
- ★ Describir el procedimiento de una correcta toma de muestra de exudado vaginal y uretral utilizando simuladores anatómicos femenino y masculino para poder identificar los microorganismos patógenos utilizando el método tradicional y moderno usando medios cromogénicos, sistema API y cepas bacterianas ATCC para una correcta identificación.
- ★ Describir el procedimiento de obtención de una muestra de orina para poder identificar al patógeno presente al igual que detallar el procedimiento de la realización del urocultivo, utilizando los métodos tradicional y moderno usando medios cromogénicos, sistema API y cepas bacterianas ATCC como control de calidad.
- ★ Describir los procedimientos tradicionales y modernos para la identificación de microorganismos utilizando medios cromogénicos, sistema API y cepas ATCC como control de calidad para el módulo Aparato Genitourinario.
- ★ Instruir al alumno en el manejo de las fases de control de calidad, preanalítica, analítica y postanalítica, para obtener un resultado confiable y reproducible.

V. HIPÓTESIS

Se espera que las prácticas diseñadas correspondientes al módulo Aparato Genitourinario con una metodología innovadora utilizando un formato de control de calidad, medidas de bioseguridad, procedimientos paso a paso con imágenes propias y cepas ATCC, al ser aplicadas, tengan un resultado confiable y una aceptación favorable por parte de los alumnos mayor al 80%, lo cual nos indicará que las prácticas pueden ser aplicadas dentro de la materia de Microbiología Médica y áreas afines.

VI. DISEÑO EXPERIMENTAL

Tipo de estudio

- ✓ Prospectivo
- ✓ Transversal
- ✓ Descriptivo
- ✓ Observacional

Tipo de Población

La población de estudio se realizó a los alumnos de noveno semestre de la carrera de Química Farmacéutico Biológica de la FES Zaragoza.

Variables

Dependiente: Diseño y elaboración de prácticas con el enfoque por aparatos y sistemas.

Independiente: Uso de cepas bacterianas ATCC, control de calidad, medidas de bioseguridad, uso de medios cromogénicos y sistema miniaturizados de pruebas bioquímicas (API 20), simuladores anatómicos y metodología con imágenes propias paso a paso.

Operacionalización de variables

Variables	Definición	Nivel de medición	Categoría
Medios cromogénicos	Son medios selectivo-diferenciales preparados con sustratos cromogénicos. Los sustratos cromogénicos pueden ser definidos como “un compuesto o sustancia que contiene un grupo formador de color” el cual detecta enzimas hidrolasas, incluyendo glicosidasas, peptidasas, fosfatasas y esterases, entre otros ⁽⁶²⁾	Cualitativo	Positivo (+) o negativo (-)
Sistema API	Los sistemas miniaturizados API son métodos rápidos que permiten la identificación de micro-organismos a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas. Estos sistemas consisten en un dispositivo de plástico con varios microtubos que contienen diferentes medios de cultivo deshidratados o diferentes sustratos de enzimas de acuerdo al tipo de prueba que se requiere montar. ⁽⁴⁵⁾	Cualitativo	Positivo (+) o negativo (-)
Medio de cultivo	Son una mezcla de nutrientes como proteínas, hidratos de carbono, oligoelementos, coenzimas y colorantes, que permiten el crecimiento de las bacterias. ⁽⁴⁶⁾	Cualitativo o cuantitativo	Positivo (+) o negativo (-) UFC/mL
Cepas ATCC	Es un material biológico de referencia certificado. La colección certifica que se suministra una determinada cepa, que es un cultivo puro, y que se han observado las convenientes pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares correspondientes. ⁽⁴⁷⁾	Cualitativo	Positivo (+) o negativo (-)
Practica innovadora	Para este trabajo, es aquella que tiene un marco teórico acorde al tema, un control de calidad, medidas de bioseguridad, una secuencia metodológica paso a paso con imágenes propias tomadas especialmente para cada práctica.	Cualitativo	Utilidad mayor al 80%

Materiales

Nombre de la práctica	Método				Cepas	
	Tradicional		Moderno			
	Medios de cultivo	Pruebas bioquímicas	API 20	Medio cromogénico		
Urocultivo	ASC 5%	Citrato de Simmon's			<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	
	Agar McConkey	Fenilalanina desaminasa				
	Agar Sabouraud	LIA				
	Agar Mueller Hinton	MIO				
	Agar Harina de Maíz	SIM	Reactivos para:			
		TSI	-Fenilalanina desaminasa	API 20 E		CPS ID
		Urea de Christensen	-Caldo nitrato	API 20 C		Candida ID
	Caldo nitrato con campana	-RM-VP	AUX		<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	
	Caldo RM-VP	O/F Hugh Leifson + maltosa con/sin sello de nujol			<i>Klebsiella pneumoniae</i> CFQ-B-89*	
		-Rojo de fenol +			<i>Proteus mirabilis</i> CFQ-B-234*	
		<ul style="list-style-type: none"> • lactosa • Trehalosa • manitol 				
Exudado uretral	Agar chocolate	Citrato de Simmon's			<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	
	Agar McConkey	Fenilalanina desaminasa				
	Agar Sabouraud	LIA				
	Agar Mueller Hinton	MIO				
	Agar Sal y Manitol	SIM	Reactivos para:			
	Agar Harina de Maíz	TSI	-Fenilalanina desaminasa	API 20 Staph		Crom Staph ID
		Urea de Christensen	-Caldo nitrato	API 20 E		Candida ID
	Caldo nitrato con campana	-RM-VP	API 20 C	CPS ID	<i>Klebsiella pneumoniae</i> CFQ-B-89*	
	Caldo RM-VP	O/F Hugh Leifson + maltosa con/sin sello de nujol	AUX		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	
		Rojo de fenol +			<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	
		<ul style="list-style-type: none"> • lactosa • Trehalosa • manitol • Gelatina nutritiva 				
Exudado vaginal	Agar Sabouraud		API 20 C	Candida ID	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	
	Agar Harina de Maíz		AUX			

* Número de colección del cepario del Departamento de Biología de la Facultad de Química

Equipo

Nombre	Características
Microscopio Primo Star	Modelo Carl-Zeiss
Estufa Bacteriológica	Modelo MAPSA – EC334. No. de serie: 1178312
Cámara NIKON	Modelo D5100
Simuladores anatómicos Nasco Life/Form replicas	
Masculino	No. de serie: LF00855 – 11994
Femenino Gaumard Scientific	S/N: 031612 – 13A3B

Metodología



VII. RESULTADOS

A continuación, se presentan las tres prácticas finales con su respectiva validación en el siguiente orden:

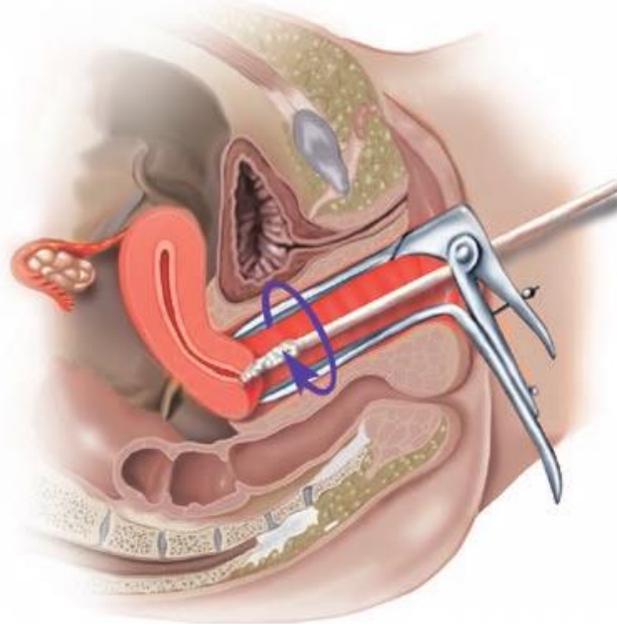
- 1) **Diagnóstico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Femenino Mediante Exudado Vaginal**
- 2) **Diagnóstico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Mediante Exudado Uretral Masculino**
- 3) **Diagnóstico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Mediante Urocultivo**

Estas prácticas corresponden al módulo 5 “Aparato Genitourinario” del programa de Laboratorio de Microbiología Médica.



LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES BACTERIANAS DEL TRACTO GENITAL MEDIANTE EL EXUDADO VAGINAL



ELABORADO POR:

Q.F.B. ANTONIO AVILÉS VILLADA

M en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Proyecto apoyado por PAPIME 209012

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



TABLA DE CONTENIDO

I. Introducción.....3

II. Objetivos.....4

III. Medidas de bioseguridad.....5

IV. Propósito del examen.....6

V. Metodología.....6

 V.1 Fase Preanalítica.....6

 V.2. Fase Analítica.....18

 V.3 Fase Posanalítica.....38

VI. Referencias.....39

ANEXO I. Elección del espéculo y su manejo.....40

ANEXO II. Método para producción de clamidiosporas44

ANEXO III. Tabla de resultados del método tradicional.....44

ANEXO IV. Tabla de resultados del método moderno.....45

ANEXO V. Sensibilidad a los Antibióticos.....51

ANEXO VI. Formato de informe de laboratorio.....53

ANEXO VII. Cuestionario.....54

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



I. Introducción

La muestra de exudado vaginal es obtenida para diagnosticar el síndrome de vulvovaginitis (inflamación de la vagina) y vaginosis bacteriana (alteración del equilibrio de la flora vaginal sin inflamación).

La inflamación de la mucosa vaginal, denominada **vaginitis**, es un síndrome clínico común que determina alrededor de 10 millones de consultas médicas por año. Las mujeres que presentan síntomas vaginales a menudo manifiestan flujo anormal y tal vez otros síntomas, como olor desagradable o prurito. ⁽⁴⁾

Hay cuatro causas infecciosas comunes: candidiasis, tricomoniasis, vaginosis bacteriana y herpes genital. ⁽²⁾

La candidiasis se caracteriza por prurito y por una secreción espesa, blanquecina, y que tiene aspecto cuajado. Puede presentarse dispareunia (dolor durante el coito) y disuria. El examen microscópico muestra hongos y pseudohifas con una laminilla húmeda en KOH al 10%. ⁽²⁾

La tricomoniasis es causada por el protozoo flagelado *Trichomonas vaginalis*. La infección se adquiere por contacto sexual. La tricomoniasis puede ser asintomática, pero a menudo produce prurito intenso con una secreción abundante, purulenta, espumosa y fétida. La pared vaginal eritematosa esta enrojecida, el “cuello uterino en fresa” es distintivo, friable y con hemorragias punteadas. Se examina la secreción vaginal reciente en una laminilla húmeda con solución salina para demostrar tricomonas móviles. ⁽²⁾

La vaginosis bacteriana parece asociarse con una reducción de los lactobacilos y la producción de peróxido de hidrógeno, una elevación del pH vaginal y el sobrecrecimiento de los microorganismos asociados con la vaginosis bacteriana. La actividad sinérgica de varios microorganismos anaerobios, entre ellos especies de *Prevotella*, especies de *Porphyromonas*, peptoestreptococos, especies de *Mobiluncus* y micoplasmas así como *G. vaginalis*, parece contribuir a producir la infección.

La vaginosis bacteriana se caracteriza por una irritación perivaginal bastante más leve que la de la tricomoniasis o la candidiasis y por lo general se asocia con un flujo maloliente que con frecuencia se describe como con "olor a pescado", también puede sentir dolor al orinar o picazón en la parte exterior de la vagina o ambas cosas. Algunas manifiestan no tener signos ni síntomas. ⁽²⁾

La vaginosis bacteriana es la causa más frecuente consultada de la mujer por síntomas vaginales (40-50%) seguida por candidiasis (20-25%) y tricomoniasis (15-20%).

Esta práctica tiene como apoyo el simulador ginecológico femenino el cual ayudará a realizar una correcta toma de muestra, para posteriormente, aplicar la metodología tradicional y moderna de diagnóstico clínico tomando en cuenta las medidas de bioseguridad del laboratorio para poder obtener un resultado confiable.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



Para la metodología tradicional se utilizarán medios de cultivo tradicionales y pruebas bioquímicas. Para la metodología moderna se utilizarán medios cromogénicos y sistema API. Ambas prácticas tendrán como control de calidad cepas ATCC.

El diseño de esta práctica está encaminada a que el alumno observe de manera gráfica y sencilla los pasos para realizar una correcta toma de muestra y, a su vez, sea reproducible en cualquier laboratorio clínico. Por tal motivo y con fines de control de calidad, las prácticas se dividirán en tres etapas: preanalítica, analítica y postanalítica:

Etapas preanalítica: se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma.

Etapas analítica se describen los métodos de laboratorio empleados en esta área, los cuales son explicados de manera clara, precisa y sencilla para ser llevados a cabo por el personal del área que lo consulte y lograr la correcta ejecución de las pruebas ya que en esta etapa se exigen técnicas estandarizadas, equipos adecuados bien calibrados y reactivos.

Etapas postanalítica se refieren los resultados obtenidos y se especifican en el informe del laboratorio, al cual se llega partiendo de que las fases preanalítica y analítica son realizadas con el rigor técnico y científico exigido por un sistema de gestión de la calidad.

II. Objetivos

- Aprender a realizar una correcta toma de muestra vaginal utilizando el modelo anatómico femenino.
- Aplicar los procedimientos tradicional y moderno para la identificación de microorganismos encontrados en infecciones vaginales.
- Utilizar los agares cromogénicos y sistema API como métodos modernos de diagnóstico.
- Utilizar las cepas ATCC como control de calidad para el método tradicional y moderno.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



III. Medidas de bioseguridad⁽³⁾

De acuerdo a la OMS, el nivel de seguridad para un laboratorio de enseñanza básica e investigación es nivel 1, como el laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza, por lo tanto las medidas de seguridad para este nivel son:

- Las puertas del laboratorio se mantendrán cerradas
- No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan implicar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados.
- No se usará calzado abierto
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- Estará estrictamente prohibido pipetear con la boca.
- No se colocará ningún material en la boca ni se pasará la lengua por las etiquetas.
- Todos los derrames, accidentes y exposiciones reales o potenciales a materiales infecciosos se comunicarán al supervisor del laboratorio.
- Los líquidos contaminados deberán descontaminarse (por medios químicos o físicos).
- El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso y al final de cada jornada de trabajo.
- Realizar el lavado de manos de acuerdo a la técnica recomendada por la Secretaria de Salud antes de la toma de muestra. ⁽¹²⁾

Manipulación de desechos:

- Seguir los criterios estipulados por la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección Ambiental Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos. Clasificación y especificaciones de manejo.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



IV. Propósito del examen

Se basa en efectuar una toma de muestra apropiada para realizar el diagnóstico microbiológico de patógenos que producen la infección en el tracto genital femenino utilizando dos métodos: moderno y tradicional, empleando cepas ATCC como control de calidad.

V. Metodología

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y el método actual de diagnóstico (sistema API20 y medios cromogénicos). Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y posanalítica.

V.1. Fase preanalítica

Preparación del paciente

En las 48 horas previas a la realización del examen la paciente **NO DEBERÁ** mantener relaciones sexuales, ni realizarse irrigaciones o colocarse óvulos, cremas o cualquier otro tipo de medicación vaginal. Informar a la paciente que no se aplique pomadas o espermaticidas por vía vaginal por lo menos la noche previa a la toma de muestra y que no esté menstruando.

Es preferible que la paciente haya orinado una hora o media hora antes de la toma de muestra para que el cérvix pueda verse completo y evitar molestias a la paciente.

Criterios de rechazo de la paciente

- En caso de que la identificación del paciente no sea la correcta
- Que se haya aplicado duchas, pomadas, óvulos o espermicidas una noche antes de la muestra.
- Pacientes en periodo menstrual.
- La paciente no debe tomar antibióticos
- Si ha mantenido relaciones sexuales 48 h antes de la toma de muestra

Identificación

Los recipientes donde se va a tomar la muestra deben estar identificados. Etiquetar la muestra con los siguientes datos:

- Nombre completo o iniciales empezando con el apellido, número de registro, tipo de muestra, sexo, edad, fecha y hora de toma de muestra.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

Equipo y reactivos (Método tradicional)

Material y equipo	Reactivos	Medios de cultivo	Pruebas bioquímicas	Reveladores para pruebas bioquímicas
Bata para el paciente Cubrebocas Guantes desechables Portaobjetos cubreobjetos Cepillo cervical estéril Hisopo de algodón Espejo vaginal Gradilla Asa bacteriológica Mechero Mesa de exploración ginecológica Mesa de Mayo Lámpara de chicote Microscopio Estufa de incubación	Colorantes para tinción de Gram: <ul style="list-style-type: none"> • Cristal violeta • Lugol • Alcohol-Cetona • Safranina Aceite de inmersión Fijador Medio de transporte Stuart Solución salina isotónica	Agar Sabouraud o PDA Agar Harina de maíz Agar McConkey Agar Chocolate Agar Mueller Hinton	Citrato de Simmon´s Fenilalanina desaminasa LIA MIO SIM TSI Urea de Christensen Caldo nitrato con campana Caldo RM-VP O/F HughLeifson con/sin sello de nujol Rojo de fenol + CHO´s	Cloruro Férrico Alfa naftilamina Ácido sulfanílico Alfa naftol KOH 30% Prueba de la catalasa prueba de la coagulasa Reactivo de Kovacs



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

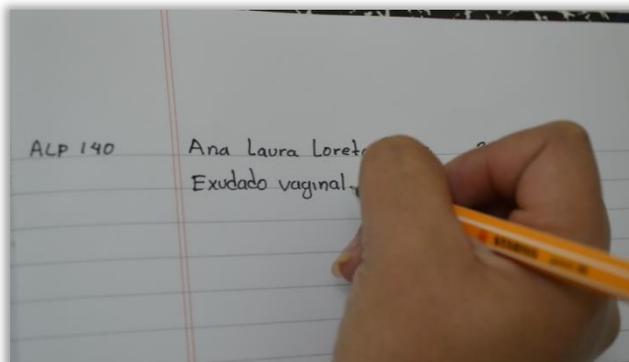
FECHA:

FECHA:

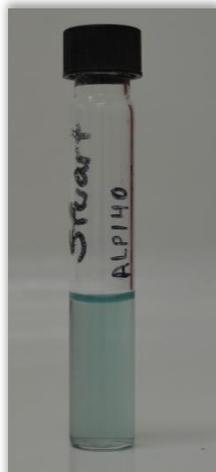


Procedimiento para la toma de muestra

- 1) Realizar la identificación del paciente en la libreta especial



- 2) Rotular el medio de transporte y los medios con los datos del paciente.



- 3) Pasar a la paciente al consultorio y si lo desea a su acompañante.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

4) Explicar a la paciente en forma verbal en que consiste la toma de muestra.



5) Se le pide que se quite la ropa de la cintura para abajo, se ponga la bata con la abertura hacia atrás y suba a la mesa de exploración en posición ginecológica.



6) Se prepara el material estéril a utilizar: espejo vaginal, hisopos de algodón, cepillo cervical, gasas, portaobjetos, medios de cultivo, fijador, KOH y medios de transporte.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

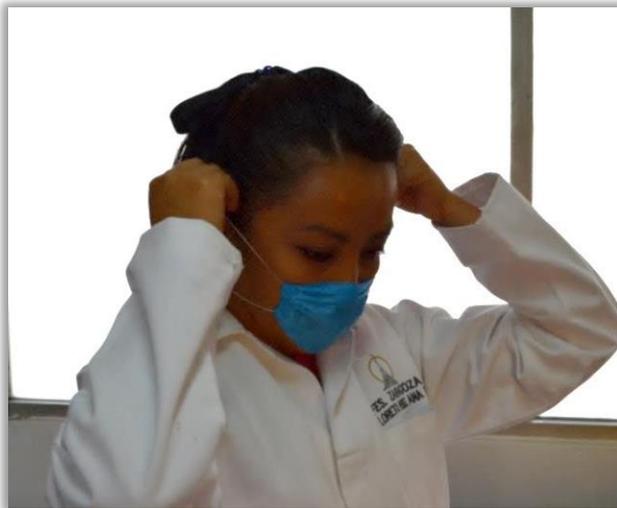
Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

7) La persona que va a tomar la muestra se lava las manos antes de iniciar el procedimiento.



8) Se coloca primero el cubrebocas (A) y después los guantes desechables (B).



(A)



(B)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

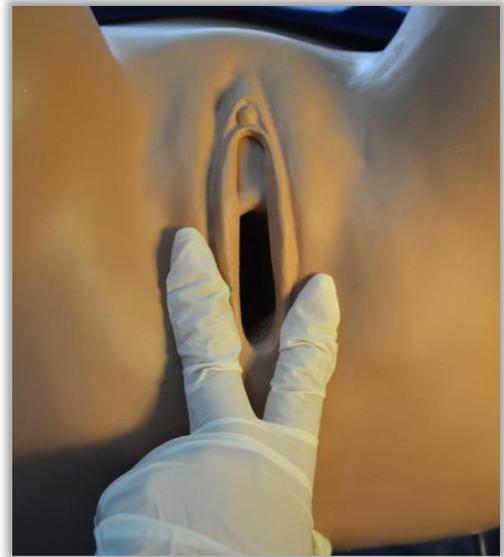
Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

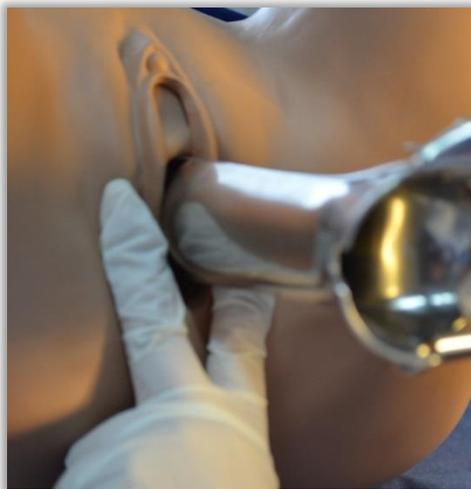
9) Iluminar con la lámpara y localizar la vagina



10) Se aplica una presión hacia abajo en la abertura vaginal con dos dedos.



11) Con los dedos todavía en esa posición, introduzca el espéculo cerrado de forma vertical lentamente



12) Retire sus dedos y gire el espéculo hacia la horizontal, introduciéndolo a lo largo del canal vaginal. Se dirige el espéculo hacia abajo, con un ángulo de 45°.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

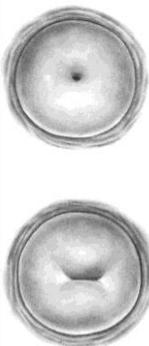
Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

13) Proceda a abrir el espéculo y atórelo para que no se cierre.



15) El orificio de la mujer nulípara es pequeño, redondeado u oval. El de la multípara suele ser una hendidura horizontal o puede ser irregular y estrellado.



14) Gire el espéculo ligeramente, hasta que vea el cuello. El espéculo en posición, bloqueado y estable, obsérvese la completa visión del cérvix.



16) Introducir el cepillo cervical colocando la punta dentro del endocérvix y rotar el cepillo 360° dos veces.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:

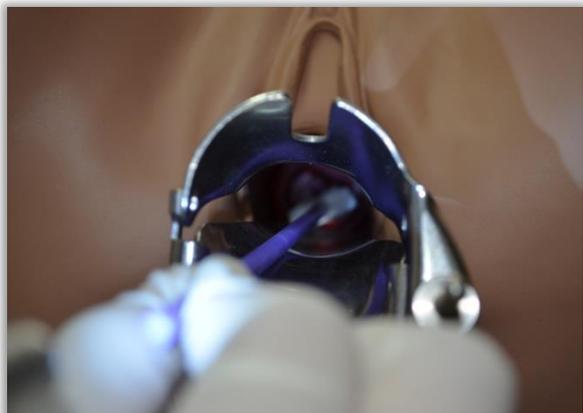


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

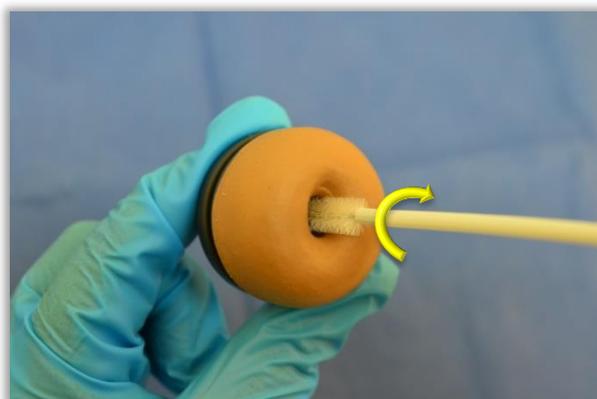
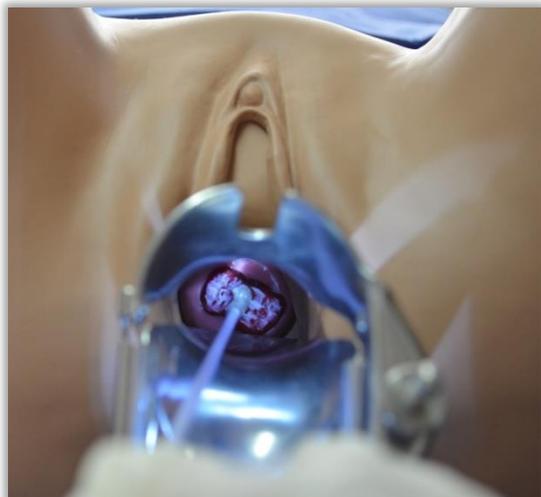
Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

17) Sacar el cepillo, sin tocar las paredes, y en un portaobjetos realizar un suave extendido. Después aplicarle fijador.



18) Comprimir el cérvix e introducir el hisopo de alginato, en el canal endocervical con suaves movimientos rotatorios de 10 a 30 segundos.



Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:

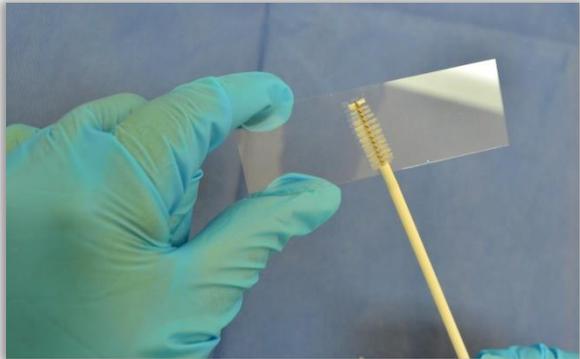


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

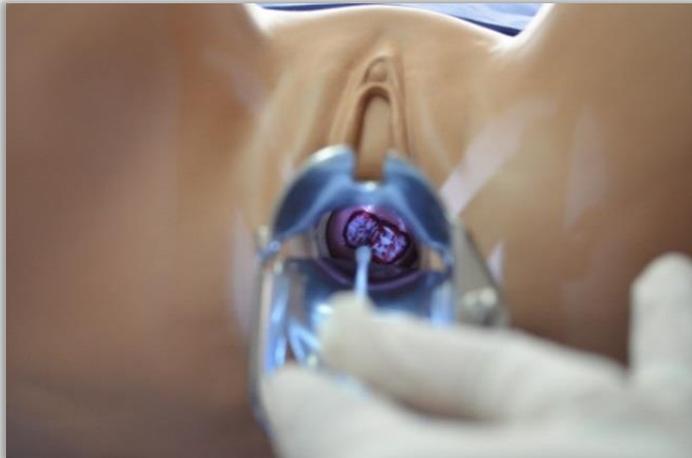
Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

19) Realizar un barrido suave con el hisopo de alginato de un extremo hacia otro de manera como si lo desenrollara para no dañar las células. Después aplicar el fijador.



20) Con un hisopo de algodón, raspar la zona del saco vaginal (exocervix), rotar suavemente dando dos vueltas contra las paredes vaginales



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:

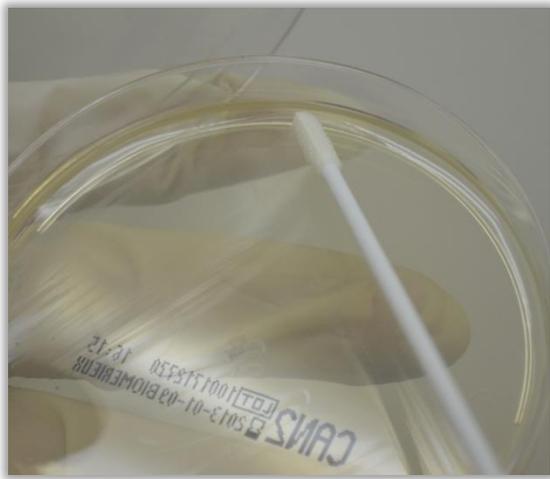


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

21) Sacar el hisopo y sembrar sobre los medios de agar, depositando la muestra suavemente sobre un extremo (A). Ya sea en solución isotónica previamente calentada a 37° C o en medio de transporte específico, se corta el mando con la finalidad de cerrar el vial dejando el hisopo dentro (B)

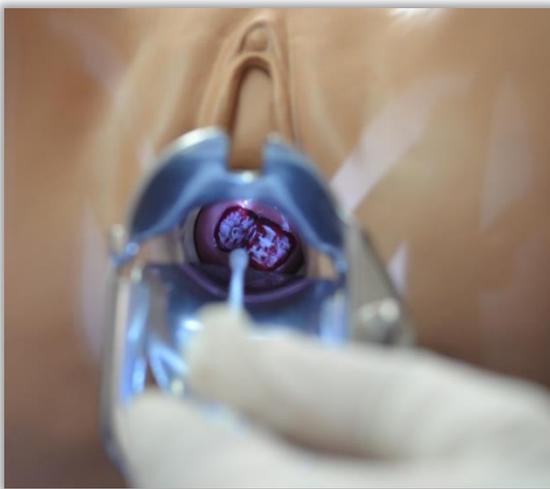


(A)



(B)

22) Con un segundo hisopo volver a rotar suavemente dos vueltas contra las paredes vaginales (A) y realizan dos extensiones sobre dos portaobjetos*. (B)



(A)



(B)



*Una extensión en portaobjetos es para tinción de Gram y Giemsa.

La otra extensión para prueba de aminas con KOH 10%.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:

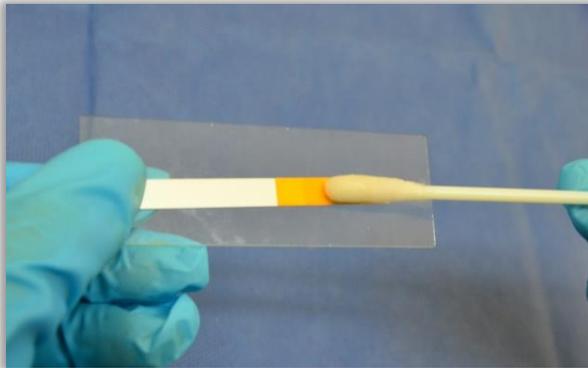


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

23) Con el mismo hisopo tomar el pH con un papel indicador sobre otro portaobjetos para después compararlo con la escala de pH.



24) Para estudios de infección gonocócica y pruebas para detección de *Chlamydia*, se introduce un hisopo especial evitando el contacto con la mucosa vaginal, dentro del endocervix, sin rotar, se mantiene ahí por 30 segundos.

25) Este hisopo se introduce en el medio de transporte específico, y se cierra el vial dejando el hisopo dentro. Rotularlo con los datos de la paciente.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



26) Desbloquee el espejito (A) y retírelo suavemente, rotándolo mientras lo retira, lo que permitirá la inspección de las paredes vaginales. (B)

(A)



(B)



27) Terminado el procedimiento se le pide al paciente que se vista.

28) La muestra se coloca en la charola de muestra microbiológica y se transporta a la recepción del laboratorio de microbiología clínica.

Transporte y conservación

El envío de la muestra debe ser inmediato siempre que sea posible. Cuando la muestra no pueda procesarse antes de 15 minutos deberán emplearse hisopos con medio de transporte tipo Stuart-Amies, que se mantendrán a temperatura ambiente, o preferentemente, en estufa 35-37°C hasta su procesamiento, que deberá ser antes de 3-6 horas. El examen en fresco deberá observarse inmediatamente o de lo contrario mantener en estufa a 37°C por no más de 1 hora.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



V.2. FASE ANALITICA

Tabla 1. Procedimiento de los métodos tradicional y moderno.

Método tradicional		Método actual de diagnóstico	
Origen de la muestra a analizar		Origen de la muestra a analizar	
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
<p>Sembrar por aislamiento en los medios inoculados:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Agar McConkey o EMB • Agar Sabouraud o PDA <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Se incuban a 37° C durante 24 horas.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Después de la incubación describir la morfología colonial para cada medio de cultivo sembrado</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Realizar la tinción de Gram.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Para las colonias en McConkey realizar las pruebas bioquímicas</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Incubar a 37° C por 18-24h. Posteriormente leer.</p>		<p style="text-align: center;">Medios cromogénicos</p> <p>Extender la muestra para aislamiento en los siguientes medios cromogénicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Crom CPS ID • Crom Candida ID <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 24 h.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Observar las colonias asiladas, comparar con la literatura y reportar.</p> <p>Realizar el llenado de las galerías de API 20 con una cepa problema en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • API 20 E • API 20 C AUX 	

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



En las colonias formadas en agar papa dextrosa realizar la prueba de tubo germinal.

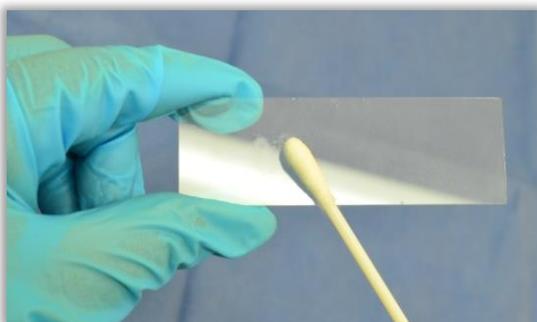


Efectuar Antibiograma de bacterias patógenas encontradas y reportar.

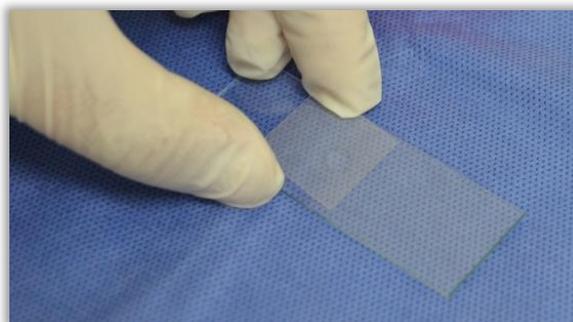
A. Descripción del Método tradicional

Con el hisopo en solución salina al 0.85% se coloca una gota en un portaobjetos para realizar una observación en fresco al microscopio (objetivo 40x) (A). Con el medio Stuart se realiza un extendido, se coloca una gota de solución salina estéril, se cubre con un cubreobjetos y se observa a seco fuerte (B).

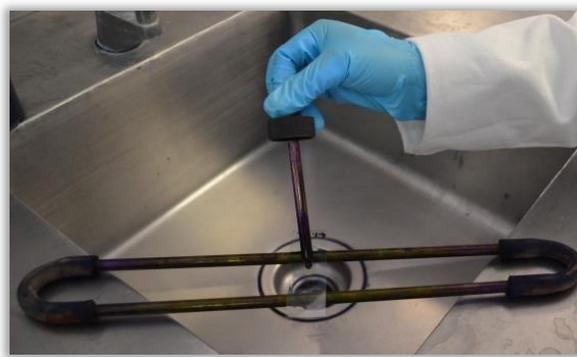
(A)



(B)



Realizar la tinción de Gram y Giemsa en el portaobjetos con la muestra fijada y observar en microscopio a objetivo seco fuerte e inmersión.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



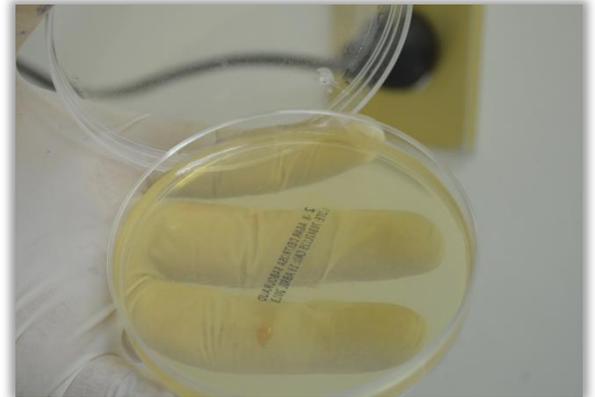
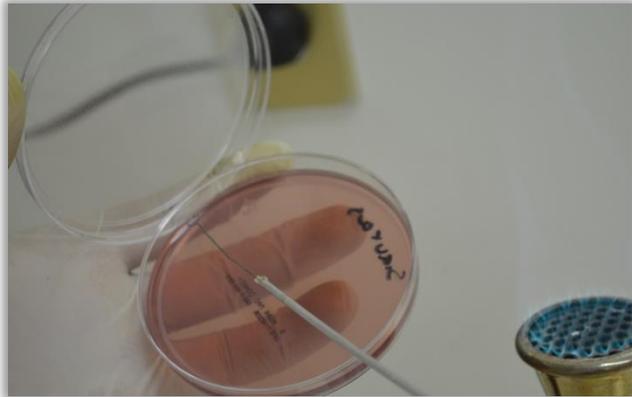
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

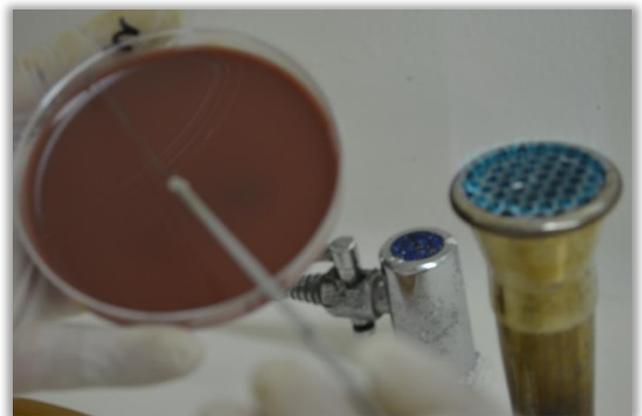
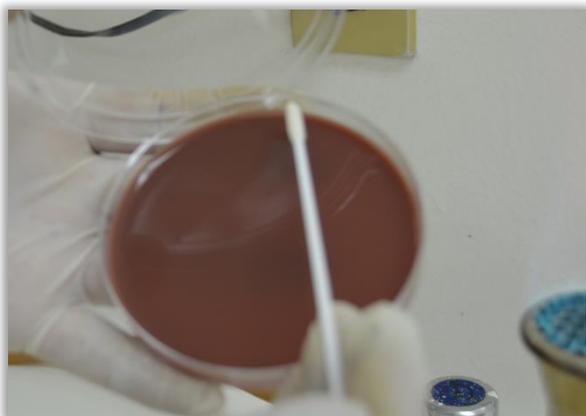
Realizar la siembra por aislamiento en los siguientes medios:

- Agar McConkey o EMB
- Agar Sabouraud o PDA



Incubar las cajas en posición invertida de 35 a 37°C durante 24 horas.

Del hisopo especial para gonococo y clamidia, sembrar en un extremo en el agar chocolate y después con un asa bacteriológica estéril sembrar por aislamiento e incubar de 35 a 37°C por 24 horas.



Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:

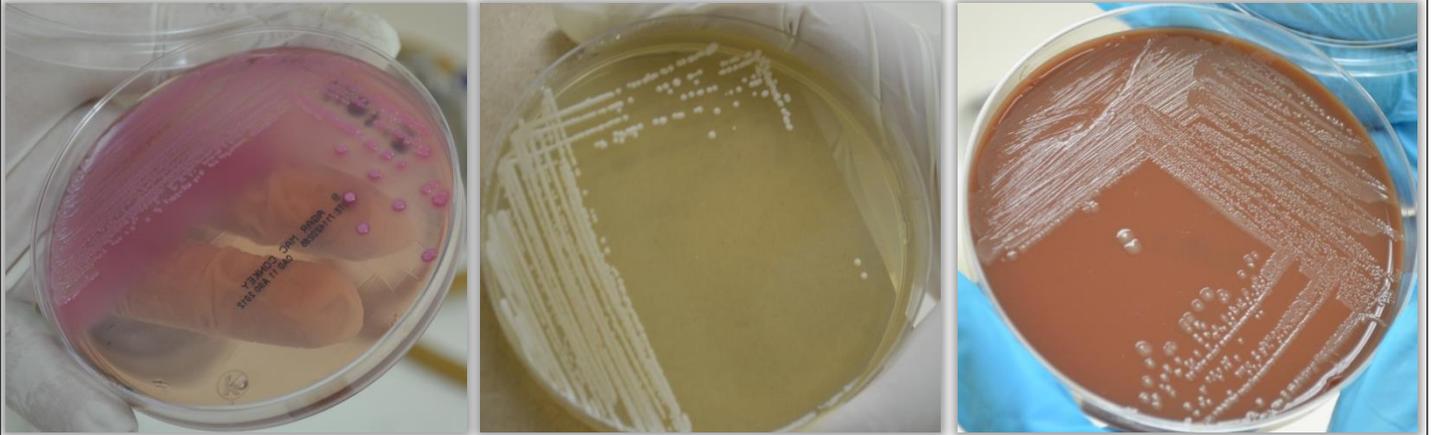


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

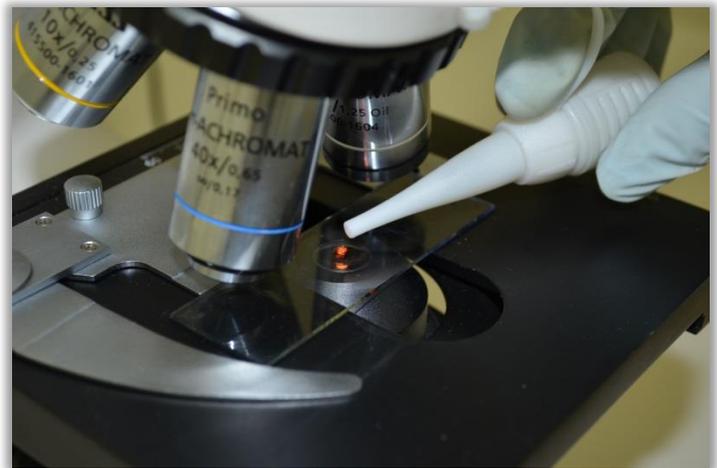
Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

Observar las características morfológicas de cada uno de los medios inoculados



Realizar la tinción Gram de una colonia aislada del agar McConkey y agar chocolate. Observar al microscopio en objetivo seco fuerte (40x) e inmersión (100x).



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

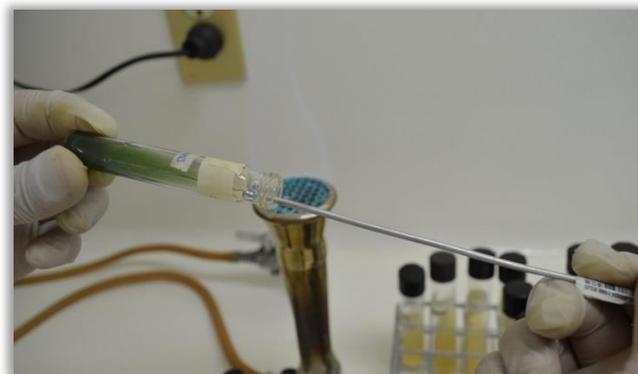
ECHA:

FECHA:

FECHA:



Para las colonias aisladas de agar McConkey realizar las pruebas bioquímicas y pruebas especiales.



En las colonias aisladas en el Agar Sabouraud o PDA realizar la prueba de tubo germinal y clamidosporas (ANEXO II).

Incubar a 37°C de 18 a 24 h. Posteriormente reportar los resultados en los formatos para el método tradicional. (ANEXO III)

Realizar el antibiograma para bacterias grampositivas y gramnegativas. Reportar en el formato de susceptibilidad a los antibióticos (ANEXO V)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



B. Descripción del método actual de diagnóstico

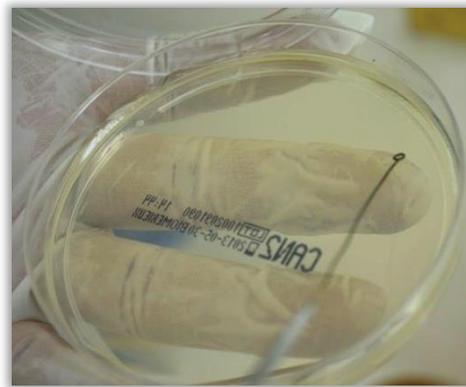
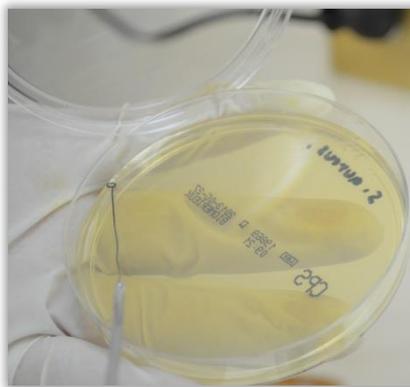
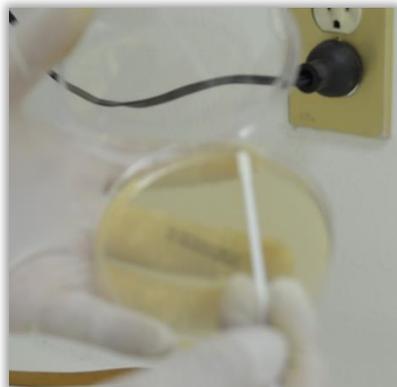
Medios cromogénicos

Metodología

Material	Medios de cultivo
Asa bacteriológica	Crom CPS ID
Guantes	Crom Candida ID
Cubre bocas	



- 1) Extender la muestra para aislamiento en la superficie del medio cromogénico. Si la muestra se cultiva de una torunda, hacerla girar sobre una superficie pequeña de la superficie cercana al borde, para luego extenderla a partir de dicha zona con un asa.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

2) Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 24 h en posición invertida. En caso de resultado negativo a las 24 h, incubar nuevamente durante 24 h más para registrar los resultados finales.



3) Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella, ya que la luz puede destruir los cromógenos.

4) Anotar el resultado correspondiente en el formato para medios cromogénicos y comparar con la literatura. (ANEXO IV)

* En caso de que no haya crecimiento o poco crecimiento, dejar incubando 24 h más en las mismas condiciones.



Crom CPS / *Escherichia coli*



Crom Candida / *Candida albicans*

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



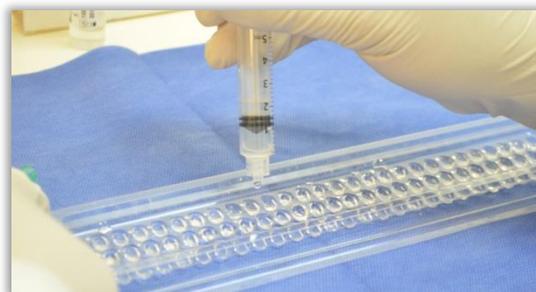
Sistema API 20E

Material	Reactivos para revelado de pruebas bioquímicas
Kit API 20 E	-FeCl ₃ 10% (TDA)
Jeringa 1mL	-KOH al 40% (VP1)
Pipeta Pasteur	-Naftol (VP2)
Guantes	-Kovacs o dimetilamino-cinamaldehido o reactivo de James.
Cubrebocas	-Tetrafenilendiamina
	-NIT 1 y NIT 2
	-Zn



Preparación de la tira

- 1) Prepare una caja de incubación (bandeja y tapa) y distribuir aproximadamente 5 ml de agua destilada o agua desmineralizada (o cualquier agua sin aditivos o productos químicos que puedan liberar gases como Cl₂, CO₂) en el panel de pocillos de la bandeja para crear una atmósfera húmeda.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



- 2) Escribir la referencia de las cepas en la lengüeta lateral de la cámara. **(No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar extraviada durante la manipulación).**



- 3) Sacar una galería API 20 E de su envase individual.



- 4) Colocar la galería en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo

- 5) Abrir una ampolla de API NaCl 0,85% Medium (5 ml) o una ampolla de API Suspensión Medium (5 ml) o utilizar un tubo que contenga 5 ml de agua fisiológica estéril o de agua destilada estéril, sin aditivos



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

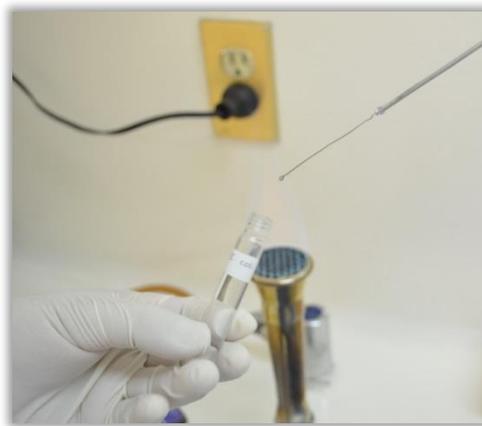
ECHA:

FECHA:

FECHA:



- 6) A partir de una colonia bien aislada del microorganismo, hacer una suspensión en 5mL de solución salina (0.85% de NaCl) o 5 mL de agua estéril. Utilizar preferentemente cultivos jóvenes (18-24 horas).



Inoculación de la galería

- 7) Con la ayuda de la jeringa o pipeta Pasteur, introducir la suspensión bacteriana en los tubos de la galería (para evitar la formación de burbujas en el fondo de los tubos, colocar la punta de la jeringa sobre la pared de la cúpula, inclinando ligeramente la cámara de incubación hacia delante).



- 8) Llenar el tubo y la cúpula de los pocillos CIT*, VP*, GEL* con la suspensión de bacterias evitando la formación de burbujas y apoyando la punta de la micropipeta sobre el borde de la cúpula. Cada cúpula se llena hasta obtener un nivel horizontal o ligeramente convexo, nunca cóncavo para generar resultados correctos.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

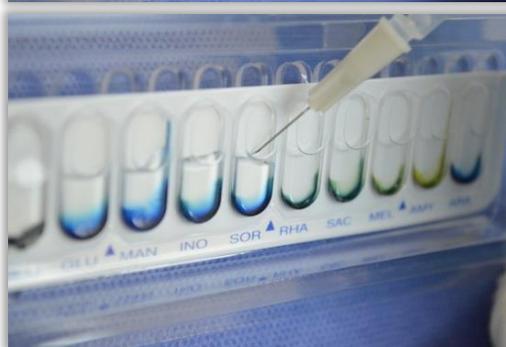
Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /



- *CIT= utilización del citrato
- *VP= producción de acetoina (VogesProskauer)
- *GEL= gelatinasa (gelatina)

9) Para las otras pruebas, llenar únicamente los tubos (Hasta el menisco)



10) Cubrir con parafina las cúpulas de los pocillos ADH*, LDC*, ODC*, URE*, H₂S* para obtener anaerobiosis.



- *ADH= Arginina-dihidrolas
- *URE= Ureasa
- *LDC =Lisina Decarboxilasa
- * H₂S= Producción de H₂S
- *ODC=OrnitinaDecarboxilasa

11) Poner la tira en su propia cámara húmeda de incubación y cerrar las cámaras de incubación.

12) Incubar a 37° C durante 18-24 horas

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /



Lectura e interpretación

13) Tras la incubación se anotan los resultados inmediatos, es decir, los que no requieren ser revelados. La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con las tablas de lectura que proporciona el proveedor, y anotando el resultado como positivo o negativo. (**Anexo III**)



14) Determinadas pruebas requieren ser reveladas, para el revelado se tienen que tener en cuenta dos criterios:

- Si la glucosa da negativo y los test positivos son dos o menos de dos, no hay que añadir reactivos.
- Si la glucosa es positiva y/o tres o más test son positivos se revelan los test que requieren reactivos:

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

TDA: añadir una gota de FeCl₃ 10% (una gota del reactivo TDA)
Positivo= color marrón oscuro



VP: añadir una gota del reactivo VP1 y una gota del reactivo VP2

Positivo= color rosa fuerte o rojo en 5-10 minutos.

Negativo= color rosa débil después de los 10 min.



IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs¹ o dimetilamino-cinamaldehido². O reactivo de James³ Dependiendo del reactivo utilizado pueden darse las posibilidades siguientes:

¹Positivo= aparece un anillo rosa-rojo.

²positivo= color de rosa a morado en todo el pocillo.

³ positivo= rosa



Oxidasa: es la prueba número 21 y se realiza de forma independiente a la tira. Añadir una gota del reactivo (tetrafenilendiamina) recién preparado.
Positivo= color azul que aparece

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



inmediatamente.

Reducción de los nitratos en nitritos (NO₂) y en nitrógeno (N₂): añadir una gota de los reactivos NIT 1 y NIT 2 en el tubo GLU. Esperar de 2 a 5 minutos.



Positivo (NO₂)= coloración roja

Negativo= coloración amarilla, puede deberse a la producción de nitrógeno (eventualmente señalado por la presencia de micro-burbujas): agregar de 2 a 3 mg de reactivo Zn en la cúpula GLU. Después de 5 minutos, si el color sigue siendo **amarillo**, indica una reacción **positiva** (N₂)

Negativo= coloración naranja-rojizo de la cúpula, ya que los nitratos aún presentes en el tubo han sido reducidos a nitritos por el Zinc.



15) Del conjunto de reacciones y resultados se obtiene un perfil numérico de 7 cifras. Los pocillos están separados en grupos de tres: en total tenemos 7 grupos de tres tubos o tripletes (el test número 21 corresponde al test de la oxidasa).

Para obtener el perfil numérico de 7 cifras, a cada pocillo se le dará el valor 0, 1, 2 ó 4, de acuerdo a los siguientes criterios:

- Si la reacción es negativa en un pocillo se pone 0.
- Si la reacción es positiva en el 1º pocillo se escribe 1, si es positiva en el 2º pocillo se escribe 2 y si es positiva en el 3º se escribe 4, obteniendo un triplete.
- Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

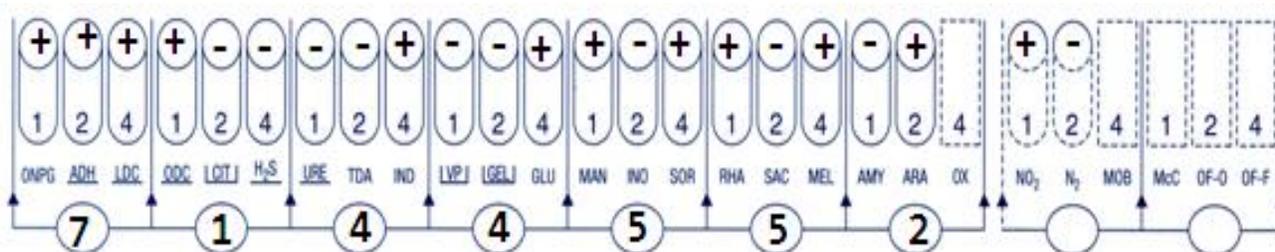
Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata.^{7,8,9}

16) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato (Anexo IV)

<p>ONPG ADH LDC</p>	<p>ODC CIT H2S</p>	<p>URE TDA IND</p>
<p>VP GEL GLU</p>	<p>MAN INO SOR</p>	<p>RHA SAC MEL</p>
<p>AMY ARA OX NO2 N2</p>	<p>PERFIL NUMERICO DE 7 CIFRAS: 7144552</p> <p>IDENTIFICACIÓN:</p>	



<p>Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada</p>	<p>Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez</p>	<p>Aprobó: Comité Académico de la Carrera</p>
<p>ECHA:</p>	<p>FECHA:</p>	<p>FECHA:</p>



API 20C AUX

Metodología

Material

Kit API 20C AUX
Micropipeta de 100µL
Solucion fisiológica de NaCl al 0.85%
Guantes
Cubrebocas

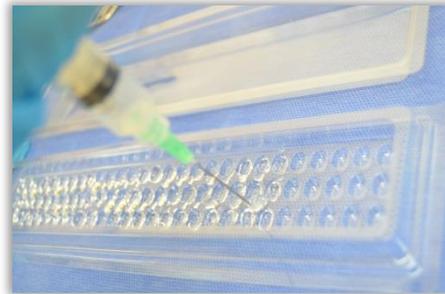
Reactivos

Patrón 2 de MacFarland
Ampolla API C Medium



Preparación de la galería

- 1) Reunir fondo y tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 mL de agua destilada o desmineralizada [o cualquier agua sin aditivos ni derivados susceptibles de liberar gases (Ej.: Cl₂, CO₂, etc.)] en los alvéolos para crear una atmósfera húmeda.



- 2) Inscribir la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara. (**No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar desplazada durante la manipulación**).



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



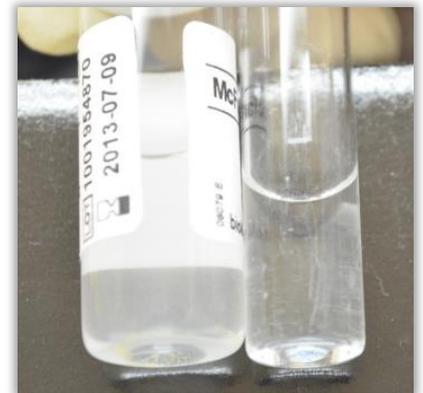
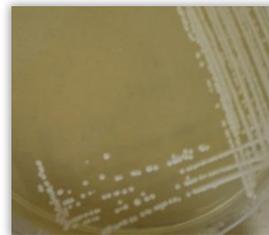
3) Retirar la galería de su envase individual y depositarla en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo.

4) Abrir una ampolla de API NaCl 0,85% Médium o una solución estéril que contenga la misma solución sin aditivos.



5) A partir de un cultivo joven de la levadura a identificar, realizar una suspensión de levaduras de turbidez igual a la del patrón 2 de McFarland. Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación.



6) Abrir una ampolla de API C Medium:

- a) Introducir la ampolla en el protector de ampolla.
- b) Sujetar verticalmente el conjunto en una mano (tapón blanco hacia arriba).
- c) Presionar a fondo el tapón blanco.
- d) Ejercer una presión horizontal con el pulgar en la parte estriada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.
- e) Sacar la ampolla del protector de ampolla y conservarla para un próximo uso.
- f) Retirar delicadamente el tapón

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /



Ampolla y protector



a)



b) y c)



d)

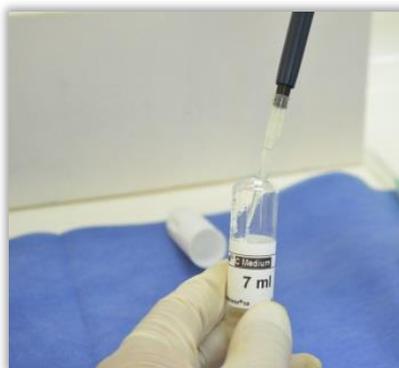


d)



e) y f)

7) Con la ayuda de la micropipeta, transferir 100 microlitros de la suspensión de levaduras a una ampolla de C Medium y homogeneizar con la micropipeta evitando la formación de burbujas.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



Inoculación de la galería

8) Llenar las cúpulas con la suspensión obtenida en el API C Médium. Evitar la formación de burbujas apoyando la punta de la micropipeta sobre el borde de la cúpula. Cuidar que se cree un nivel horizontal o ligeramente convexo pero jamás cóncavo. Las cúpulas parcial o excesivamente llenas son causa de resultados incorrectos.



9) Volver a cerrar la cámara de incubación e incubar 48-72 horas (± 6 horas) a $29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.



Lectura de la galería

Después de 48 horas de incubación, o de 72 horas (si los ensayos, no resultan muy claros después de 48 horas), observar el crecimiento de las levaduras comparativamente con la cúpula 0, testigo negativo. Una cúpula **con mayor turbidez** que la de control nos indica una reacción **positiva**, se leerá por tripletes y se anotará en la hoja de resultados.

Con el fin de evitar toda contaminación durante una reincubación, levantar la tapa exclusivamente durante el período de lectura.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:

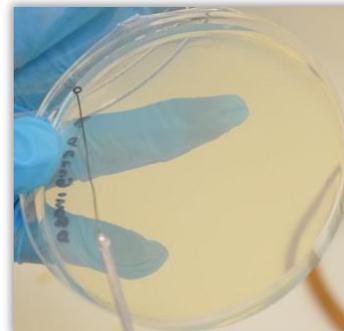


Susceptibilidad a antibióticos

Equipo y reactivos

Material	Medios de cultivo
Bata	Agar Mueller Hinton
Asa bacteriológica	
Multidiscos Gram positivos y Gram negativos	
Guantes	
Cubre bocas	
Mechero	

- 1) En una placa de MH inocular en todo el medio el microorganismo identificado, a partir de una colonia perfectamente aislada.



- 2) Colocar los multidiscos sobre el agar sembrado con la cepa aislada e incubar la placa invertida de 35 a 37° por 23 horas.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



- 3) Realizar la lectura del antibiograma, utilizando la hoja para susceptibilidad a antibióticos suministrada por el proveedor. ¹¹ (Anexo V)



- 4) Anotar los resultados en el formato de resultados (Anexo V). Se colocará el nombre del microorganismo patógeno identificado, así como la susceptibilidad a antibióticos en el formato de resultados: informe del laboratorio (Anexo VI).

V.3 FASE POSTANALITICA

Los resultados e interpretación se anotarán en el formato de Laboratorio de Microbiología Médica (Anexo VI). Se colocará el nombre del microorganismo(s) patógeno(s) identificado(s), así como la susceptibilidad a antibióticos en dicho formato.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



VI. Bibliografía

1. Forbes B. Diagnostico Microbiológico Bailey y Scott. 12° Edición. Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2009.
2. Spicer. J. Clínica y Enfermedades Infecciosas. 2° Edición. España: ELSEVIER; 2009
3. OMS. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3° Edición. Ginebra: 2005.
4. Lloret A. Manual de toma de muestras. Garantía de calidad en los laboratorios de microbiología clínica. Barcelona: 2004.
5. Manual de Microbiología Médica. Aparato Genitourinario. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.2008.
6. Biomeriux. Medios cromogénicos chromID. 2012. Disponible en: http://www.biomerieux.com.mx/servlet/srt/bio/mexico/dynPage?doc=MEX_CLN_PRD_G_PRD_CLN_35. Acceso 6 de noviembre de 2012.
7. Koneman E., Allen S., Janda W., Schreckenberger P., Winn W. Diagnóstico microbiológico texto y atlas color. 5ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2002.
8. API20 E. Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes. 2009; [56 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/4.pdf>
9. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid; Médica Panamericana; 2005
10. API Staph. Sistema de identificación de estafilococos, micrococos y géneros relacionados. 2009. [44 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/6.pdf>
11. Multidiscos^{MR} II. Biorad 2010; [2 páginas]. Disponible en: <http://sdpmexico.com.mx/files/MULTIDISCOS.pdf>
12. Técnica de lavado de manos. Disponible en: http://calidad.salud.gob.mx/calidad/seguridad_paciente.html

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO I. Elección del espéculo y su manejo.

Tamaño del espéculo.

De acuerdo a la complejión de la mujer y la cavidad se elige el tamaño del espéculo:

Chico: Se utiliza en mujeres delgadas, jóvenes que no han tenido hijos por parto vaginal o mujeres postmenopáusicas.

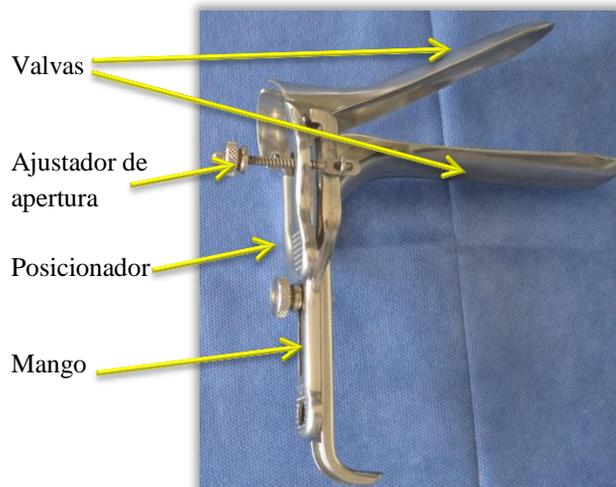
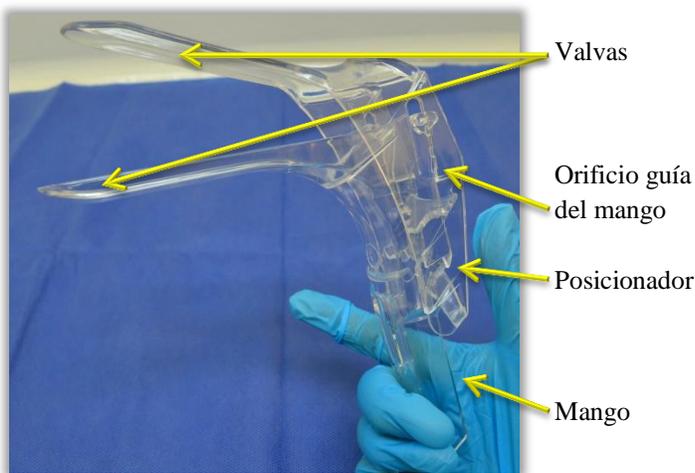
Mediano: se utiliza en mujeres de complejión mediana, un parto vaginal o por cesárea.

Grande: Se usa en mujeres de complejión muy grande o multípara vaginal.

NOTA: verificar que el espéculo de plástico venga en su empaque bien cerrado para asegurar la esterilidad del producto, tenga fecha de caducidad y número de lote. Para el espéculo de metal, pedir a la persona que tomará la muestra, que muestre el empaque cerrado para asegurar la esterilidad del producto.



Partes del espéculo



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:

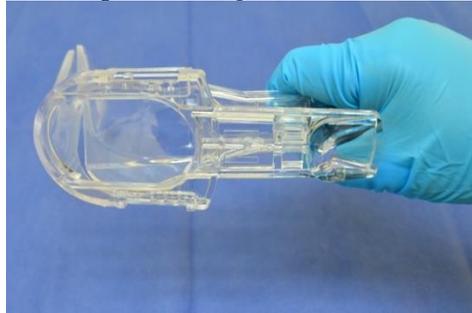


Manejo del espéculo de plástico.

- 1) Sujete el espejo vaginal por el mando y observe que las valvas se encuentren juntas.



- 2) Para introducir el espejo vaginal, coloque el mango de manera horizontal.



- 3) Proceda a introducir el espejo hasta percibir una ligera resistencia. No abrir el espejo durante su introducción.
- 4) Una vez introducido, gire el mango con cuidado hasta que el mango quede en posición vertical y hacia abajo.



Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

- 5) Coloque el dedo pulgar en el posicionador para separar las valvas y visualizar el cuello uterino.



- 6) Empuje el posicionador con el dedo pulgar hasta que la primera o segunda ceja se introduzca sobre el orificio guía del mango.



- 7) Deslice el posicionador sobre el orificio, empujando hacia arriba, delicadamente, hasta obtener la apertura deseada.



Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

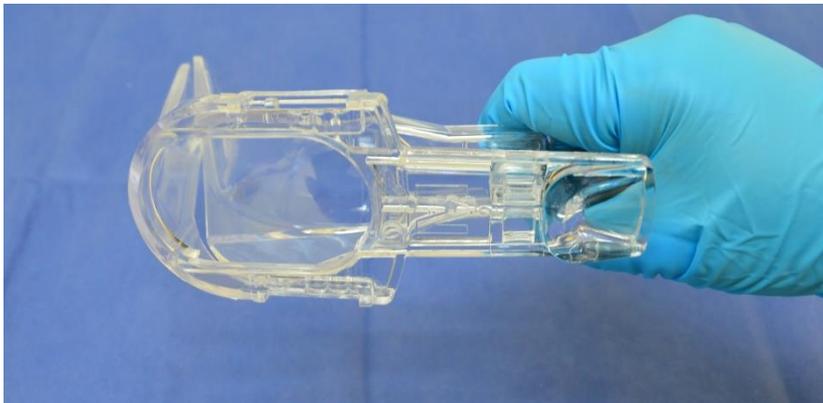
Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

- 8) Efectúe el examen y/o toma de muestra
- 9) Una vez finalizado el procedimiento, coloque el dedo pulgar por arriba del posicionador, deslizando en forma descendente, hasta que el espejo se cierre completamente, es decir, que las valvas vuelvan a estar juntas.



- 10) Para retirar el espejo, gire el mango a la posición horizontal y deslícelo hacia afuera.



- 11) Deseche el espejo vaginal, ya que solo se puede utilizar una vez.

NOTA: el manejo del espéculo de metal se describe en el apartado de Procedimiento de toma de muestra.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO Facultad de Estudios Superiores Zaragoza	Página 44 de 54
	Química Farmacéutico Biológica	
	Módulo: Microbiología Médica	
UNIDAD 5: Aparato genitourinario	Práctica: Exudado vaginal	Fecha: / /

ANEXO II. Determinación de *Candida albicans*

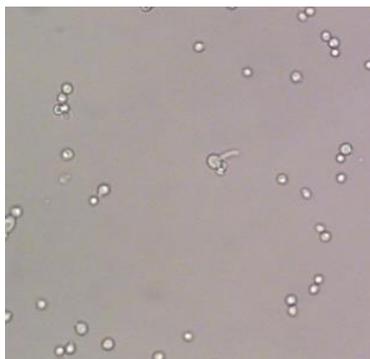
1. Producción de Clamidioesporas.

- a) Divida por la mitad la caja de agar harina de maíz y en cada mitad siembre cada cepa en forma de “Z”.
- b) Incube a 37° C por 24 a 48 horas.
- c) Tome una pequeña muestra de cada mitad en un portaobjetos y agregue una gota de solución salina.
- d) Observe al microscopio y reporte el tipo de desarrollo.



2. Producción de Tubo Germinal.

- a) En dos tubos de ensaye coloque aproximadamente 1 mL de suero de conejo, carnero o humano.
- b) Inocule una asada de cada cepa de hongo.
- c) Incube a 35° C durante 3 horas.
- d) Al término de la incubación, tome una gota de la solución de cada tubo, en su respectivo portaobjetos y se coloca un cubreobjetos.
- e) Observe al microscopio en busca del desarrollo del tubo germinal y reporte el resultado.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



ANEXO III. Método tradicional

Tabla de resultados.

TINCIÓN DE GRAM

CLAVE CEPAS	FORMA INDIVIDUAL	AGRUPACIÓN	TIPO DE GRAM
1			
2			
3			
4			
5			
6			

MORFOLOGÍA COLONIAL

CLAVE CEPAS	1	2	3	4
MEDIO DE CULTIVO				
TAMAÑO				
FORMA				
BORDE				
COLOR				
SUPERFICIE				
ELEVACIÓN				
LUZ REFLEJADA				
LUZ TRANSMITIDA				
CONSISTENCIA				
OTRAS ¹				

¹ Características que dependen del medio de cultivo: hemólisis, acidificación del medio, reducción de sales, entre otras.

PRUEBAS ESPECIALES (positivo o negativo)

CLAVE CEPAS			
PRODUCCIÓN DE CLAMIDIOSPORAS			
PRODUCCIÓN DE TUBO GERMINAL			

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



PRUEBAS BIOQUÍMICAS

CARACTERÍSTICA	Clave de la cepa						CARACTERÍSTICA	Clave de la cepa					
	1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6
ÁCIDO DE: ADONITOL							MOVILIDAD						
ARABINOSA							PRODUCCIÓN DE: H ₂ S						
GLUCOSA							INDOL						
INOSITOL							UREASA						
INULINA							FENILALANINA DESAMINASA						
LACTOSA							DESAMINACIÓN DE: LISINA						
MALTOSA							DESCARBOXILACIÓN DE: LISINA						
MANITOL							ORNITINA						
SACAROSA							CITRATO COMO FUENTE DE C						
SALICINA							REDUC. DE NO ₃ A NO ₂						
SORBITOL							DE NO ₂ A N ₂						
TREHALOSA							LECHE TORNASOL ³						
O/F GLUCOSA ²							O/F MANITOL ²						
RM / VP							O/F MALTOSA ²						
TSI (SUP/FONDO)							RED. DEL AZUL DE METILENO.						

² O = Oxidativo F = Fermentativo N = No utiliza el carbohidrato

³ A = Ácido C = Coágulo F = Fermentativo G = Gas P = Peptonización
K = Alcalino R = Reducción

PRUEBAS ESPECIALES

PRUEBA	Clave de la cepa						PRUEBA	Clave de la cepa					
	1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6
PROD. DE: CATALASA							CAMP						
COAGULASA							SOLUBILIDAD EN BILIS						
OXIDASA							CRECIMIENTO: 4 °C						
SENS. A: BACITRACINA							42 °C						
KANAMICINA							pH = 6						
OPTOQUINA							pH = 9						
PROD. DE: PIOCIANINA							NaCl 7.5 %						
FLUORESCÉINA							TELURITO 0.2 %						
REDUCCIÓN DE TELURITO													

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO IV. Método moderno:

Tabla de resultados. Medio cromogénico

MORFOLOGÍA COLONIAL

CLAVE CEPA				
MEDIO CROMOGÉNICO				
TAMAÑO				
FORMA				
BORDE				
COLOR				
SUPERFICIE				
LUZ REFLEJADA				
LUZ TRANSMITIDA				
CRECIMIENTO				
OTRAS ¹				

¹ Características que dependen del medio de cultivo: halos.

IDENTIFICACION DE MUESTRA

CLAVE CEPA				
MEDIO CROMOGÉNICO				
M.O(S) IDENTIFICADO(S)				

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 E

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANTIDAD (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
ONPG	2-nitro-fenil-βDgalactopiranosida	0.223	β-galactosidasa (orto-nitrofenil-βDgalactoprianosidasa)	Incoloro	Amarillo (1)
ADH	L-arginina	1.9	Arginina-dihidrolasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
LDC	L-lisina	1.9	Lisina Decarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
ODC	L-ornitina	1.9	OrnitinaDecarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
CIT	Citrato trisódico	0.756	Utilización del Citrato	Verde pálido/amarillo	Azul-verde/azul (3)
H2S	Tiosulfato sódico	0.075	Producción de H ₂ S	Incoloro/grisáceo	Depósito negro/fin liserado
URE	Urea	0.76	Ureasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
TDA	L-triptófano	0.38	Triptófano Desaminasa	<u>TDA/ inmediato</u>	
				Amarillo	Marrón-rojizo
IND	L-triptófano	1,9	Producción de Índol	<u>James/ inmediato</u>	
				Incoloro Verde pálido/amarillo	Rosa
VP	Piruvato sódico	1,9	Producción de acetoina (VogesProskauer)	<u>VP1 + VP2/10 min</u>	
				Incoloro/rosa pálido	Rosa/rojo (5)
GEL	Gelatina (origen bovino)	0.6	Gelatinasa (Gelatina)	No difusion	Difusion pigmento negro
GLU	D-glucosa	1,9	Fermentación/oxidación (Glucosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo/amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	1,9	Fermentación/oxidación (Manitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
INO	Inositol	1,9	Fermentación/oxidación (Inositol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentación/oxidación (Sorbitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1,9	Fermentación/oxidación (Rhamnosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1,9	Fermentación/oxidación (sacarosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1,9	Fermentación/oxidación (Melibiosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación/oxidación (Amygdalina) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,9	Fermentación/oxidación (Arabinosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

- (1) Un color amarillo muy ligero también implica resultado positivo.
- (2) La aparición de un color naranja tras 36-48 H de incubación debe considerarse negativa.
- (3) Lectura en la cúpula (zona aerobia).
- (4) La fermentación comienza en la parte inferior de los tubos, mientras que la oxidación empieza en la cúpula.
- (5) Una ligera coloración rosa, que aparece tras 10 minutos, debe ser leída como negativa.

TABLA DE COMPOSICIÓN DE LA GALERÍA API 20 AUX

ENSAYOS	SUBSTRATOS
0	Ninguno
GLU	D-GLUcosa
GLY	GLYcerol
2KG	2-ceto-Gluconato-cálcico
ARA	L-ARAbinosa
XYL	D-XYLosa
ADO	ADOnitol
XLT	XyLiTol
GAL	D-GALactosa
INO	INOsitol
SOR	D-SORbitol
MDG	Metil- α D-Glucopiranosida
NAG	N-Acetil-Glucosamina
CEL	D-CELLobiosa
LAC	D-LACtosa
MAL	D-MALtosa
SAC	D-SACarosa
TRE	D-TREhalosa
MLZ	D-MeLeZitosa
RAF	D-RAFinosa

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

ANEXO V. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN MM

ANTIBIÓTICO	CONCENTRACION	R ($< 0 =$)	I	MS	S ($> 0 =$)
AMIKACINA	30 µg	14	15 - 16		17
AMPICILINA	10 µg				
<i>ENTEROBACTERIACEAE</i>		11	12 - 13		14
<i>STAPHYLOCOCCUS SPP</i>		28			29
ENTEROCOCOS		16		($> 0 =$)	
OTROS ESTREPTOCOCOS		21		22 - 29	30
CARBENICILINA	100 µg				
<i>ENTEROBACTERIACEAE</i>		17	18 - 22		23
<i>PSEUDOMONAS SPP</i>		13	14 - 16		17
CEFALOTINA	30 µg	14	15 - 17		18
CEFOTAXIMA	30 µg	14		15 - 23	23
CEFTAZIDIMA	30 µg	14	15 - 17		18
CEFTRIAXONA	30 µg	13		14 - 20	21
CEFUROXIMA	30 µg	14	15 - 17		18
CLORANFENICOL	30 µg	12	13 - 17		18
DICLOXACILINA	1 µg				
<i>Staphylococcus spp</i>		10	11 - 12		13
PENICILINA VS NEUMOCOCOS		19			20
ENOXACINA	10 µg	14	15 - 17		18
ERITROMICINA	15 µg	13	14 - 17		18
GENTAMICINA	10 µg	12	13 - 14		15
NETILMICINA	30 µg	12	13 - 14		15
NITROFURANTOÍNA	300 µg	14	15 - 16		17
PEFLOXACINA	5 µg	14	15 - 22		23
PENICILINA	10 U				
<i>Staphylococcus spp</i>		28			29
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		19			20
ENTEROCOCOS		14		($> 0 =$)15	
OTROS ESTREPTOCOCOS		19		20 - 27	28
TETRACICLINA	30 µg	14	15 - 18		19
TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	25 µg	10	11 - 15		16

Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



FORMATO DE REPORTE SE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS (ANTIBIOGRAMA)

CLAVE CEPA	_____	R, I, S
AMIKACINA	AK	_____
AMPICILINA	AM	_____
CARBENICILINA	CB	_____
CEFALOTINA	CF	_____
CEFOTAXIMA	CTX	_____
CEFTAZIDIMA	CAZ	_____
CEFTRIAXONA	CRO	_____
CEFUROXIMA	CXM	_____
CLORANFENICOL	CL	_____
DICLOXACILINA	DC	_____
ENOXACINA	ENX	_____
ERITROMICINA	E	_____
GENTAMICINA	GE	_____
NETILMICINA	NET	_____
NITROFURANTOÍNA	NF	_____
PENICILINA	PE	_____
PEFLOXACINA	PEF	_____
TETRACICLINA	TE	_____
TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	SXT	_____

R: Resistente
I: Intermedio
S: Sensible

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 53 de 54

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: / /

ANEXO VI



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Laboratorio de Microbiología Médica



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE _____

FOLIO _____

EDAD _____ SEXO _____

LOCALIDAD _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE _____

ESTUDIOS REALIZADOS

OBSERVACIONES

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

SELLO DE LABORATORIO

Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

ECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO VII. CUESTIONARIO

1. ¿La redacción de las etapas de control de calidad dentro del manual son?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
2. ¿Qué te parece la estructura de la práctica?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
3. ¿Cómo consideras los apartados que conforman la práctica?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
4. ¿Cómo consideras los aspectos de bioseguridad contemplados en la práctica?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
5. ¿Cómo consideras las imágenes con respecto a la redacción de los procedimientos?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
6. ¿Cómo consideras las tablas de resultados del anexo?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
7. ¿Cómo consideras la redacción del procedimiento del método tradicional?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
8. ¿Cómo consideras la redacción del procedimiento del sistema API?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
9. ¿Cómo consideras la redacción del procedimiento del medio cromogénico?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
10. ¿Qué propondrías para mejorar el diseño de la práctica?

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
ECHA:	FECHA:	FECHA:

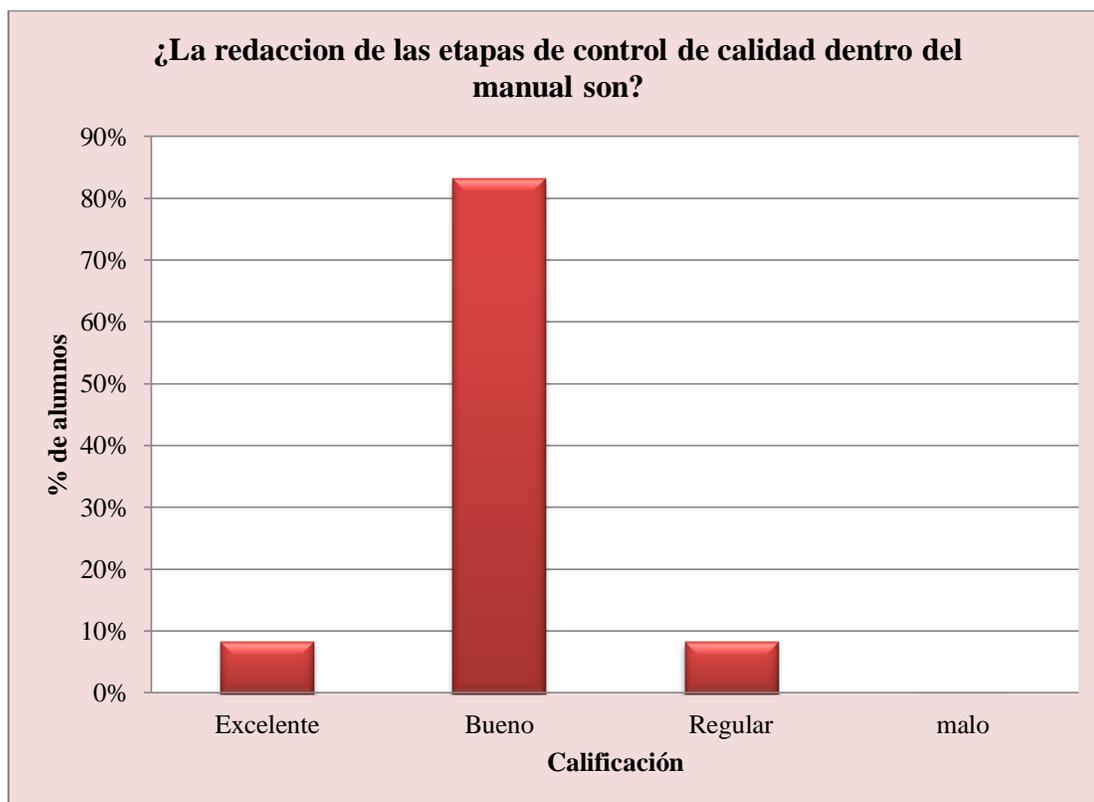
Resultados de la Validación de la Práctica Diagnostico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Femenino Mediante Exudado Vaginal

Cuadro 1. Resultado del cuestionario aplicado a los alumnos de Microbiología Médica

Preguntas	Calificación								% Total
	Excelente		Bueno		Regular		Malo		
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%	frecuencia	%	
Pregunta 1	1	8.3	10	83.3	1	8.3	0	0	100
Pregunta 2	1	8.3	10	83.3	1	8.3	0	0	100
Pregunta 3	2	16.7	7	58.3	3	25.0	0	0	100
Pregunta 4	2	16.7	7	58.3	3	25.0	0	0	100
Pregunta 5	3	25.0	6	50.0	3	25.0	0	0	100
Pregunta 6	2	16.7	7	58.3	3	25.0	0	0	100
Pregunta 7	1	8.3	7	58.3	4	33.3	0	0	100
Pregunta 8	1	8.3	7	58.3	4	33.3	0	0	100
Pregunta 9	0	0	10	83.3	2	16.7	0	0	100

Total de alumnos que realizaron la práctica: 12

Los resultados obtenidos del cuestionario que se aplicó se presentan en las siguientes gráficas para cada una de las preguntas que conforman el cuestionario.



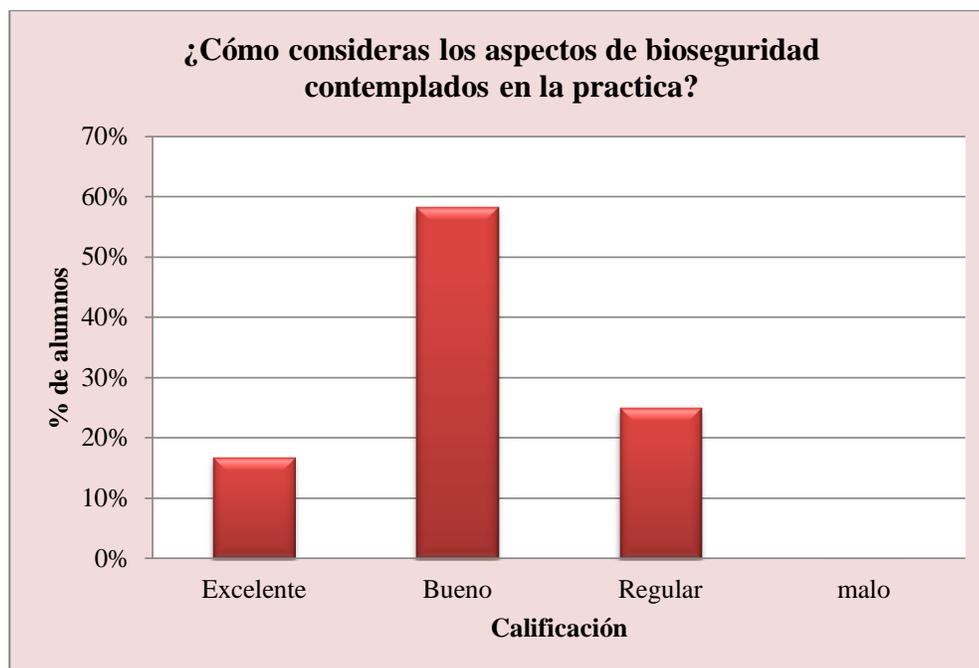
Gráfica 1. Se observa que las etapas de control de calidad son consideradas buenas con un 83%, excelente con un 8.3% y ninguno las considera malas.



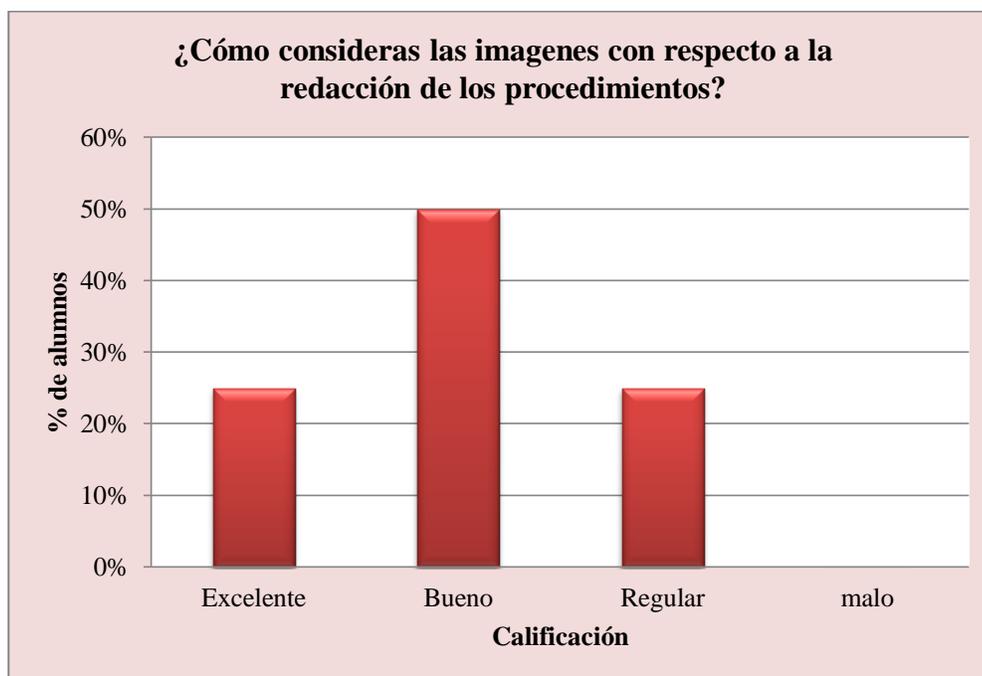
Gráfica 2. Se muestra en la gráfica que la estructura de la práctica es considerada buena con un 83%, excelente con un 8.3% y ninguno la considera mala.



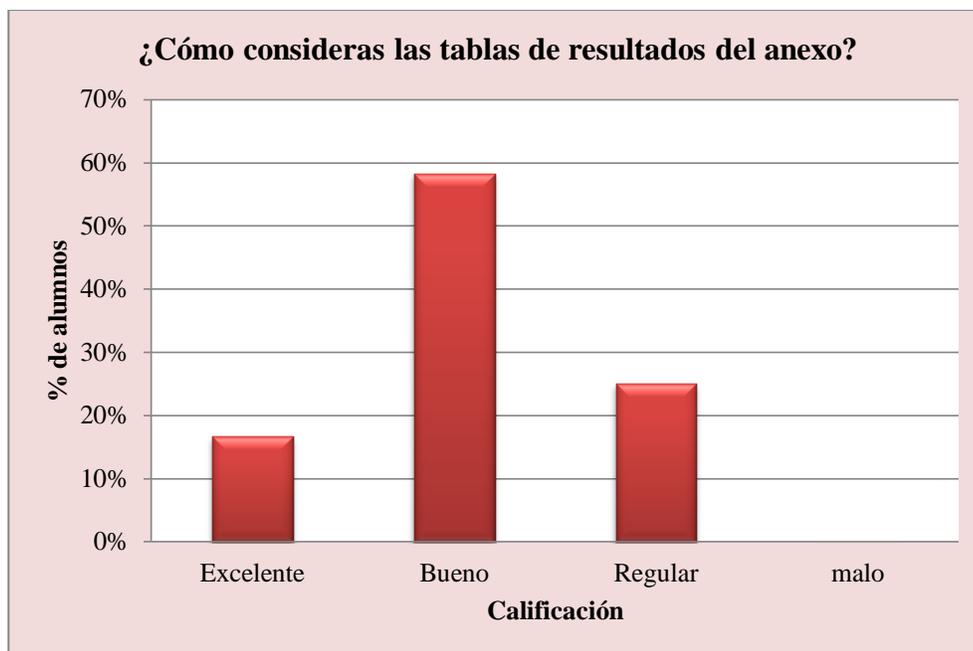
Gráfica 3. Los apartados q conforman esta práctica son considerados buenos con un 58%, excelente con un 17% y ninguno lo considera malos.



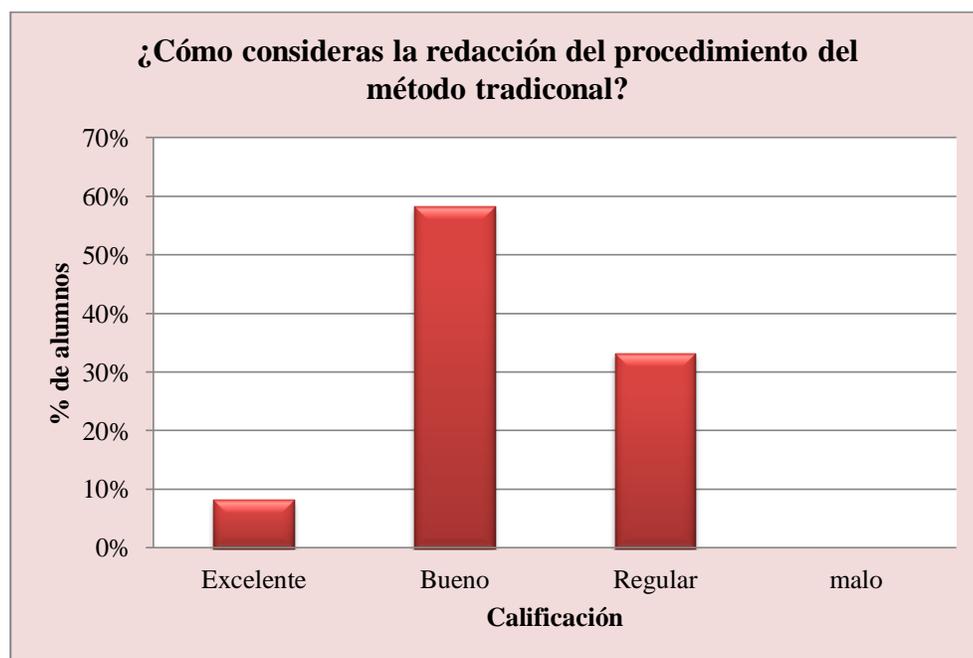
Gráfica 4. Se considera que los aspectos de bioseguridad contemplados en la práctica son buenos con un 58.3%, excelente con un 16.7% y ninguno lo califica como malo.



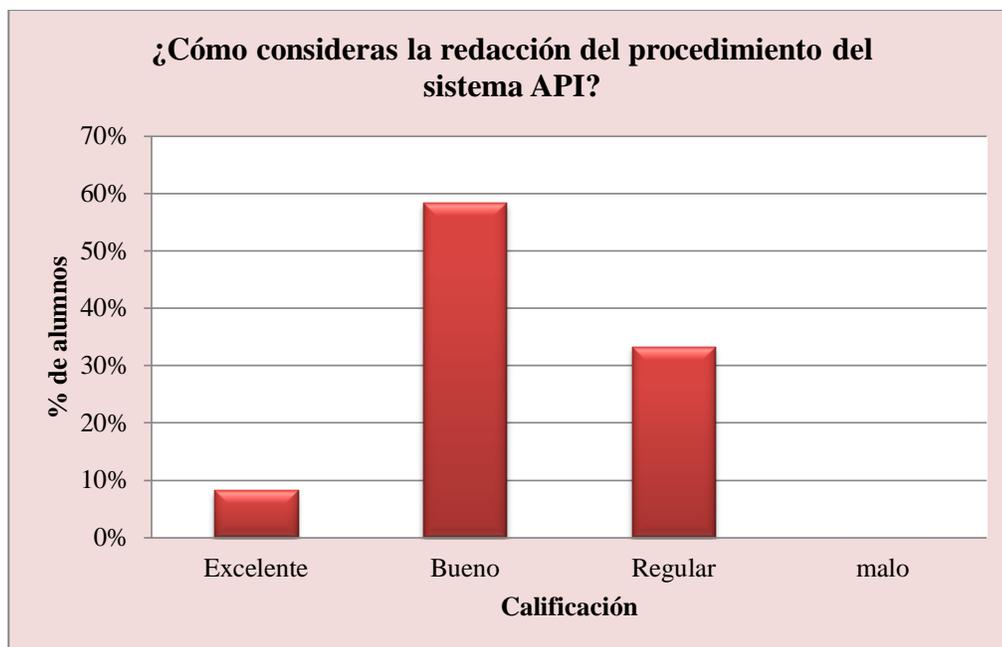
Gráfica 5. Nos muestra que las imágenes con respecto a los procedimientos en la práctica son consideradas como buenas con un 50%, excelente con un 25% y ninguno la considera mala.



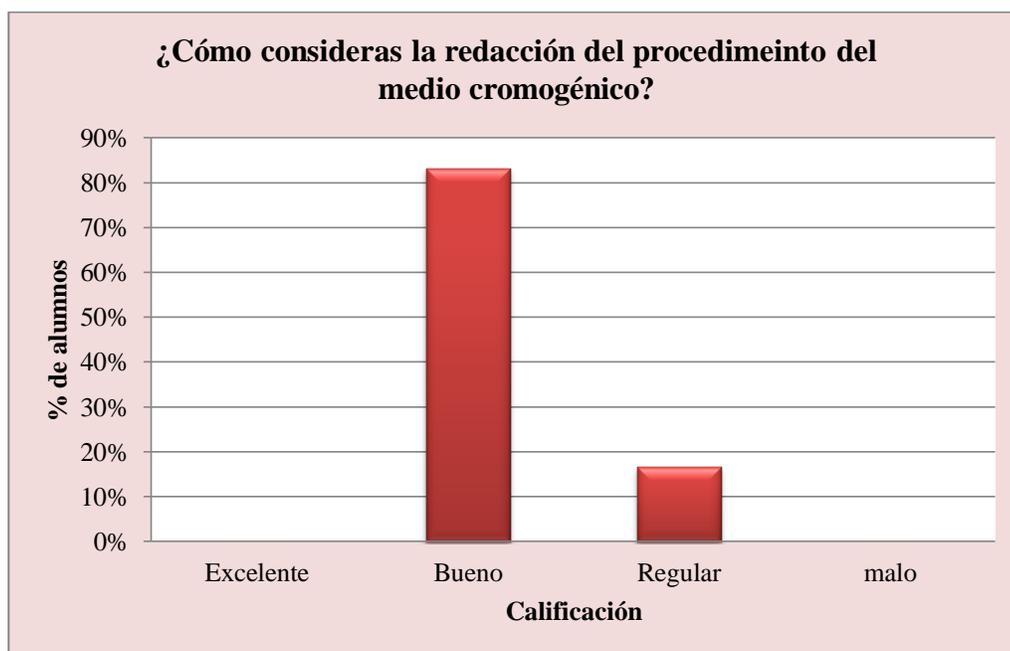
Gráfica 6. Los resultados muestran que las tablas de resultados en los anexos en la práctica son consideradas como buenas con un 58.3%, excelente con un 16.7% y ninguno las considera malas.



Gráfica 7. Podemos apreciar que el procedimiento del método tradicional en la práctica es considerado como bueno con un 58.3%, excelente con un 8.3% y ninguno como malo.



Gráfica 8. En esta gráfica el procedimiento del sistema API en la práctica es considerado como bueno con un 58.3%, excelente con un 8.3% y ninguno lo considera malo.



Gráfica 9. Se calificó el procedimiento del medio cromogénico en la práctica como bueno con un 83.3%, regular con un 16.7% y ninguno lo considera malo.

Cuadro 2. Utilidad Global de la Práctica				
	Excelente	Bueno	Regular	Malo
Número de alumnos	1	10	1	0
	1	10	1	0
	2	7	3	0
	2	7	3	0
	3	6	3	0
	2	7	3	0
	1	7	4	0
	1	7	4	0
	0	10	2	0
Frecuencia Total	13	71	24	0
% Total	12%	66%	22%	0%
Total de alumnos	12			

A partir de las frecuencias obtenidas para las 9 preguntas del cuestionario se calculó un porcentaje para cada una de las calificaciones y con ello se observa la utilidad global del diseño de la práctica.



Gráfica 10. Se demuestra que el 66% de los alumnos consideran Buena la práctica, mientras que el 12% la considera excelente y cabe señalar que ninguno la considera mala.

Dentro del cuestionario de acuerdo a la pregunta 10, el alumno proporcionó su punto de vista y/o comentarios para el mejoramiento de la práctica. De acuerdo a ésta pregunta, estos fueron los comentarios que hicieron:

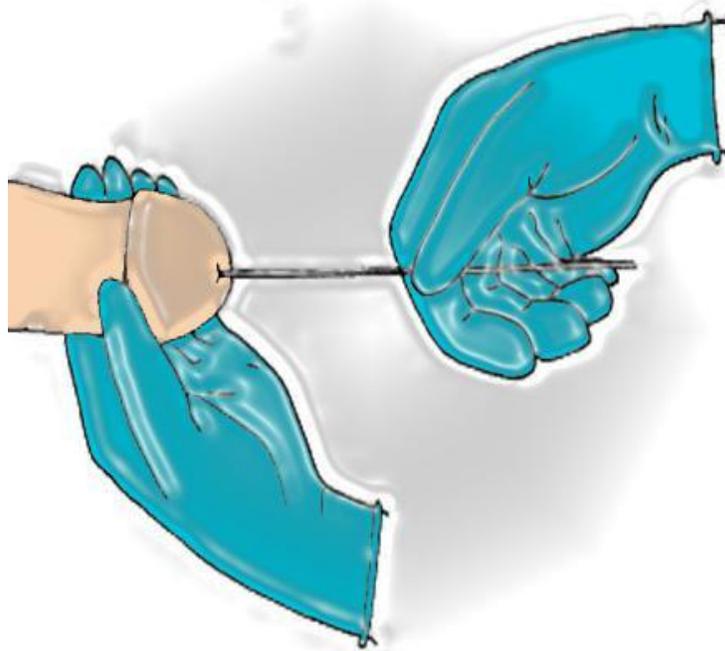
Cuadro 3

Pregunta 10. ¿Qué propondrías para mejorar el diseño de la práctica?
A) “Meter más información sobre cuestiones legales”
B) “Diagrama con imágenes paso a paso”
C) “Tomar en cuenta si existe alguna norma para exudado vaginal”
D) “Solo verificar un poco la redacción y los espacios, quizás mencionar algunas lesiones características y la importancia de la toma de las mismas.”
E) “Diferentes tipos de espéculos para aprender a manipularlos y comentar o explicar con el mismo modelo las diferentes tomas de muestra para pacientes embarazadas y niñas.”
F) “Uso del especulo”



LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES BACTERIANAS DEL TRACTO GENITAL MEDIANTE EL EXUDADO URETRAL MASCULINO



ELABORADO POR:

Q.F.B. ANTONIO AVILÉS VILLADA

M en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Proyecto apoyado por PAPIME 209012

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



TABLA DE CONTENIDO

I. Introducción.....3

II. Objetivos.....4

III. Medidas de bioseguridad.....5

IV. Propósito del examen.....6

V. Metodología.....6

 V.1 Fase Preanalítica.....6

 V.2. Fase Analítica.....12

 V.3 Fase Postanalítica.....38

VI. Referencias.....39

ANEXO I. Determinación de *Candida albicans*.....40

ANEXO II Tabla de resultados del método tradicional.....41

ANEXO III. Tabla de resultados del método moderno.....43

ANEXO IV. Sensibilidad a los antibióticos.....48

ANEXO V. Formato de informe de laboratorio.....50

ANEXO VI. Cuestionario.....51

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



I. Introducción

Las infecciones en la uretra se deben principalmente a microorganismos de transmisión sexual como gonorrea, sin embargo es posible encontrar infecciones por enterococos y estreptococos del grupo B. ⁽⁴⁾

La gonorrea o la infección por clamidias en el varón por lo general se evidencian por la presencia de secreción uretral, mientras que las mujeres con cualquiera de estas dos infecciones o con ambas pueden tener síntomas mínimos o carecer de ellos. ⁽¹⁾

Los dos principales tipos de uretritis infecciosa son **gonorrea** y la llamada uretritis inespecífica (UI) o la **uretritis no gonocócica (UNG)**.

La gonorrea se debe a infección con *Neisseria gonorrhoeae*. Este microorganismo patógeno sólo infecta al ser humano y se propaga de una persona a otra, por lo general mediante el contacto sexual. No subsiste bien fuera del huésped humano.

La **UNG** obedece a dos causas principales: *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma genitalium*.

Además de estas enfermedades de transmisión sexual, la uretritis bacteriana (*Escherichia coli*, especies de *Klebsiella*, *S.aureus*) se da en caso de sondas, estenosis e infecciones urinarias, entre las que se incluye prostatitis. ⁽²⁾

La secreción por la uretra varía desde escasa, clara o mucopurulenta, sobre todo en la UNG, hasta pus abundante de color amarillo o amarillo verdoso, sobre todo en la gonorrea.

Disuria significa dolor al orinar y es resultado directo de la infección y una inflamación de la uretra. Varía desde leve, sobretodo en la UNG, hasta extremadamente grave sobre todo en las infecciones gonocócicas.

Cuando hay secreción uretral profusa, sobre todo en los varones, puede recolectarse en forma externa sin introducir dispositivo alguno para la toma de la muestra dentro de la uretra. Sin embargo, para la investigación de clamidias en los varones la muestra debe recolectarse con un hisopo uretral. Para detectar gonococos en los varones también se han utilizado con buenos resultados unas gotas de la primera parte de la orina emitida.

Las muestras genitales se obtienen de zonas altamente colonizadas por flora comensal por lo que la selección de las muestras y los métodos de obtención son críticos. La supuración espontánea no es una muestra válida por el alto número de comensales y las dificultades de la interpretación de los cultivos. Los agentes productores de infecciones genitales en el hombre tienen un área específica (2-3 cm en el interior de la uretra) donde la rentabilidad es mayor. ⁽¹⁾

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

Esta práctica tiene como apoyo el simulador uretral masculino el cual ayudará a identificar la zona y realizar una correcta toma de muestra, para posteriormente, aplicar la metodología tradicional y moderna de diagnóstico clínico tomando en cuenta las medidas de bioseguridad del laboratorio para poder obtener un resultado confiable.

Para la metodología tradicional se utilizaran medios de cultivo tradicionales y pruebas bioquímicas. Para la metodología moderna se utilizaran medios cromogénicos y sistema API. Ambas prácticas tendrán como control de calidad cepas ATCC.

El diseño de esta práctica está encaminada a que el alumno observe de manera gráfica y sencilla los pasos para realizar una correcta toma de muestra y, a su vez, sea reproducible en cualquier laboratorio clínico. Por tal motivo y con fines de control de calidad, las prácticas se dividirán en tres etapas: preanalítica, analítica y postanalítica:

Etapla preanalítica: se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma.

Etapla analítica se describen los métodos de laboratorio empleados en esta área, los cuales son explicados de manera clara, precisa y sencilla para ser llevados a cabo por el personal del área que lo consulte y lograr la correcta ejecución de las pruebas ya que en esta etapa se exigen técnicas estandarizadas, equipos adecuados bien calibrados y reactivos.

Etapla postanalítica se refieren los resultados obtenidos y se especifican en el informe del laboratorio, al cual se llega partiendo de que las fases preanalítica y analítica son realizadas con el rigor técnico y científico exigido por un sistema de gestión de la calidad.

II. Objetivos

- Aprender a realizar una correcta toma de muestra uretral utilizando el modelo anatómico masculino.
- Aplicar los procedimientos tradicional y moderno para la identificación de microorganismos encontrados en infecciones que afectan la zona uretral.
- Utilizar los agares cromogénicos como métodos modernos de diagnóstico.
- Utilizar las cepas ATCC como control de calidad para el método tradicional y moderno.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



III. Medidas de bioseguridad⁽³⁾

De acuerdo a la OMS, el nivel de seguridad para un laboratorio de enseñanza básica e investigación es nivel 1, como el laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza, por lo tanto las medidas de seguridad para este nivel son:

- Las puertas del laboratorio se mantendrán cerradas
- No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan implicar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados.
- No se usará calzado abierto
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- Estará estrictamente prohibido pipetear con la boca.
- No se colocará ningún material en la boca ni se pasará la lengua por las etiquetas.
- Todos los derrames, accidentes y exposiciones reales o potenciales a materiales infecciosos se comunicarán al supervisor del laboratorio.
- Los líquidos contaminados deberán descontaminarse (por medios químicos o físicos).
- El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso y al final de cada jornada de trabajo.
- Realizar el lavado de manos de acuerdo a la técnica recomendada por la Secretaría de Salud antes de la toma de muestra. ⁽¹²⁾

Manipulación de desechos:

- Seguir los criterios estipulados por la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental – Salud ambiental – Residuos peligrosos biológico-infecciosos Clasificación y especificaciones de manejo.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



IV. Propósito del examen

El diseño de esta práctica va encaminada a efectuar una toma de muestra apropiada para realizar el diagnóstico microbiológico de patógenos que producen la infección en el tracto genital masculino, específicamente la zona uretral, utilizando dos métodos: moderno (medios cromogénicos y sistema API) y tradicional, empleando cepas ATCC como control de calidad.

V. Metodología

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y el método actual de diagnóstico (sistema API20 y medios cromogénicos). Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y posanalítica.

V.1. Fase preanalítica

Preparación del paciente

Se le informa al paciente que no orine por lo menos tres horas antes de la toma de muestra.

En casos de un exudado mucopurulento abundante (probable gonorrea), tomar el exudado con el hisopo sembrar de inmediato en una placa de agar de Thayer Martin de no ser posible depositarlo en el medio de transporte de Stuart.

Ante la sospecha de infección por *Chlamydia*, introducir el hisopo de 2 a 4 cm en la uretra, frotar las paredes y girar el hisopo durante 5 a 10 segundos. Con esta muestra hacer de inmediato tres frottes en portaobjetos limpios y fijarlos con acetona.

Criterios de rechazo para tomar la muestra

Que se haya aplicado pomadas en la uretra.

Identificación de la muestra

Los recipientes donde se va a tomar la muestra deben estar identificados. Etiquetar la muestra con los siguientes datos:

Nombre completo o iniciales empezando con el apellido, número de registro, fecha y tipo de muestra de que se trata.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



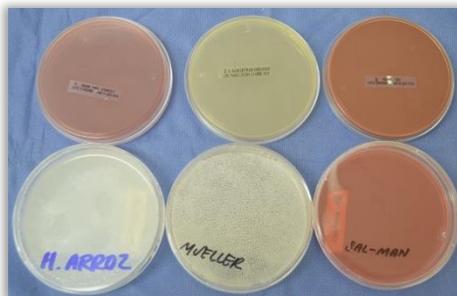
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

Equipo y reactivos (Método tradicional)

Material y equipo	Reactivos	Medios de cultivo	Pruebas bioquímicas	Reveladores para pruebas bioquímicas
Bata Asa bacteriológica Portaobjetos Cubreobjetos Guantes desechables Cubre bocas Mechero Hisopos de alginato o dacrón estériles Gasas estériles. Lámpara Autoclave Microscopio	Colorantes para tinción de Gram: <ul style="list-style-type: none"> • Cristal violeta • Lugol • Alcohol-Cetona • Safranina Aceite de inmersión	Agar chocolate Agar Thayer-Martin Agar McConkey Agar PDA o Sabouraud Agar Müeller Hinton Medio de transporte Stuart	Citrato de Simmon´s Fenilalanina desaminasa LIA MIO SIM TSI Urea de Christensen Caldo nitrato con campana Caldo RM-VP O/F HughLeifson con/sin sello de nujol Rojo de fenol + CHO´s	<ul style="list-style-type: none"> - Cloruro Férrico - Alfa naftilamina - Ácido sulfanílico - Alfa naftol - KOH 30% - Prueba de la catalasa - prueba de la coagulasa - Reactivo de Kovacs



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



Procedimiento para la toma de muestra

- 1 Realizar la identificación positiva del paciente



- 2 Etiquetar el medio de transporte o los medios seleccionados, con la clave del paciente.



- 3 Explicarle el procedimiento



- 4 La persona que va a tomar la muestra se coloca el cubrebocas y después guantes



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

5 El paciente permanecerá de pie durante la toma de muestra



6 Proporcionarle al paciente un par de guantes y pedirle que se los ponga.



7 Solicitarle al paciente que se descubra dejando al descubierto la uretra (la parte donde orina) y retraiga el prepucio (en caso de no estar circuncidado), lo mantenga así durante todo el procedimiento.



8 Presionar la uretra ligeramente con el fin de que expulse secreción la cual se colecta con un hisopo de algodón.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:

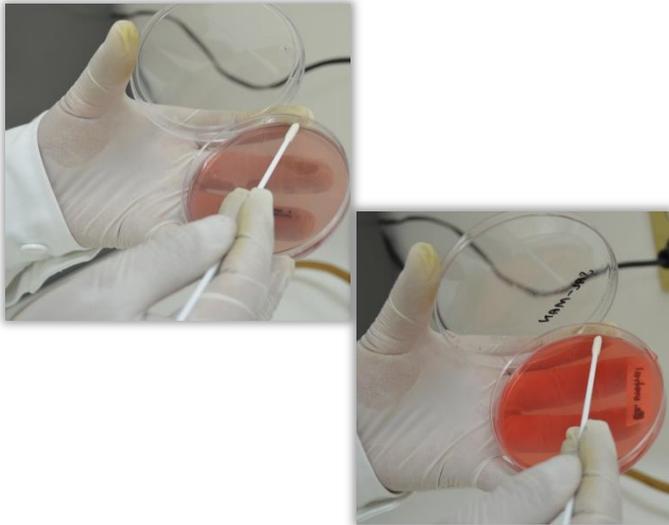


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

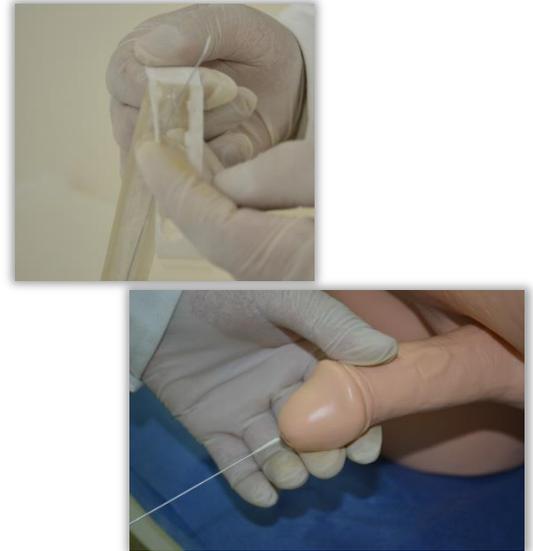
Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

9 Inocular con el hisopo directamente en un extremo de cada uno de los medios de cultivo.



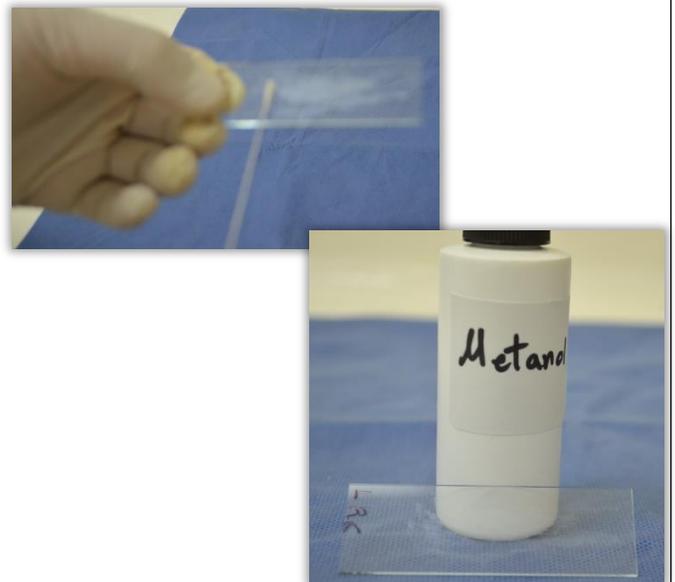
10 Introducir el hisopo de alginato de 2 a 4 cm dentro de la uretra, con movimientos rotatorios para facilitar la inserción.



11 Una vez dentro, rotar suavemente el hisopo haciendo suficiente presión para asegurar que el hisopo este en contacto de la superficie uretral de 3 a 5 segundos.



12 Realizar una impronta de la uretra rotando suavemente sobre el portaobjetos. Después fijarlo con metanol.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

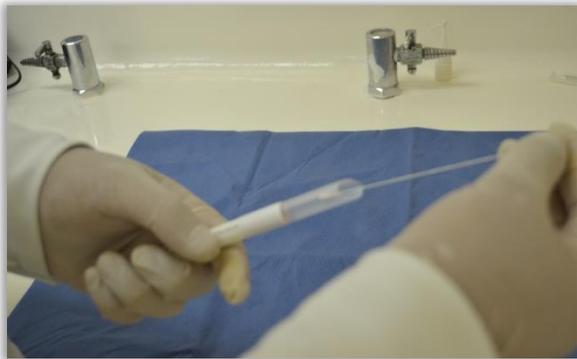
FECHA:

FECHA:



13

Este hisopo se introduce en el medio de transporte específico, se corta el mando con la finalidad de cerrar el vial dejando el hisopo dentro.



14

Avisar al paciente que se puede vestir y hemos terminado



Transporte y conservación

- No refrigerar las muestras, especialmente si se sospecha *Neisseria gonorrhoeae*.
- El transporte debe ser inmediato.
- Cuando no puedan procesarse las muestras antes de 15 minutos, se utilizarán torundas con medio de transporte Stuart-Amies que se mantendrán a temperatura ambiente o preferentemente se estufa a 35-37°C.
- Las muestras se procesarán siempre que se pueda antes de 3 horas, y como máximo en un plazo de 6-12 horas.

Procesamiento de las muestras

Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate y posteriormente agar Thayer-Martin y agar Sabouraud). El cultivo en agar chocolate debe hacerse junto con el medio Thayer-Martin o similar debido a que algunos gonococos pueden inhibirse por la vancomicina que contiene el medio.

Observaciones

La muestra ha de recogerse preferentemente antes de la primera micción de la mañana, si no es posible, se deberá esperar al menos una hora tras la última micción para recogerla.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



V.2. FASE ANALITICA

Tabla 1. Procedimiento de los métodos tradicional y moderno.

Método tradicional		Método actual de diagnóstico	
Origen de la muestra a analizar		Origen de la muestra a analizar	
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
<p>Inocular asilamiento en los medios de cultivo:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Agar chocolate 2. Agar Thayer-Martin 3. Agar EMB o McConkey 4. Agar Sabouraud o PDA <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Se incuban a 37° C durante 24 horas.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Después de la incubación describir la morfología colonial para cada medio de cultivo sembrado.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Realizar la tinción de Gram.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Para las colonias en McConkey realizar las siguientes pruebas bioquímicas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SIM 		<p>Medios cromogénicos</p> <p>Extender la muestra para aislamiento en los siguientes medios cromogénicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Crom Staph ID • Crom CPS ID • Crom Candida ID <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 24 h.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Observar las colonias asiladas, comparar con la literatura y reportar.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Realizar el llenado de las galerías de API 20 con una cepa problema en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • API20 Staph • API 20 E • API 20 C AUX 	

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

- MIO
- TSI
- LIA
- Urea
- Citrato de Simmons

Incubar a 37° C por 18-24h. Posteriormente leer.



En las colonias formadas en agar papa dextrosa realizar la prueba de tubo germinal.



Efectuar Antibiograma de bacterias patógenas encontradas y reportar.

A. Descripción del Método tradicional

1) Realizar la siembra por aislamiento en los siguientes medios de cultivo:

- Agar chocolate
- Agar Thayer-Martin
- Agar EMB o McConkey
- Agar Sabouraud o PDA

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



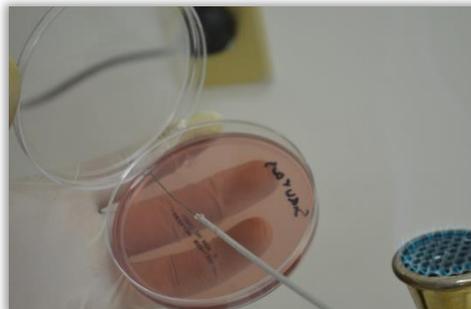
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

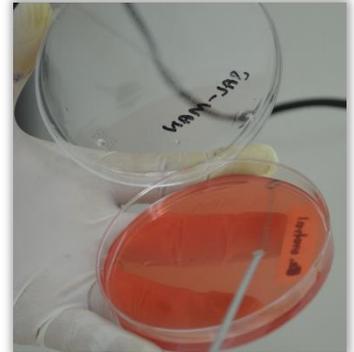
Fecha: / /



Agar chocolate



Agar McConkey



Agar Sal y manitol

2) Incubar las cajas de 35 a 37° C durante 24 horas.



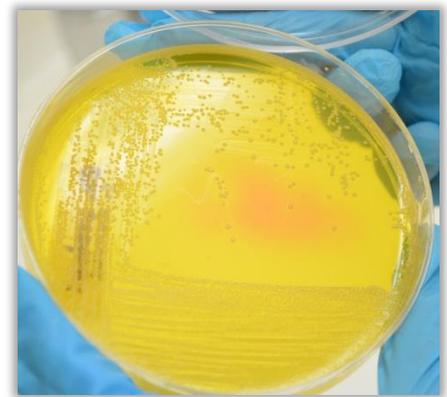
3) Observar las características morfológicas de cada uno de los medios inoculados.



Agar chocolate / *Escherichia coli*



Agar McConkey / *Klebsiella pneumoniae*



Agar Sal y manitol / *Staphylococcus aureus*

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:

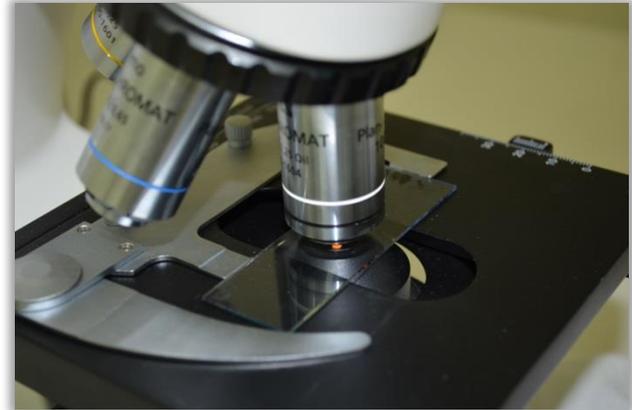


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

- 4) Realizar la tinción de Gram de los medios inoculados a partir de una cepa aislada. Observar al microscopio en objetivo seco fuerte (40x) e inmersión (100x).



- 5) Para las colonias aisladas de agar McConkey realizar las pruebas bioquímicas y pruebas especiales.



- 6) En las colonias aisladas en el Agar Sabouraud o PDA realizar la prueba de tubo germinal y clamidosporas (**ANEXO I**) y anotar los resultados (**ANEXO V**)
- 7) Incubar a 37°C de 18 a 24 h. Posteriormente reportar los resultados en los formatos para el método tradicional. (**ANEXO II**)
- 8) Realizar el antibiograma para bacterias grampositivas y gramnegativas. Reportar en el formato de susceptibilidad a los antibióticos (**ANEXO IV**)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



B. Descripción del método actual de diagnóstico

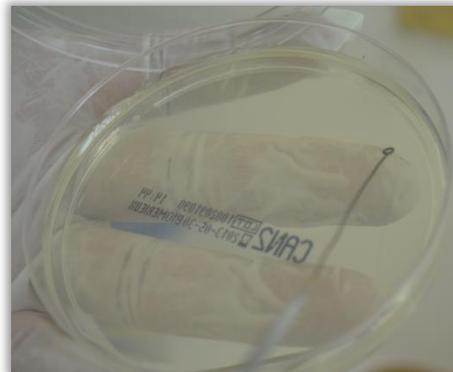
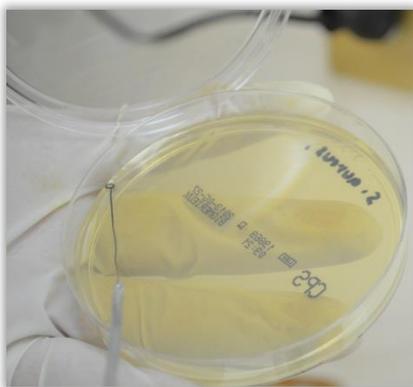
Medios cromogénicos

Metodología

Material	Medios de cultivo
Asa bacteriológica	Crom Staph ID
Guantes	Crom CPS ID
Cubre bocas	Crom Candida ID



- 1) Extender la muestra para aislamiento en la superficie del medio cromogénico. Si la muestra se cultiva de una torunda, hacerla girar sobre una superficie pequeña de la superficie cercana al borde, para luego extenderla a partir de dicha zona con un asa.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:

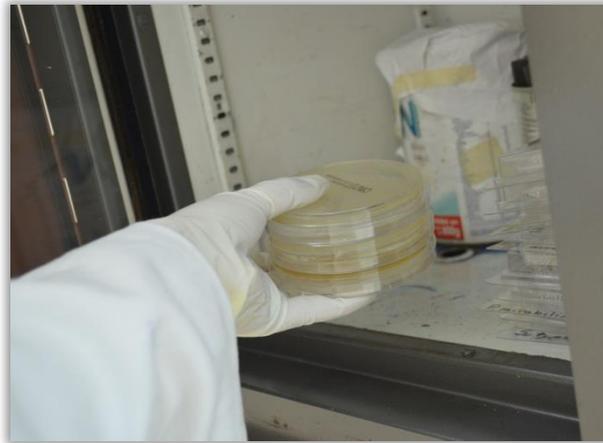


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

- 2) Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 24 h en posición invertida. En caso de resultado negativo a las 24 h, incubar nuevamente durante 24 h más para registrar los resultados finales.



- 3) Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella, ya que la luz puede destruir los cromógenos.
- 4) Anotar el resultado correspondiente en el formato para medios cromogénicos y comparar con la literatura. (ANEXO III)

* En caso de que no haya crecimiento o poco crecimiento, dejar incubando 24 h más en las mismas condiciones.



Crom CPS / *Escherichia coli*



CromStap / *Staphylococcus aureus*



Crom Candida / *Candida albicans*

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

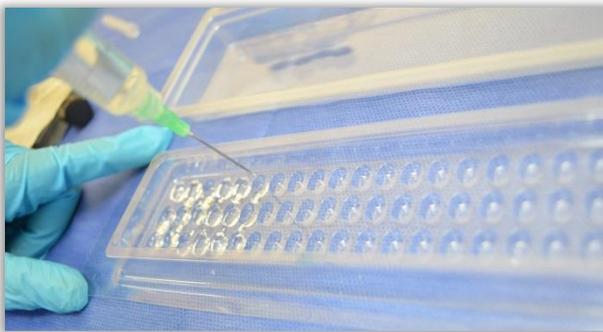
SISTEMA API20 STAPH

Material	Reactivos para revelado de pruebas bioquímicas
Kit API Staph	-VP1
Jeringa de 1ml estéril o pipeta Pasteur estéril	-VP2
Guantes	-NIT1
Cubrebocas	-NIT2
	-ZYM A
	-ZYM B



Preparación de la tira

- 1) Prepare una caja de incubación (bandeja y tapa) y distribuir aproximadamente 5 ml de agua destilada o agua desmineralizada (o cualquier agua sin aditivos o productos químicos que puedan liberar gases como Cl₂, CO₂) en el panel de pocillos de la bandeja para crear una atmósfera húmeda.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

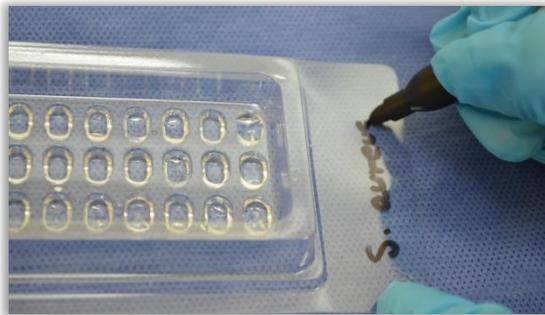
FECHA:

FECHA:

FECHA:



2) Escribir la referencia de las cepas en la lengüeta lateral de la cámara. (No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar extraviada durante la manipulación).



3) Sacar una galería API Staph de su envase individual.



4) Colocar la galería en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo

- 5) Abrir una ampolla de API Staph Medium:
 - a) Introducir la ampolla en el protector de ampolla.
 - b) Sujetar verticalmente el conjunto en una mano (tapón blanco hacia arriba).
 - c) Presionar a fondo el tapón blanco.
 - d) Ejercer una presión horizontal con el pulgar en la parte estriada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.
 - e) Sacar la ampolla del protector de ampolla y conservarla para un próximo uso.
 - f) Retirar delicadamente el tapón

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /



Ampolla y protector



a)



b) y c)



d)



d)



e) y f)

6) A partir de una colonia bien aislada del microorganismo, preparar una suspensión bacteriana homogénea con una turbidez equivalente a 0.5 McFarland. Se recomienda utilizar cultivos jóvenes (18-24 horas). Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



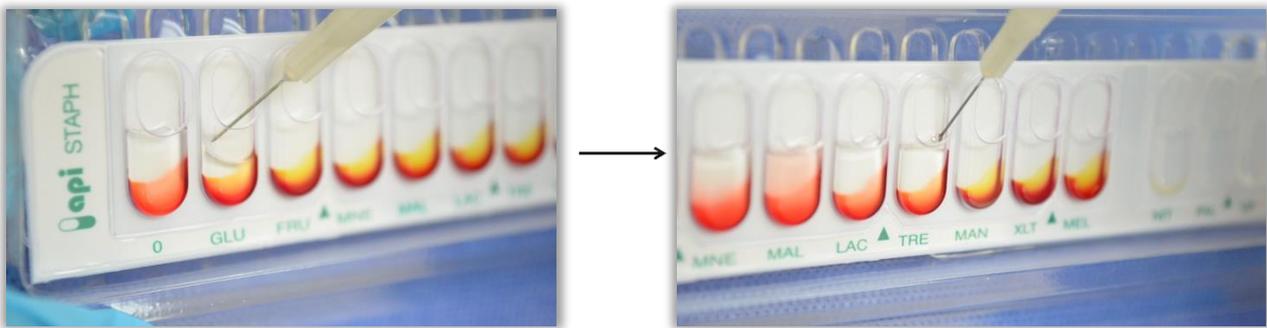
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

Inoculación de la galería

- 7) Con la ayuda de una pipeta o jeringa, rellenar la galería con API Staph Medium. Rellenar solamente los microtubos y no las cúpulas, sin sobrepasar el nivel del tubo. Para evitar la formación de burbujas, inclinar la cámara de incubación hacia delante y colocar la punta de la pipeta en el borde de la cúpula.



- 8) Crear anaerobiosis en las pruebas de ADH* y URE*, llenando las cúpulas con aceite mineral para formar un menisco convexo



* ADH= Arginina dihidrolasa

*URE= Ureasa

- 9) Cerrar la cámara de incubación.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /



10) Incubar durante 18-24 horas a 36°C ± 2°C



Lectura de la galería

- 11) Tras la incubación se anotan los resultados inmediatos, es decir, los que no requieren ser revelados. La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con las tablas de lectura que proporciona el proveedor, y anotando el resultado como positivo o negativo. (Anexo III)
- 12) Después del periodo de incubación, el desarrollo de las reacciones se dará por la adición de 1 gota de cada uno de los siguientes reactivos y a continuación se interpretan todas las reacciones conforme a la tabla de identificación:

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

- Prueba VP: Reactivos VP 1 y VP 2:
Esperar 10 minutos. Un color violeta-rosáceo indica una reacción positiva.
Un color rosa pálido o rosa claro obtenido después de 10 minutos debe ser considerado como negativo.



- Prueba NIT: Reactivos NIT 1 y NIT 2.
Esperar 10 minutos. Un color rojo indica una reacción positiva.



- Prueba PAL: Reactivos ZYM A y ZYM B (*).

Esperar 10 minutos. Un color violeta indica una reacción positiva.

(* Se recomienda controlar cada ampolla de reactivo ZYM B antes de la 1° utilización.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

Determinación del perfil numérico e identificación del microorganismo

13) Del conjunto de reacciones y resultados se obtiene un perfil numérico de 7 cifras. Los pocillos están separados en grupos de tres; en total tenemos 7 grupos o tripletes. Para obtener el perfil numérico de 7 cifras se darán valores de 0, 1, 2 y 4 de acuerdo a los siguientes criterios:

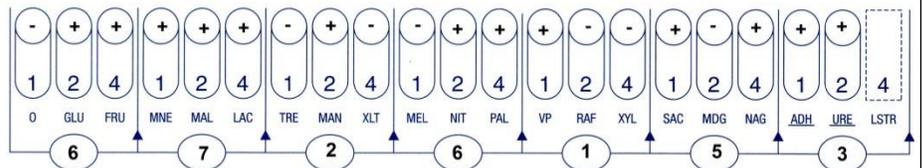
- Si la reacción es negativa en un pocillo se pone 0.
- Si la reacción es positiva en el 1º pocillo se pone 1, si es positivo en el 2º se pone 2 y si es positivo en el 3º se pone 4, obteniendo un triplete.

14) Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. ^{9.11.12}



15) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato para API 20 Staph (**Anexo III**)

0 GLU FRU	MNE MAL LAC	TRE MAN XLT
MEL NIT PAL	VP RAF XYL	SAC MDG NAG
	PERFIL NUMERICO DE 7 CIFRAS: 6726153	
ADH URE LSTR	IDENTIFICACIÓN:	



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



API 20E

Material	Reactivos para revelado de pruebas bioquímicas
Kit API 20 E	-FeCl ₃ 10% (TDA)
Jeringa 1mL	-KOH al 40% (VP1)
Pipeta Pasteur	-Naftol (VP2)
Guantes	-Kovacs o dimetilamino-cinamaldehido o reactivo de James.
Cubrebocas	-Tetrafenilendiamina
	-NIT 1 y NIT 2
	-Zn



Preparación de la tira

- 1) Prepare una caja de incubación (bandeja y tapa) y distribuir aproximadamente 5 ml de agua destilada o agua desmineralizada (o cualquier agua sin aditivos o productos químicos que puedan liberar gases como Cl₂, CO₂) en el panel de pocillos de la bandeja para crear una atmósfera húmeda.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

- 2) Escribir la referencia de las cepas en la lengüeta lateral de la cámara. (**No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar extraviada durante la manipulación**).



- 3) Sacar una galería API 20 E de su envase individual.



- 4) Colocar la galería en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo

- 5) Abrir una ampolla de API NaCl 0,85% Medium (5 ml) o una ampolla de API Suspensión Medium (5 ml) o utilizar un tubo que contenga 5 ml de agua fisiológica estéril o de agua destilada estéril, sin aditivos



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

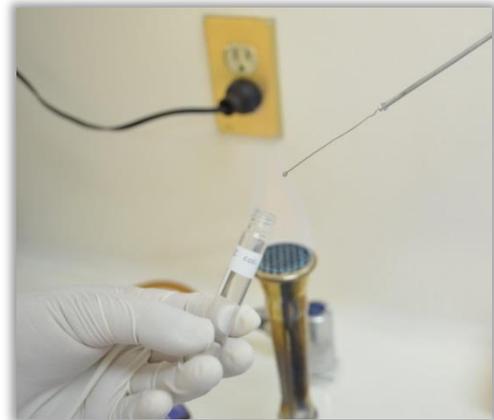
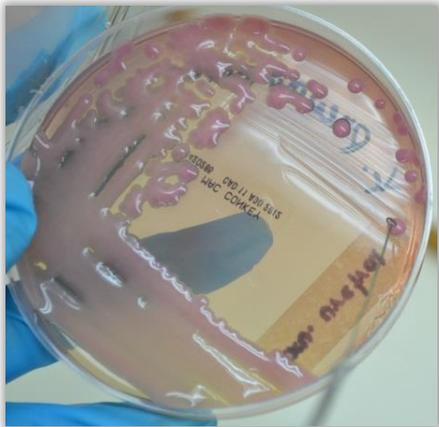
FECHA:

FECHA:

FECHA:



- 6) A partir de una colonia bien aislada del microorganismo, hacer una suspensión en 5mL de solución salina (0.85% de NaCl) o 5 mL de agua estéril. Utilizar preferentemente cultivos jóvenes (18-24 horas).



Inoculación de la galería

- 7) Con la ayuda de la jeringa o pipeta Pasteur, introducir la suspensión bacteriana en los tubos de la galería (para evitar la formación de burbujas en el fondo de los tubos, colocar la punta de la jeringa sobre la pared de la cúpula, inclinando ligeramente la cámara de incubación hacia delante).



- 8) Llenar el tubo y la cúpula de los pocillos CIT*, VP*, GEL* con la suspensión de bacterias evitando la formación de burbujas y apoyando la punta de la micropipeta sobre el borde de la cúpula. Cada cúpula se llena hasta obtener un nivel horizontal o ligeramente convexo, nunca cóncavo para generar resultados correctos.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /



- *CIT= utilización del citrato
- *VP= producción de acetoina (VogesProskauer)
- *GEL= gelatinasa (gelatina)

9) Para las otras pruebas, llenar únicamente los tubos (hasta el menisco)

10) Cubrir con parafina las cúpulas de los pocillos ADH*, LDC*, ODC*, URE*, H₂S* para obtener anaerobiosis.



- *ADH= Arginina-dihidrolas
- *URE= Ureasa
- *LDC =Lisina Decarboxilasa
- * H₂S= Producción de H₂S
- *ODC=OrnitinaDecarboxilasa

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

11) Poner la tira en su propia cámara húmeda de incubación y cerrar las cámaras de incubación.

12) Incubar a 37° C durante 18-24 horas



Lectura e interpretación

13) Tras la incubación se anotan los resultados inmediatos, es decir, los que no requieren ser revelados. La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con las tablas de lectura que proporciona el proveedor, y anotando el resultado como positivo o negativo. (Anexo III)



14) Determinadas pruebas requieren ser reveladas, para el revelado se tienen que tener en cuenta dos criterios:

- Si la glucosa da negativo y los test positivos son dos o menos de dos, no hay que añadir reactivos.
- Si la glucosa es positiva y/o tres o más test son positivos se revelan los test que requieren reactivos:

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

TDA: añadir una gota de FeCl₃ 10% (una gota del reactivo TDA)
Positivo= color marrón oscuro



VP: añadir una gota del reactivo VP1 y una gota del reactivo VP2

Positivo= color rosa fuerte o rojo en 5-10 minutos.

Negativo= color rosa débil después de los 10 min.



IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs¹ o dimetilamino-cinamaldehido². O reactivo de James³ Dependiendo del reactivo utilizado pueden darse las posibilidades siguientes:
¹Positivo= aparece un anillo rosa-rojo.
²positivo= color de rosa a morado en todo el pocillo.
³ positivo= rosa



Oxidasa: es la prueba número 21 y se realiza de forma independiente a la tira. Añadir una gota del reactivo (tetrafenilendiamina) recién preparado.
Positivo= color azul que aparece inmediatamente.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

Reducción de los nitratos en nitritos (NO_2) y en nitrógeno (N_2): añadir una gota de los reactivos NIT 1 y NIT 2 en el tubo GLU. Esperar de 2 a 5 minutos.

Positivo (NO_2)= coloración roja



Negativo= coloración amarilla, puede deberse a la producción de nitrógeno (eventualmente señalado por la presencia de micro-burbujas): agregar de 2 a 3 mg de reactivo Zn en la cúpula GLU. Después de 5 minutos, si el color sigue siendo **amarillo**, indica una reacción **positiva** (N_2)

Negativo= coloración naranja-rojizo de la cúpula, ya que los nitratos aún presentes en el tubo han sido reducidos a nitritos por el Zinc.



15) Del conjunto de reacciones y resultados se obtiene un perfil numérico de 7 cifras. Los pocillos están separados en grupos de tres: en total tenemos 7 grupos de tres tubos o tripletes (el test número 21 corresponde al test de la oxidasa).

Para obtener el perfil numérico de 7 cifras, a cada pocillo se le dará el valor 0, 1, 2 ó 4, de acuerdo a los siguientes criterios:

- Si la reacción es negativa en un pocillo se pone 0.
- Si la reacción es positiva en el 1º pocillo se escribe 1, si es positiva en el 2º pocillo se escribe 2 y si es positiva en el 3º se escribe 4, obteniendo un triplete.
- Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata.^{7,8,9}



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



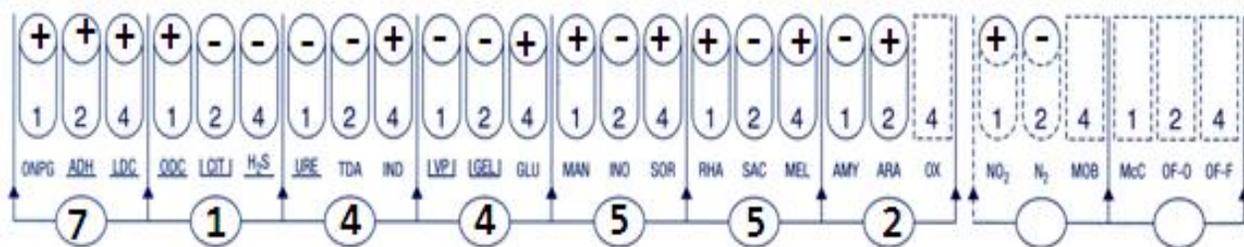
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

16) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato (**Anexo III**)

 <p>ONPG GADH LDC</p>	 <p>ODC CIT H2S</p>	 <p>URE TDA IND</p>
 <p>VP GEL GLU</p>	 <p>MAN INO SOR</p>	 <p>RHA SAC MEL</p>
 <p>AMY ARA OX NO2 N2</p>	<p>PERFIL NUMERICO DE 7 CIFRAS: 7144552</p> <p>IDENTIFICACIÓN:</p>	



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



API 20C AUX

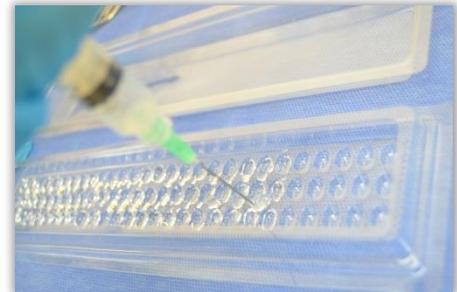
Metodología

Material	Reactivos
Kit API 20C AUX	Patrón 2 de MacFarland
Micropipeta de 100µL	Ampolla API C Medium
Solución fisiológica de NaCl al 0.85%	
Guantes	
Cubrebocas	



Preparación de la galería

- 1) Reunir fondo y tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 mL de agua destilada o desmineralizada [o cualquier agua sin aditivos ni derivados susceptibles de liberar gases (Ej.: Cl₂, CO₂)] en los alvéolos para crear una atmósfera húmeda.



- 2) Inscribir la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara. (**No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar desplazada durante la manipulación**).



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

3) Retirar la galería de su envase individual y depositarla en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo.

4) Abrir una ampolla de API NaCl 0,85% Médium o una solución estéril que contenga la misma solución sin aditivos.



5) A partir de un cultivo joven de la levadura a identificar, realizar una suspensión de levaduras de turbidez igual a la del patrón 2 de McFarland. Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación.



6) Abrir una ampolla de API C Medium:

- a) Introducir la ampolla en el protector de ampolla.
- b) Sujetar verticalmente el conjunto en una mano (tapón blanco hacia arriba).
- c) Presionar a fondo el tapón blanco.
- d) Ejercer una presión horizontal con el pulgar en la parte estriada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.
- e) Sacar la ampolla del protector de ampolla y conservarla para un próximo uso.
- f) Retirar delicadamente el tapón

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /



Ampolla y protector



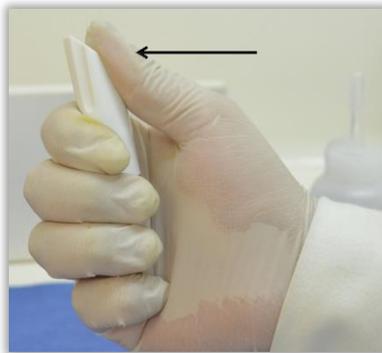
a)



b) y c)



d)

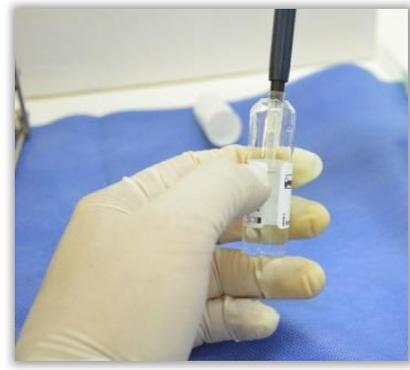
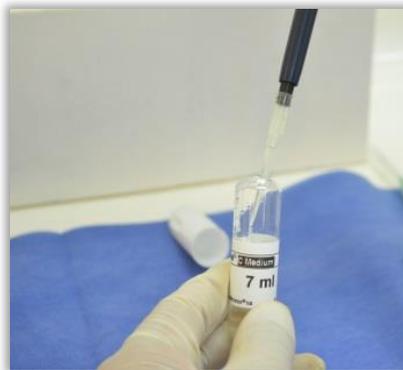


d)



e) y f)

7) Con la ayuda de la micropipeta, transferir 100 microlitros de la suspensión de levaduras a una ampolla de C Medium y homogeneizar con la micropipeta evitando la formación de burbujas.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



Inoculación de la galería

8) Llenar las cúpulas con la suspensión obtenida en el API C Médiu. Evitar la formación de burbujas apoyando la punta de la micropipeta sobre el borde de la cúpula. Cuidar que se cree un nivel horizontal o ligeramente convexo pero jamás cóncavo. Las cúpulas parcial o excesivamente llenas son causa de resultados incorrectos.



9) Volver a cerrar la cámara de incubación e incubar 48-72 horas (± 6 horas) a $29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.



Lectura de la galería

Después de 48 horas de incubación, o de 72 horas (si los ensayos, no resultan muy claros después de 48 horas), observar el crecimiento de las levaduras comparativamente con la cúpula 0, testigo negativo. Una cúpula **con mayor turbidez** que la de control nos indica una reacción **positiva**, se leerá por tripletes y se anotará en la hoja de resultados.

Con el fin de evitar toda contaminación durante una reincubación, levantar la tapa exclusivamente durante el período de lectura.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:

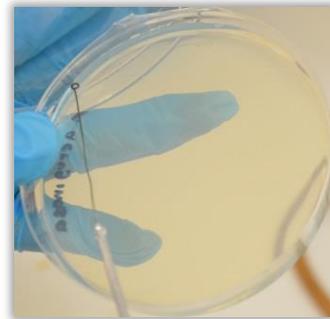


Susceptibilidad a antibióticos

Equipo y reactivos

Material	Medios de cultivo
Bata	Agar Mueller Hinton
Asa bacteriológica	
Multidiscos Gram positivos y Gram negativos	
Guantes	
Cubre bocas	
Mechero	

- 1) En una placa de MH inocular en todo el medio el microorganismo identificado, a partir de una colonia perfectamente aislada.



- 2) Colocar los multidiscos sobre el agar sembrado con la cepa aislada e inocular la placa de 35 a 37° por 23 horas.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:

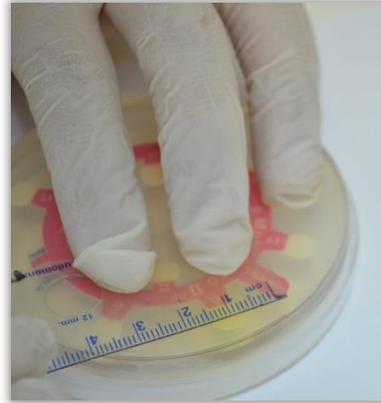


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

- 3) Realizar la lectura del antibiograma, utilizando la hoja para susceptibilidad a antibióticos suministrada por el proveedor. ¹¹ (Anexo IV)



- 4) Anotar los resultados en el formato de resultados (Anexo IV). Se colocará el nombre del microorganismo patógeno identificado, así como la susceptibilidad a antibióticos en el formato de resultados: informe del laboratorio (Anexo V).

V.3 FASE POSTANALITICA

Los resultados e interpretación se anotarán en el formato de Laboratorio de Microbiología Médica (Anexo V). Se colocará el nombre del microorganismo(s) patógeno(s) identificado(s), así como la susceptibilidad a antibióticos en dicho formato.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



VII. Bibliografía

1. Forbes B. Diagnostico Microbiológico Bailey y Scott. 12° Edición. Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2009.
2. Spicer. J. Clínica y Enfermedades Infecciosas. 2° Edición. España: ELSEVIER; 2009
3. OMS. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3° Edición. Ginebra:2005.
4. Lloret A. Canós M. Gimeno C. et al. Manual de toma de muestras. Garantía de calidad en los laboratorios de microbiología clínica. Barcelona: 2004.
5. Manual de Microbiología Médica. Aparato Genitourinario. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.2008.
6. Biomeriux. Medios cromogénicos chromID. 2012. Disponible en: http://www.biomerieux.com.mx/servlet/srt/bio/mexico/dynPage?doc=MEX_CLN_PRD_G_PRD_CLN_35.
7. Koneman E., Allen S., Janda W., Schreckenberger P., Winn W. Diagnóstico microbiológico texto y atlas color. 5ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2002.
8. API20 E. Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes. 2009; [56 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/4.pdf>
9. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid; Médica Panamericana; 2005
10. API Staph. Sistema de identificación de estafilococos, micrococos y géneros relacionados. 2009. [44 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/6.pdf>
11. Multidiscos^{MR} II. Biorad 2010; [2 páginas]. Disponible en: <http://sdpmexico.com.mx/files/MULTIDISCOS.pdf>
12. Técnica de lavado de manos. Disponible en: http://calidad.salud.gob.mx/calidad/seguridad_paciente.html

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO I. Determinación de *Candida albicans*

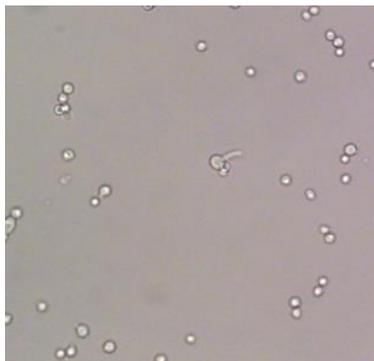
1. Producción de Clamidioesporas.

- a) Divida por la mitad la caja de agar harina de maíz y en cada mitad siembre cada cepa en forma de "Z".
- b) Incube a 37° C por 24 a 48 horas.
- c) Tome una pequeña muestra de cada mitad en un portaobjetos y agregue una gota de solución salina.
- d) Observe al microscopio y reporte el tipo de desarrollo.



2. Producción de Tubo Germinal.

- a) En dos tubos de ensaye coloque aproximadamente 1 mL de suero de conejo, carnero o humano.
- b) Inocule una asada de cada cepa de hongo.
- c) Incube a 35° C durante 3 horas.
- d) Al término de la incubación, tome una gota de la solución de cada tubo, en su respectivo portaobjetos y se coloca un cubreobjetos.
- e) Observe al microscopio en busca del desarrollo del tubo germinal y reporte el resultado.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO II. Método tradicional

Tabla de resultados.

TINCIÓN DE GRAM

CLAVE CEPA	FORMA INDIVIDUAL	AGRUPACIÓN	TIPO DE GRAM
1			
2			
3			
4			
5			
6			

MORFOLOGÍA COLONIAL

CLAVE CEPA	1	2	3	4
MEDIO DE CULTIVO				
TAMAÑO				
FORMA				
BORDE				
COLOR				
SUPERFICIE				
ELEVACIÓN				
LUZ REFLEJADA				
LUZ TRANSMITIDA				
CONSISTENCIA				
OTRAS ¹				

¹ Características que dependen del medio de cultivo: hemólisis, acidificación del medio, reducción de sales, entre otras.

PRUEBAS ESPECIALES (positivo o negativo)

CLAVE CEPA			
PRODUCCION DE CLAMIDIOSPORAS			
PRODUCCION DE TUBO GERMINAL			

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

CARACTERÍSTICA	Clave de la cepa						CARACTERÍSTICA	Clave de la cepa					
	1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6
ÁCIDO DE: ADONITOL							MOVILIDAD						
ARABINOSA							PRODUCCIÓN DE: H ₂ S						
GLUCOSA							INDOL						
INOSITOL							UREASA						
INULINA							FENILALANINA DESAMINASA						
LACTOSA							DESAMINACIÓN DE: LISINA						
MALTOSA							DESCARBOXILACIÓN DE: LISINA						
MANITOL							ORNITINA						
SACAROSA							CITRATO COMO FUENTE DE C						
SALICINA							REDUC. DE NO ₃ A NO ₂						
SORBITOL							DE NO ₂ A N ₂						
TREHALOSA							LECHE TORNASOL ³						
O/F GLUCOSA ²							O/F MANITOL ²						
RM / VP							O/F MALTOSA ²						
TSI (SUP/FONDO)							RED. DEL AZUL DE METILENO.						

² O = Oxidativo F = Fermentativo N = No utiliza el carbohidrato

³ A = Ácido C = Coágulo F = Fermentativo G = Gas P = Peptonización
K = Alcalino R = Reducción

PRUEBAS ESPECIALES

PRUEBA	Clave de la cepa						PRUEBA	Clave de la cepa					
	1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6
PROD. DE: CATALASA							CAMP						
COAGULASA							SOLUBILIDAD EN BILIS						
OXIDASA							CRECIMIENTO: 4 °C						
SENS. A: BACITRACINA							42 °C						
KANAMICINA							pH = 6						
OPTOQUINA							pH = 9						
PROD. DE: PIOCIANINA							NaCl 7.5%						
FLUORESCÉINA							TELURITO 0.2%						
REDUCCIÓN DE TELURITO													

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

ANEXO III. Método moderno

Tabla de resultados. Medio cromogénico

MORFOLOGÍA COLONIAL

CLAVE CEPAS				
MEDIO CROMOGÉNICO				
TAMAÑO				
FORMA				
BORDE				
COLOR				
SUPERFICIE				
LUZ REFLEJADA				
LUZ TRANSMITIDA				
CRECIMIENTO				
OTRAS ¹				

¹ Características que dependen del medio de cultivo: halos.

IDENTIFICACION DE MUESTRA

CLAVE CEPAS				
MEDIO CROMOGÉNICO				
M.O(S) IDENTIFICADO(S)				

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 Staph

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT. (mg/cúp.)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
0	Sin substrato		Testigo negativo	Rojo	----
GLU	D-glucosa	1.56	(testigo positivo) (D-glucosa)	Rojo *	Amarillo
FRU	D-fructosa	1.4	Acidificación (D-fructosa)		
MNE	D-manosa	1.4	Acidificación (D-manosa)		
MAL	D-maltosa	1.4	Acidificación (D-maltosa)		
LAC	D-lactosa (origen bovino)	1.4	Acidificación (D-lactosa)		
TRE	D-trehalosa	1.32	Acidificación (D-trehalosa)		
MAN	D-manitol	1.36	Acidificación (D-manitol)		
XLT	Xilitol	1.4	Acidificación (D-xilitol)		
MEL	D-melibiosa	1.32	Acidificación (D-melibiosa)		
NIT	Nitrato de potasio	0.08	Reduccion de nitratos a nitritos	<u>NIT+NIT2/10 min</u>	
				Incoloro-rosa claro	Rojo
PAL	B-nafti fosfato	0.0244	Fosfatasa alcalina	<u>ZYM A+ ZYM B/10 min</u>	
				Amarillo	Violeta
VP	Pirivato de sodio	1.904	Produccion de acetil-metil-carbinol (voges proskauer)	<u>VP 1+ VP2/10 min</u>	
				Incoloro-rosa claro	Violeta-rosaceo
RAF	D-rafinosa	1.56	Acidificación (rafinosa)	Rojo	Amarillo
XYL	D-xilosa	1.4	Acidificación (xylosa)		
SAC	D-sacarosa (sucrosa)	1.32	Acidificación (sacarosa)		
MDG	metil- α D-glucopiranosida	1.28	Acidificación (metil- α D-glucopiranosida)		
NAG	N-acetil-glucosamina	1.28	Acidificación (N-acetil-glucosamina)		
ADH	L-arginina	1.904	Arginina dihidrolasa	Amarillo	Naranja-rojo
URE	Urea	0.76	Ureasa	Amarillo	Rojo-violeta

Los ensayos de acidificación deberían compararse con los testigos negativo (0) y positivo (GLU).

* Cuando MNE y XLT van precedidos o seguidos por ensayos positivos, la prueba naranja debería considerarse negativa.

Las cantidades indicadas pueden ser ajustadas en función de los títulos de las materias primas.

Ciertas cúpulas contienen componentes de origen animal, especialmente peptonas.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 E

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANTIDAD (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
ONPG	2-nitro-fenil-βDgalactopiranosida	0.223	β-galactosidasa (orto-nitrofenil-βDgalactopiranosidasa)	Incoloro	Amarillo (1)
ADH	L-arginina	1.9	Arginina-dihidrolasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
LDC	L-lisina	1.9	Lisina Decarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
ODC	L-ornitina	1.9	OrnitinaDecarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
CIT	Citrato trisódico	0.756	Utilización del Citrato	Verde pálido/amarillo	Azul-verde/azul (3)
H2S	Tiosulfato sódico	0.075	Producción de H ₂ S	Incoloro/grisáceo	Depósito negro/fin liserado
URE	Urea	0.76	Ureasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
TDA	L-triptófano	0.38	Triptófano Desaminasa	<u>TDA/ inmediato</u>	
				Amarillo	Marrón-rojizo
IND	L-triptófano	1.9	Producción de Índol	<u>James/ inmediato</u>	
				Incoloro Verde pálido/amarillo	Rosa
VP	Piruvato sódico	1.9	Producción de acetoina (VogesProskauer)	VP1 + VP2/10 min	
				Incoloro/rosa pálido	Rosa/rojo (5)
GEL	Gelatina (origen bovino)	0.6	Gelatinasa (Gelatina)	No difusion	Difusion pigmento negro
GLU	D-glucosa	1.9	Fermentación/oxidación (Glucosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo/amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	1.9	Fermentación/oxidación (Manitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
INO	Inositol	1.9	Fermentación/oxidación (Inositol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentación/oxidación (Sorbitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1.9	Fermentación/oxidación (Rhamnosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1.9	Fermentación/oxidación (sacarosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1.9	Fermentación/oxidación (Melibiosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación/oxidación (Amygdalina) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,9	Fermentación/oxidación (Arabinosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

- (1) Un color amarillo muy ligero también implica resultado positivo.
- (2) La aparición de un color naranja tras 36-48 H de incubación debe considerarse negativa.
- (3) Lectura en la cúpula (zona aerobia).
- (4) La fermentación comienza en la parte inferior de los tubos, mientras que la oxidación empieza en la cúpula.
- (5) Una ligera coloración rosa, que aparece tras 10 minutos, debe ser leída como negativa.

TABLA DE COMPOSICIÓN DE LA GALERÍA API 20 AUX

ENSAYOS	SUBSTRATOS
0	Ninguno
GLU	D-GLUCosa
GLY	GLYCerol
2KG	2-ceto-Gluconato-cálcico
ARA	L-ARABinosa
XYL	D-XYLosa
ADO	ADONitol
XLT	XyLiTol
GAL	D-GALactosa
INO	INOSitol
SOR	D-SORbitol
MDG	Metil- α D-Glucopiranosida
NAG	N-Acetil-Glucosamina
CEL	D-CELLobiosa
LAC	D-LACTosa
MAL	D-MALtosa
SAC	D-SACarosa
TRE	D-TREhalosa
MLZ	D-MeLeZitosa
RAF	D-RAFinosa

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

ANEXO IV. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN MM

ANTIBIÓTICO	CONCENTRACION	R ($< 0 =$)	I	MS	S ($> 0 =$)
AMIKACINA	30 µg	14	15 - 16		17
AMPICILINA	10 µg				
<i>ENTEROBACTERIACEAE</i>		11	12 - 13		14
<i>STAPHYLOCOCCUS SPP</i>		28			29
ENTEROCOCOS		16		($> 0 =$)	
OTROS ESTREPTOCOCOS		21		22 - 29	30
CARBENICILINA	100 µg				
ENTEROBACTERIACEAE		17	18 - 22		23
<i>PSEUDOMONAS SPP</i>		13	14 - 16		17
CEFALOTINA	30 µg	14	15 - 17		18
CEFOTAXIMA	30 µg	14		15 - 23	23
CEFTAZIDIMA	30 µg	14	15 - 17		18
CEFTRIAXONA	30 µg	13		14 - 20	21
CEFUROXIMA	30 µg	14	15 - 17		18
CLORANFENICOL	30 µg	12	13 - 17		18
DICLOXACILINA	1 µg				
<i>Staphylococcus spp</i>		10	11 - 12		13
PENICILINA VS NEUMOCOCOS		19			20
ENOXACINA	10 µg	14	15 - 17		18
ERITROMICINA	15 µg	13	14 - 17		18
GENTAMICINA	10 µg	12	13 - 14		15
NETILMICINA	30 µg	12	13 - 14		15
NITROFURANTOÍNA	300 µg	14	15 - 16		17
PEFLOXACINA	5 µg	14	15 - 22		23
PENICILINA	10 U				
<i>Staphylococcus spp</i>		28			29
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		19			20
ENTEROCOCOS		14		($> 0 =$)15	
OTROS ESTREPTOCOCOS		19		20 - 27	28
TETRACICLINA	30 µg	14	15 - 18		19
TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	25µg	10	11 - 15		16

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

FORMATO DE REPORTE SE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS (ANTIBIOGRAMA)

CLAVE CEPA	_____	R, I, S
AMIKACINA	AK	_____
AMPICILINA	AM	_____
CARBENICILINA	CB	_____
CEFALOTINA	CF	_____
CEFOTAXIMA	CTX	_____
CEFTAZIDIMA	CAZ	_____
CEFTRIAXONA	CRO	_____
CEFUROXIMA	CXM	_____
CLORANFENICOL	CL	_____
DICLOXACILINA	DC	_____
ENOXACINA	ENX	_____
ERITROMICINA	E	_____
GENTAMICINA	GE	_____
NETILMICINA	NET	_____
NITROFURANTOÍNA	NF	_____
PENICILINA	PE	_____
PEFLOXACINA	PEF	_____
TETRACICLINA	TE	_____
TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	SXT	_____

R: Resistente
I: Intermedio
S: Sensible

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 50 de 51

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: / /

ANEXO V



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Laboratorio de Microbiología Médica



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE _____

FOLIO _____

EDAD _____ SEXO _____

LOCALIDAD _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE _____

ESTUDIOS REALIZADOS

OBSERVACIONES

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

SELLO DE LABORATORIO

Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO VI. CUESTIONARIO

1. ¿La redacción de las etapas de control de calidad dentro del manual son?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
2. ¿Qué te parece la estructura de la práctica? :
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
3. ¿Cómo consideras los apartados que conforman la práctica?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
4. ¿Cómo consideras los aspectos de bioseguridad contemplados en la práctica?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
5. ¿Cómo consideras las imágenes con respecto a la redacción de los procedimientos?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
6. ¿Cómo consideras las tablas de resultados del anexo?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
7. ¿Cómo consideras la redacción del procedimiento del método tradicional?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
8. ¿Cómo consideras la redacción del procedimiento del sistema API?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
9. ¿Cómo consideras la redacción del procedimiento del medio cromogénico?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()

10. ¿Qué propondrías para mejorar el diseño de la práctica?

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

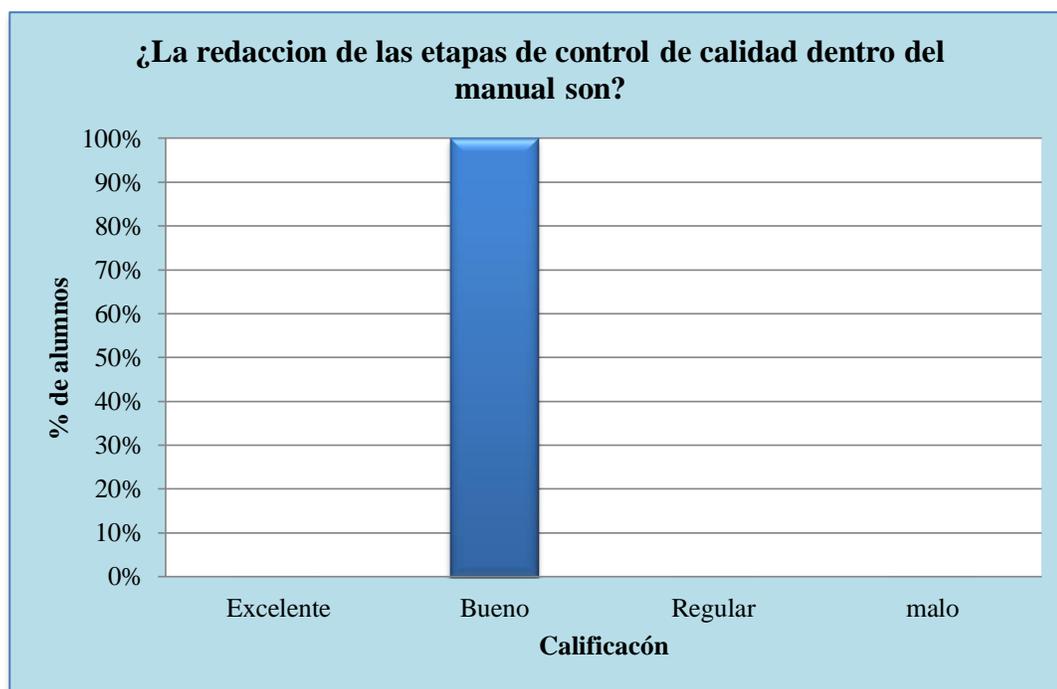
FECHA:

Resultados de la Validación de la Práctica Diagnóstico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Mediante Exudado Uretral Masculino

Cuadro 1. Resultado del cuestionario aplicado a los alumnos de Microbiología Médica									
Calificación									
Preguntas	Excelente		Bueno		Regular		Malo		% total
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%	
Pregunta 1	0	0.0	8	100	0	0.0	0	0	100
Pregunta 2	1	12.5	6	75	1	12.5	0	0	100
Pregunta 3	1	12.5	6	75	1	12.5	0	0	100
Pregunta 4	0	0.0	8	100	0	0.0	0	0	100
Pregunta 5	1	12.5	4	50	3	37.5	0	0	100
Pregunta 6	1	12.5	6	75	1	12.5	0	0	100
Pregunta 7	2	25.0	6	75	0	0.0	0	0	100
Pregunta 8	1	12.5	7	88	0	0.0	0	0	100
Pregunta 9	1	12.5	6	75	1	12.5	0	0	100

Total de alumnos que realizaron la práctica: 8

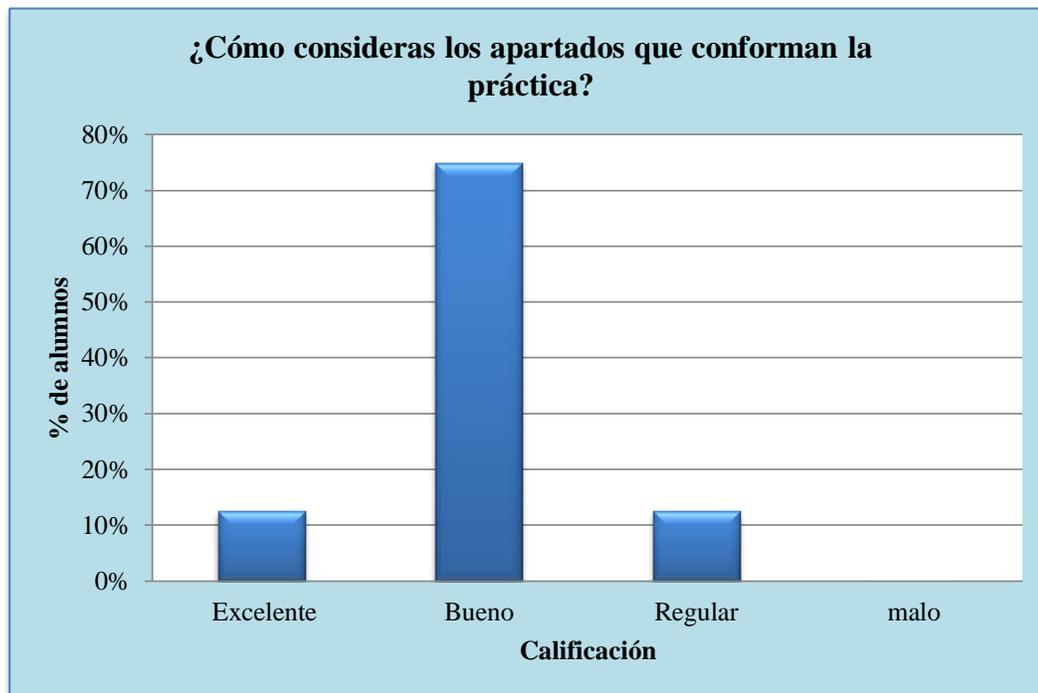
Los resultados obtenidos del cuestionario que se aplicó se presentan en las siguientes gráficas para cada una de las preguntas que conforman el cuestionario.



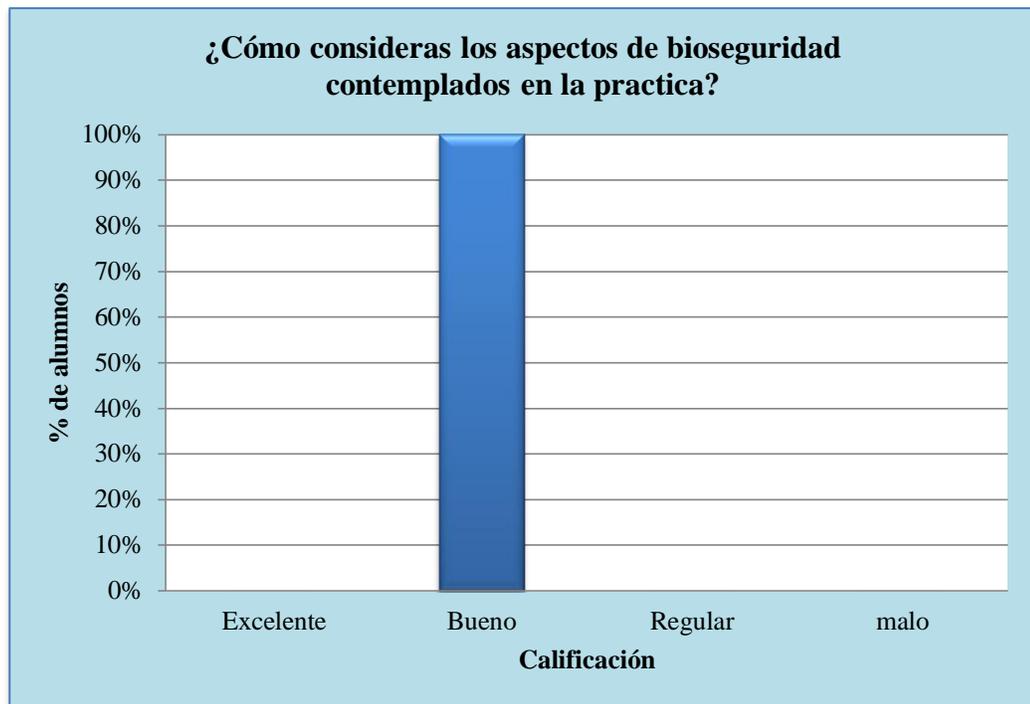
Gráfica 1. Se observa que el 100% de los alumnos consideran buena las etapas de control de calidad dentro del manual.



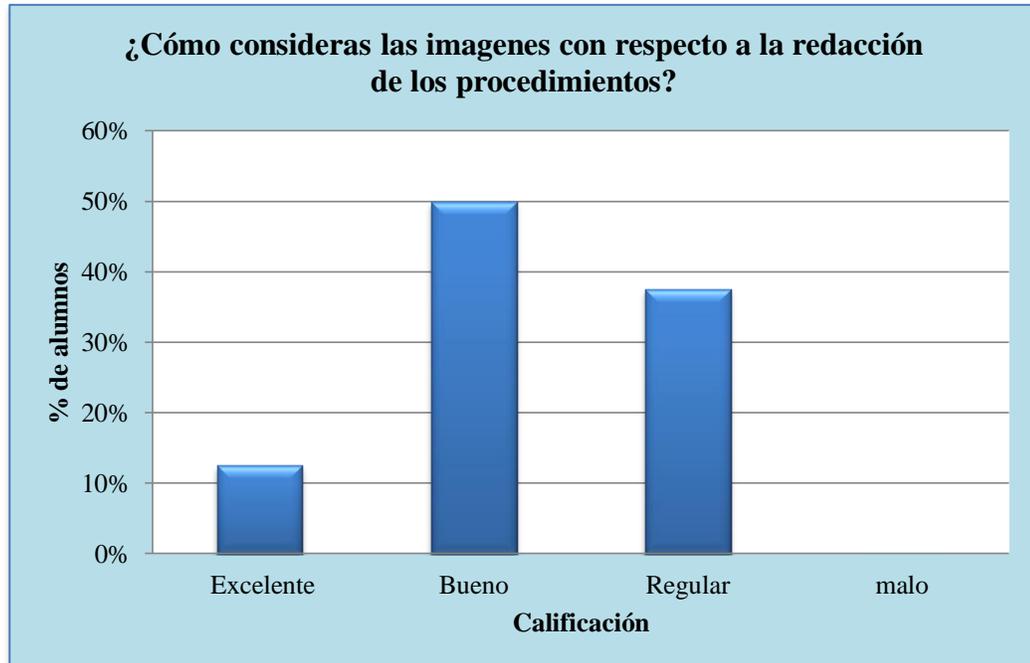
Gráfica 2. En la gráfica se muestra que el 75% de los alumnos considera buena la estructura de la práctica, mientras el 12.5% la considera excelente y ninguno la considera mala.



Gráfica 3. Se muestra que el 75% de los alumnos considera buena la estructura de la práctica, mientras el 12.5% los considera excelente y ninguno la considera mala.



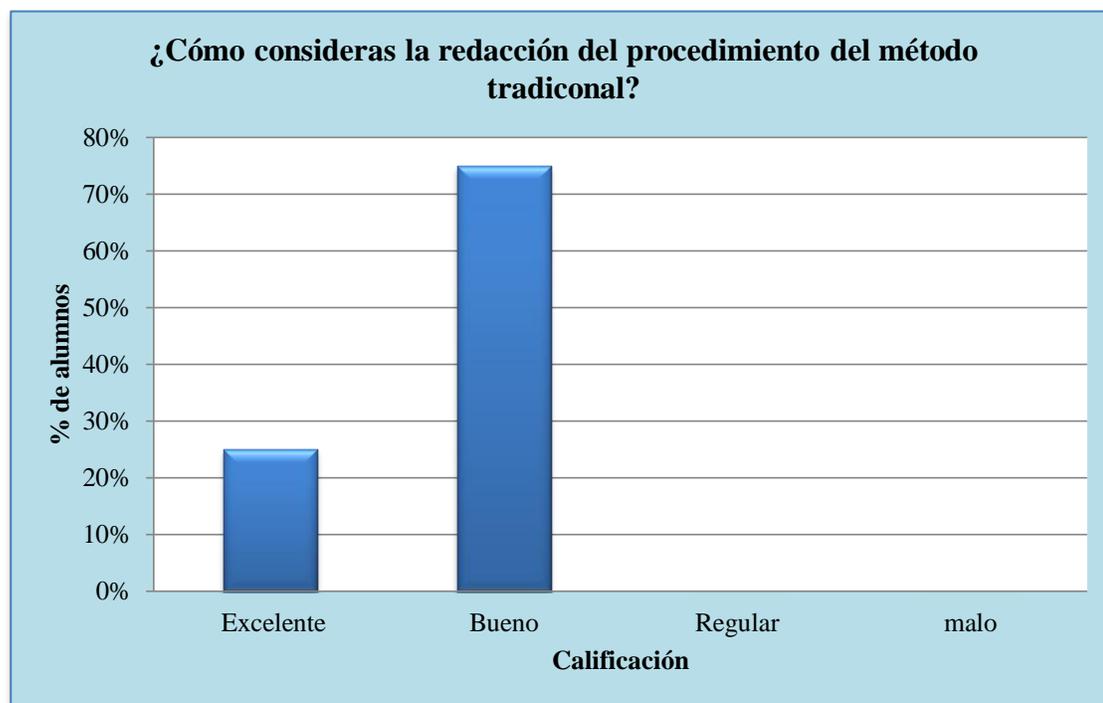
Gráfica 4. El 100% de los alumnos consideran buenos los aspectos de bioseguridad contemplados en la práctica.



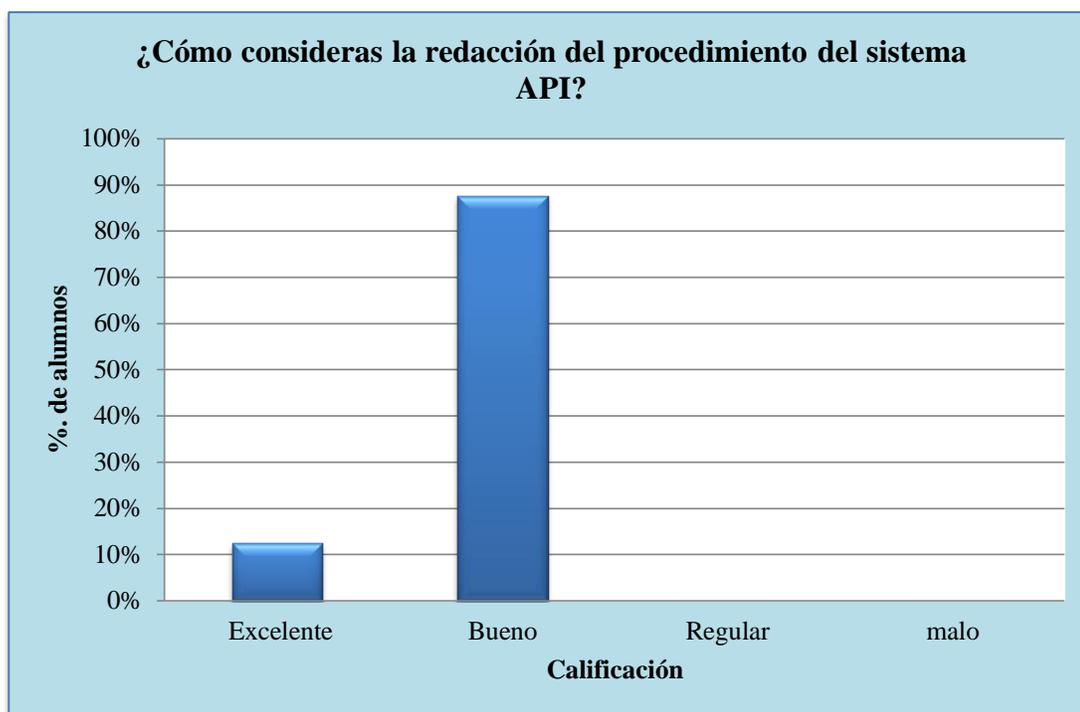
Gráfica 5. Nos muestra que el 50% considera buenas las imágenes incluidas en la redacción de cada procedimiento, mientras que 12.5% de los alumnos considera excelente y ninguno las considera malas.



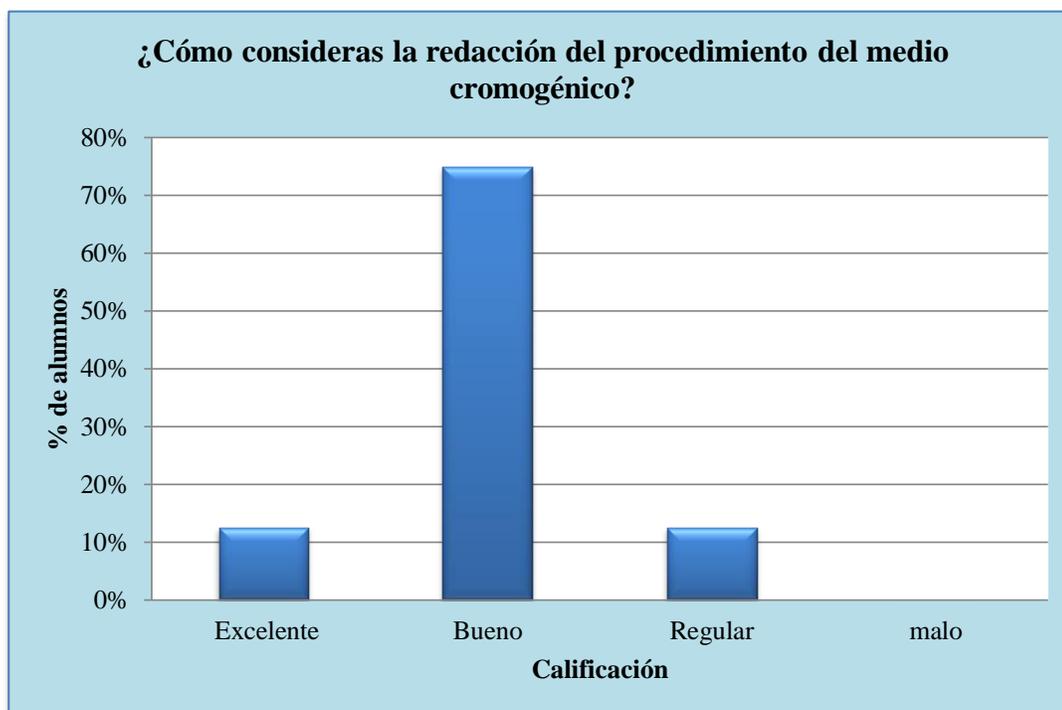
Gráfica 6. Los resultados muestran que el 75% de los alumnos considera buenas las tablas de resultados de la práctica, mientras que 12.5 % las considera excelente y ninguno las considera malas.



Gráfica 7. Observamos que el 75% de los alumnos considera buena la redacción del procedimiento del método tradicional, mientras que el 25% la considera excelente y ninguno la considera mala.



Gráfica 8. Como se observa el 88% de los alumnos considera buena la redacción del procedimiento del sistema API, mientras que el 12.5% considera excelente y ninguno considera mala la redacción.



Gráfica 9. Se aprecia el 75% de los alumnos considera buena la redacción del sistema cromogénico, mientras que el 12.5% la considera excelente mientras que ninguno considera mala la redacción.

Cuadro 2. Utilidad Global de la Práctica				
	Excelente	Bueno	Regular	Malo
Número de alumnos	0	8	0	0
	1	6	1	0
	1	6	1	0
	0	8	0	0
	1	4	3	0
	1	6	1	0
	2	6	0	0
	1	7	0	0
	1	6	1	0
Frecuencia total	8	57	7	0
% total	11%	79%	10%	0%
Total de alumnos	8			

A partir de las frecuencias obtenidas para las 9 preguntas del cuestionario se calculó un porcentaje para cada una de las calificaciones y con ello se observa la utilidad global del diseño de la práctica.



Gráfica 10. Se demuestra en esta gráfica que el 79% de los alumnos consideran buena la práctica mientras que el 11% la considera excelente, obteniendo un 90% de aceptación y cabe destacar que ninguno de los alumnos consideró mala la práctica.

Dentro del cuestionario de acuerdo a la pregunta 10, el alumno proporcionó su punto de vista y/o comentarios para el mejoramiento de la práctica. De acuerdo a esta pregunta, estos fueron los comentarios que hicieron:

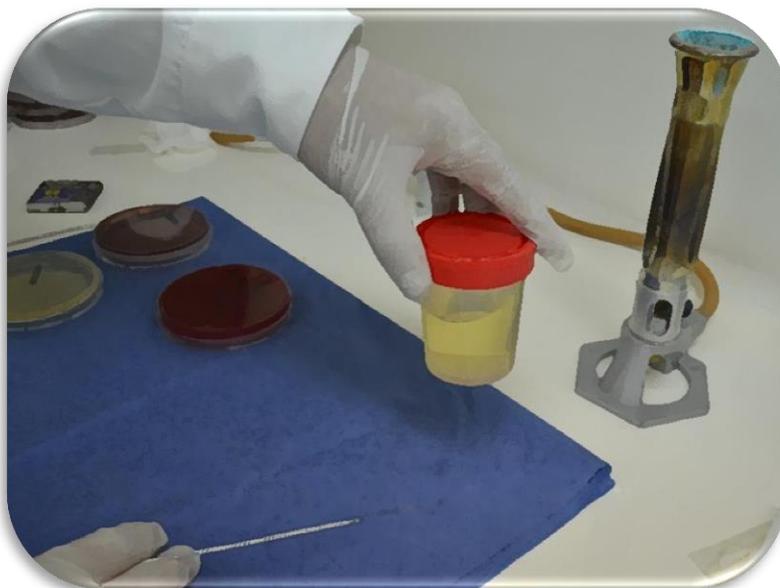
Cuadro 3

Pregunta 10. ¿Qué propondrías para mejorar el diseño de la práctica?
A) “Que se pueda practicar la toma de muestra desde el modelo”
B) “Obtener la muestra directo de los modelos para practicar la toma de muestra”
C) “Que cada uno tuviera un modelo y se pudiera realizar la demostración.”
D) “Una mayor participación grupal de modo que cada uno de los alumnos pueda participar con los modelos y no solo ver la explicación.”
E) “Asesoría más personalizada”
F) “Que haya más reactivos”



LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES BACTERIANAS DEL TRACTO URINARIO MEDIANTE EL UROCULTIVO



ELABORADO POR:

Q.F.B. ANTONIO AVILÉS VILLADA

M en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Proyecto apoyado por PAPIIME 209012

Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



TABLA DE CONTENIDO

I. Introducción.....3

II. Objetivos.....4

III. Medidas de bioseguridad.....5

IV. Propósito del examen.....6

V. Metodología.....6

 V.1 Fase Preanalítica.....6

 V.2. Fase Analítica.....13

 V.3 Fase Postanalítica.....39

VI. Referencias.....40

ANEXO I. Reporte de Urianálisis.....41

ANEXO II Determinación de *Candida albicans*.....42

ANEXO III Tabla de resultados del método tradicional.....43

ANEXO IV. Tabla de resultados del método moderno.....45

ANEXO V. Sensibilidad a antibióticos.....49

ANEXO VI. Formato de informe de laboratorio.....51

ANEXO VII. Cuestionario.....52

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



I. Introducción

El aparato urinario se infecta cuando las bacterias logran llegar a la vejiga, con o sin participación de ureteros y riñones; ahí comienzan a multiplicarse. Se han hecho intentos por distinguir entre infecciones que afectan a los riñones (pielonefritis) y ureteros y aquellas en las que sólo es afectada la vejiga (cistitis). Esto es importante para establecer el pronóstico a largo plazo de las infecciones recurrentes, ya que la infección repetida del riñón mismo se relaciona con la condición de daño renal permanente acompañado de cicatrización conocida como la pielonefritis crónica (un diagnóstico patológico (histológico) y no microbiológico (bacterias); sin embargo, la diferencia entre afección de las vías urinarias no existe, y en principio es mejor considerar al aparato urinario como una sola entidad.

Estas infecciones se pueden dividir en dos tipos, primario y secundario. Las infecciones primarias ocurren en personas con aparato urinario normal y son poco comunes en varones. El factor principal que hace a la infección del aparato urinario primaria una enfermedad exclusiva de las mujeres es la anatomía de la uretra.

La infección del aparato urinario secundaria es el resultado de alguna anomalía o de instrumentación, y se presenta tanto en varones como en mujeres. El factor predisponente puede ser cualquier cosa que perturbe el funcionamiento; por ejemplo: obstrucción del flujo o incapacidad para evacuar la orina. La lista de posibilidades incluye constricción o válvulas uretrales, divertículos en la vejiga, cálculos urinarios, crecimiento de la próstata, carcinoma de la vejiga, cistitis renal, ureteros dobles, riñones en herradura, vejiga neurogénica y procedimientos terapéuticos como cateterización de la vejiga o cistoscopia. ⁽¹⁾

En la infección simple sin complicaciones, el 80% de las infecciones son causadas por *Escherichia coli*, entre el 7% y el 8% por *Proteus mirabilis* y una proporción similar por *Staphylococcus saprophyticus*. El restante 5% en su mayoría es por enterococos. ⁽²⁾

S. saprophyticus es un comensal de la piel que se localiza en la superficie perineal, y menos a menudo en otras partes del cuerpo. Produce infección principalmente en mujeres jóvenes; con síntomas notables en las vías urinarias inferiores (frecuencia y disuria), hematuria y piuria intensa.

En la infección secundaria muchos casos son causados por otros bacilos gramnegativos, en especial los más resistentes a antibióticos relacionados con hospitales, como *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Pseudomona aeruginosa*. ⁽¹⁾

Las infecciones del tracto urinario (ITU) se diagnostican habitualmente por la sintomatología, la presencia de leucocitos y bacterias en el sedimento urinario y el cultivo microbiológico de la orina. Los síntomas clínicos pueden introducirnos a sospechar la existencia de la infección, al igual que la información suministrada por el análisis microscópico del sedimento urinario, pero esta sospecha debe ser confirmada, si es posible, mediante la demostración del agente etiológico. ⁽⁴⁾

Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



La bacteriuria se define como «significativa» cuando una muestra de orina recogida de la porción media de la micción con técnica correcta contiene $>10^5$ gérmenes por mililitro. La orina infectada suele contener una sola especie bacteriana. La orina contaminada tiene, en general, $<10^4$ gérmenes por mililitro y muestra frecuentemente más de una especie bacteriana. ⁽⁵⁾

En esta práctica se utilizará en la metodología tradicional medios de cultivo tradicionales y pruebas bioquímicas. Para la metodología moderna se utilizarán medios cromogénicos y sistema API. Ambas prácticas tendrán como control de calidad cepas ATCC.

El diseño de esta práctica está encaminada a que el alumno observe de manera gráfica y sencilla los pasos para realizar una correcta toma de muestra y, a su vez, sea reproducible en cualquier laboratorio clínico. Por tal motivo y con fines de control de calidad, las prácticas se dividirán en tres etapas: preanalítica, analítica y postanalítica:

Etapla preanalítica: se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma.

Etapla analítica se describen los métodos de laboratorio empleados en esta área, los cuales son explicados de manera clara, precisa y sencilla para ser llevados a cabo por el personal del área que lo consulte y lograr la correcta ejecución de las pruebas ya que en esta etapa se exigen técnicas estandarizadas, equipos adecuados bien calibrados y reactivos.

Etapla postanalítica se refieren los resultados obtenidos y se especifican en el informe del laboratorio, al cual se llega partiendo de que las fases preanalítica y analítica son realizadas con el rigor técnico y científico exigido por un sistema de gestión de la calidad.

II. Objetivos

- Realizar una correcta toma de muestra urinaria por chorro medio para aplicar los procedimientos para llegar al diagnóstico de infección del tracto urinario.
- Utilizar los procedimientos de los métodos tradicional y moderno para la identificación de microorganismos encontrados en infecciones del tracto urinario.
- Utilizar los agares cromogénicos y sistema API como métodos modernos de diagnóstico.
- Utilizar las cepas ATCC como control de calidad para el método tradicional y moderno.

Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



III. Medidas de bioseguridad⁽³⁾

De acuerdo a la OMS, el nivel de seguridad para un laboratorio de enseñanza básica e investigación es nivel 1, como el laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza, por lo tanto las medidas de seguridad para este nivel son:

- Las puertas del laboratorio se mantendrán cerradas
- No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan implicar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados.
- No se usará calzado abierto
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- Estará estrictamente prohibido pipetear con la boca.
- No se colocará ningún material en la boca ni se pasará la lengua por las etiquetas.
- Todos los derrames, accidentes y exposiciones reales o potenciales a materiales infecciosos se comunicarán al supervisor del laboratorio.
- Los líquidos contaminados deberán descontaminarse (por medios químicos o físicos).
- El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso y al final de cada jornada de trabajo.
- Realizar el lavado de manos de acuerdo a la técnica recomendada por la Secretaría de Salud antes de la toma de muestra. ⁽¹⁴⁾

Manipulación de desechos:

- Seguir los criterios estipulados por la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental – Salud ambiental Residuos peligrosos biológico-infecciosos Clasificación y especificaciones de manejo.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



IV. Propósito del examen

El diseño de esta práctica va encaminado al diagnóstico microbiológico de microorganismos causantes de enfermedad en el aparato urinario, empezando desde cómo realizar una correcta toma de muestra hasta la identificación de los microorganismos patógenos en el tracto urinario utilizando el método tradicional y moderno (medios cromogénicos y sistema API), teniendo como control de calidad las cepas ATCC.

V. Metodología

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y el método actual de diagnóstico (sistema API20 y medios cromogénicos). Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y posanalítica.

V.1. Fase preanalítica

Indicaciones y precauciones para la toma de muestra.

- Explicar al paciente en que consiste la recolección por chorro medio.
- Obtener la primera muestra de la mañana siempre que sea posible. Permitiendo que la orina permanezca en la vejiga durante toda la noche o por lo menos 4 h, de esta forma se disminuirá el número de resultados falsos negativos.
- En pacientes con sintomatología de ITU se pueden aceptar muestra en cualquier momento del día, teniendo en cuenta que sus recuentos pueden ser menores de 10^5 UFC/ml.
- No forzar la ingesta de líquidos para tratar de obtener la orina del paciente, lo cual puede diluir la orina y disminuir el recuento de colonias.
- Es preferible que el paciente no esté tomando antibióticos al momento de la toma de muestra, ya que los cultivos pueden resultar negativos.

Identificación de la muestra

Los recipientes donde se va a tomar la muestra deben estar identificados. Etiquetar la muestra con los siguientes datos:

- Nombre completo o iniciales empezando con el apellido, número de registro, fecha y tipo de muestra de que se trata.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

Equipo y reactivos

Material	Reactivos	Medios de cultivo	Pruebas bioquímicas	Reveladores para pruebas bioquímicas
<ul style="list-style-type: none"> - Bata - Portaobjetos - Cubreobjetos - Guantes - Cubrebocas - Mechero - Frasco de muestra estéril - Tiras reactivas - Microscopio - Papel especial para óptica - Asas de siembra limpias - Asa de 1 µl - Asa de 10 µl 	<ul style="list-style-type: none"> - Colorantes para tinción de Gram: ✓ Cristal violeta ✓ Lugol ✓ Alcohol-Cetona ✓ Safranina - Aceite de inmersión 	<ul style="list-style-type: none"> - Agar sangre - Agar chocolate - Agar cistina-lactosa-deficiente en electrólitos (CLED) - Agar McConkey - Agar S-110 o Agar Sal y Manitol - Agar Sabouraud o PDA - Agar Mueller Hinton 	<ul style="list-style-type: none"> - Citrato de Simmon´s - Fenilalanina desaminasa - LIA - MIO - SIM - TSI - Urea de Christensen - Caldo nitrato - Caldo nitrato con campana - Caldo RM-VP - O/F HughLeifson con/sin sello de nujol - Rojo de fenol + CHO´s 	<ul style="list-style-type: none"> - Cloruro Férrico - Alfa naftilamina - Ácido sulfanílico - Alfa naftol - KOH 30% - Prueba de la catalasa - prueba de la coagulasa - Reactivo de Kovacs



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



Procedimiento para la toma de muestra

Es responsabilidad del Jefe del Laboratorio de Microbiología, en la instrucción del personal de salud sobre la apropiada toma de muestra.

Técnica para Mujeres

- 1 La paciente debe quitarse la ropa interior.



- 2 Se lavará las manos cuidadosamente con agua y jabón, las enjuagará y las secará con una toalla limpia



- 3 Se separarán los labios mayores y menores, y los mantendrá separados en todo momento hasta que se haya recogido la orina.



- 4 Con un algodón enjabonado (A) se lava bien la vulva pasándola de delante hacia atrás, (B) se repetirá el proceso un total de 4 veces. *

(A)



(B)



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

5 Luego con dos gasas adicionales y agua o solución salina estéril lavar la vulva o enjuagar cuidadosamente con agua hervida para eliminar los restos de jabón



6 El frasco debe sujetarse para que no haga contacto con pierna, vulva o la ropa. **Solo debe abrirse en el momento de la micción** y sin tocar con los dedos su interior, coloque la tapa con el lado plano hacia abajo.



7 Iniciar el chorro de orina, desechando los 10 primeros mililitros, retener la micción, colocar el frasco e iniciar la 2º micción hasta la marca, retener y quitar el frasco para seguir con la micción normal.



8 Tapanlo, lavarse las manos y marcarlo en la tapa con nombre, edad y fecha.



- No utilizar jabones con desinfectantes (benzalconio, hexaclorofeno u otro similar), porque una sola gota de residuo puede esterilizar la orina antes de que la muestra llegue al laboratorio.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

Comentario: La recolección de muestras de orina de chorro medio debería ser evitada durante la menstruación

Técnica para hombres

1 El paciente debe bajarse el cierre o quitarse el pantalón y la ropa interior.



2 No circuncidados: Retraer completamente el prepucio y se mantendrá así en todo momento, hasta que se haya recogido la orina
Circuncidados, no requieren mayor preparación



3 Limpiar el glande con dos torundas embebidas en jabón neutro (A), prestando especial atención al meato uretral (B). *



(A)



(B)

4 Luego con dos gasas adicionales eliminar los restos de jabón enjuagándolo con agua hervida o solución salina estéril.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

5

El frasco debe sujetarse para que no haya contacto con el glande o la ropa del paciente. Solo debe abrirse en el momento de la micción sin tocar con los dedos su interior, coloque la tapa con el lado plano hacia abajo.



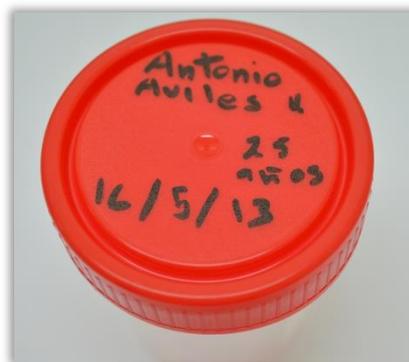
6

Iniciar el chorro de orina, desechando los 10 primeros mililitros, retener la micción, colocar el frasco e iniciar la 2° micción hasta la marca, retener y quitar el frasco para seguir con la micción normal.



7

Taparlo, lavarse las manos y marcarlo en la tapa con nombre, edad y fecha.



* No utilizar jabones con desinfectantes (benzalconio, hexaclorofeno u otro similar), porque una sola gota de residuo puede esterilizar la orina antes de que la muestra llegue al laboratorio.

NOTA: Nunca obtener orina del bacín o del urinario

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

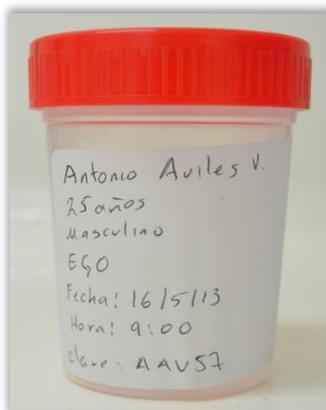
Fecha: / /

Transporte de la muestra

La orina debe ser transportada inmediatamente al laboratorio después de su obtención, pudiendo permanecer a temperatura ambiente hasta 2 h, Si la orina no puede ser procesada se puede conservar hasta 24 h en refrigeración después de su obtención. **NO CONGELAR** la muestra.

Rotulación de la muestra y solicitud enviada

Rotular el frasco de orina con información del paciente y la hora de su obtención. En el petitorio del laboratorio debe indicarse los siguientes datos mínimos: edad, sexo, tipo de muestra, tratamiento previo a las 24 h y otros datos de acuerdo a la población en estudio.



Comentario: Cuando se solicitan el cultivo para levaduras, inocular 10 µl por placa y mantener los cultivos de 48 h para detectar levaduras con recuentos bajos.

Criterios de rechazo

- Solicite una nueva muestra de orina cuando la muestra ha sido conservada por más de 2 hrs a temperatura ambiente.
- Toda muestra que no esté adecuadamente rotulada será rechazada.
- Rechazar orinas de 24 hrs de colección.
- Rechazar muestras de orina obtenidas con el mismo método de colección dentro de las 48 hrs de recepción de la primera muestra. Llamar a esta una muestra duplicada.
- No se recomienda el uso de bolsas colectoras de orina en pacientes pediátricos, por dificultades en su interpretación, salvo cuando los resultados son negativos.
- Rechazar muestras que llegan en frascos abiertos y derramados.

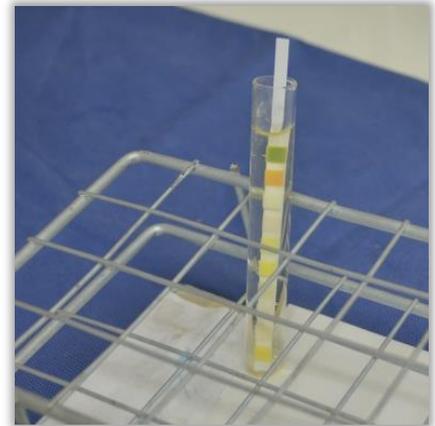
Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



V.2. FASE ANALITICA

UROANALISIS

- 1) Usar las tiras reactivas de Uroanálisis para la detección cualitativa y semicuantitativa de uno o más de analitos en orina
 - a) Mezclar a fondo la muestra de orina. Durante el análisis, la muestra debe estar a temperatura ambiente. La muestra no debería reposar durante más de 2 horas antes de su análisis.
 - b) Extraer una tira reactiva y volver a cerrar el envase inmediatamente con el mismo tapón que lleva un agente secante.
 - c) Sumergir la tira reactiva brevemente (aprox. 1 segundo) en la orina, mojando todas las zonas reactivas.
 - d) Al extraerla, rozar el canto lateral en el borde del recipiente o colocarlo en una gasa para eliminar el exceso de orina.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



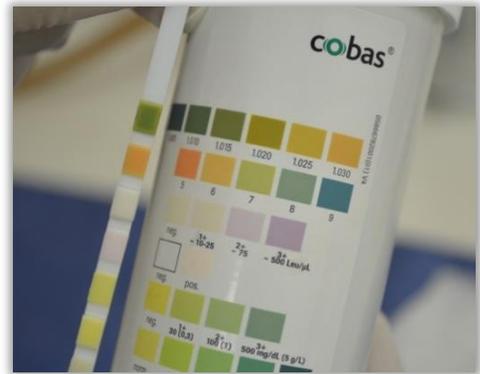
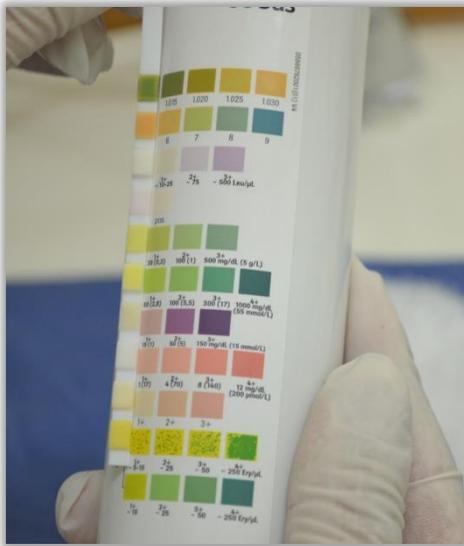
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

e) Al cabo de 60 segundos (para la zona de leucocitos, de 60-120 segundos), comparar los colores de reacción de las zonas reactivas de la tira con la escala de colores de la etiqueta y asignar el valor del bloque cromático más parecido al color observado. Compare la novena o la décima zona reactiva (de sangre) con ambas referencias cromáticas, puesto que para los eritrocitos y hemoglobina se indican dos escalas cromáticas diferentes

f) Los cambios de color que sólo aparecen en los bordes de las zonas reactivas o después de transcurridos más de 2 minutos, carecen de importancia diagnóstica.



2) Examen microscópico

A. Examen directo

- I. Una gota de orina fresca no centrifugada se coloca sobre un portaobjetos.
- II. Se tapa con un cubreobjetos y se examina con luz de poca intensidad con el objetivo seco fuerte (40x) de un microscopio clínico ordinario; esto puede revelar leucocitos, células epiteliales y bacterias si se encuentran más de 10^5 /mL.
- III. El hallazgo de 10^5 microorganismos/mL en una muestra de orina recolectada y examinada de manera apropiada es evidencia clara de infección activa del aparato urinario (piuria).

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:

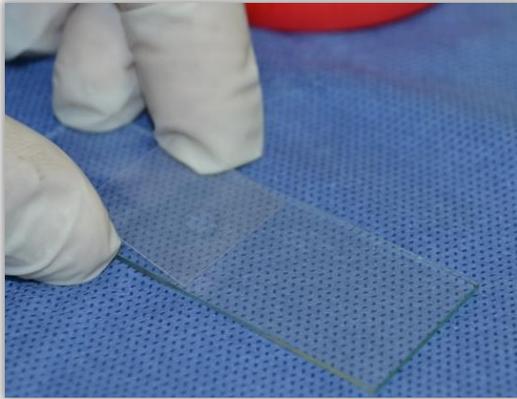


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

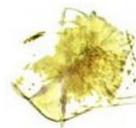
Fecha: / /

Los bacilos gramnegativos en un frotis de orina, de mitad del chorro no centrifugada teñido con Gram diagnostican infección en el aparato urinario.



B. Sedimento Urinario

- I. Centrifugar 10 ml de orina a 1500 rpm x 5 min.
- II. La presencia de más de 10 leucocitos por campo es indicativo de piuria.
- III. La presencia de otros elementos formados en el sedimento (*Trichomonas*, leucocitos, cilindros, eritrocitos), o la presencia de proteinuria, es de poca ayuda directa en la identificación específica de infecciones activas del aparato urinario. La presencia de muchas células epiteliales escamosas, lactobacilos o flora mixta en el cultivo sugiere recolección inapropiada de la orina.



NOTA: Reportar los hallazgos en el **ANEXO I**.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



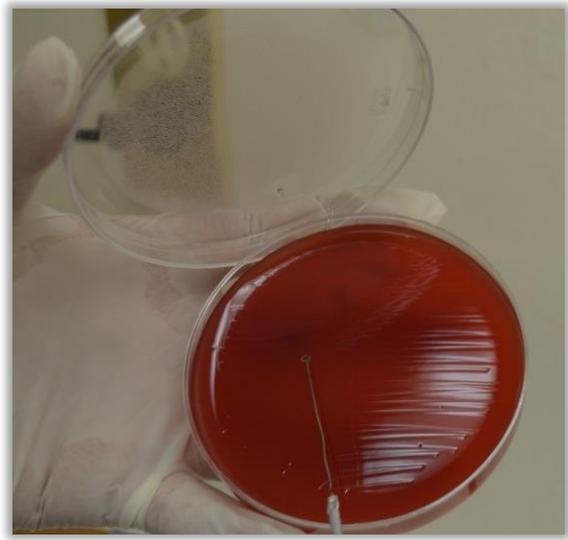
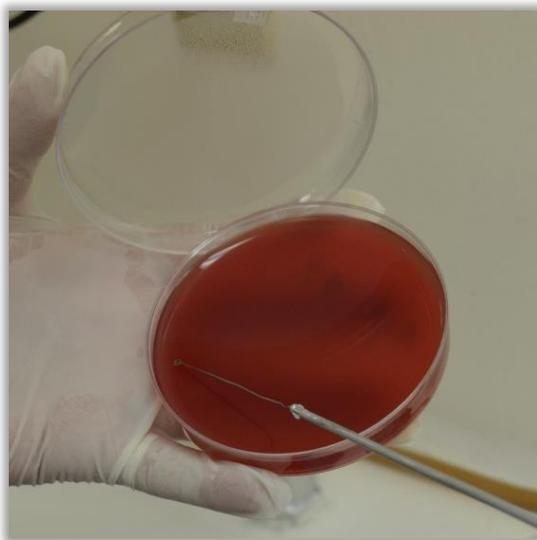
3) INOCULACIÓN PARA EL RECuento DE COLONIAS

Método de asa calibrada

- 1) Usando un asa calibrada de 1 μ l flameada y enfriada o una desechable calibrada de 1 μ l, mantener el asa verticalmente, y sumergir solamente el aro por debajo de la superficie de la muestra de orina, sin centrifugar y bien mezclada.



- 2) Llevar una asada de 1 μ l de la orina bien mezclada sobre la placa de agar sangre haciendo una línea recta a lo largo y por el centro del agar y estriar la orina mediante una serie de pases en ángulos de 90° a través del inóculo y después picar el agar.



Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:

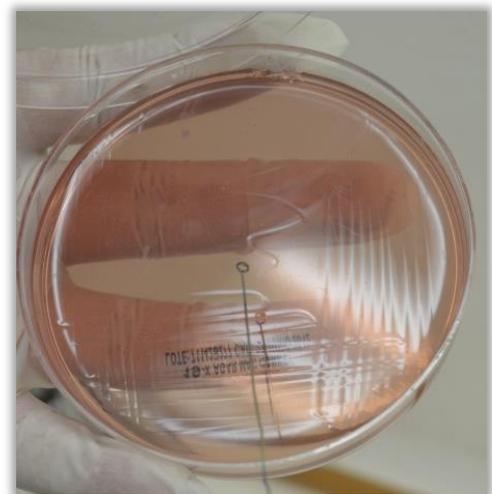
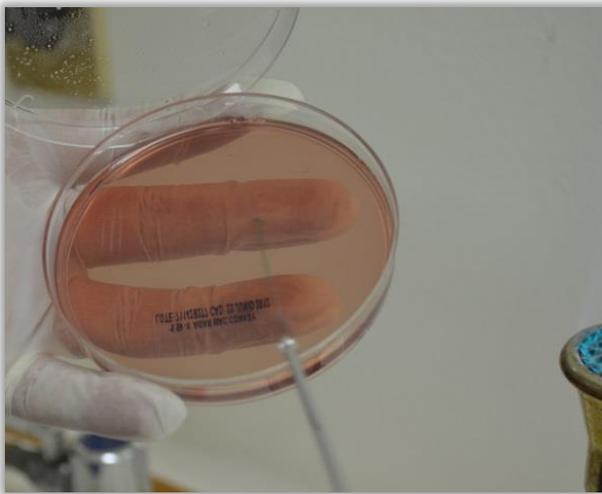


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

- 3) Incubar a 37° C por 18-24h. Posteriormente leer.
- 4) Para el aislamiento de colonias usar Agar McConkey y sembrar por aislamiento.
- 5) Incubar a 37° por 24h.
- 6) Cuando se utilizan 10 µl de muestra tomar una asada de orina bien mezclada para inocular y estriar en cuadrantes las placas de agar.



Lectura de las placas.

Observar si hay crecimiento en las placas y proceder al recuento de las colonias aisladas. El número de colonias obtenido corresponde a la cifra de microorganismos presentes en 1 µL de orina al haber utilizado un asa calibrada para hacer la siembra. Si el recuento es significativo (> 10⁵ UFC/ml), proceder a la identificación del microorganismo.

Para los cultivos positivos, examinar los medios de cultivo para la cuantificación y tipo morfológico de los organismos presentes.

- Con un asa de 1 µl, una colonia equivale a 1,000 UFC/ml.
- Con un asa de 10 µl, una colonia equivale a 100 UFC / ml.

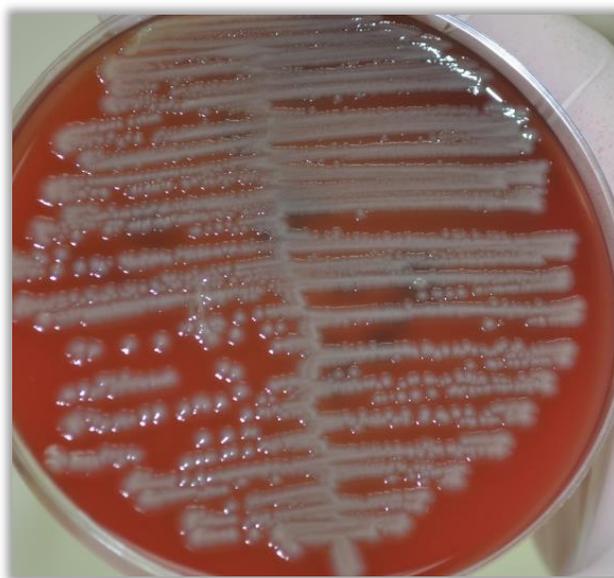
Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO	Página 18 de 52
	Facultad de Estudios Superiores Zaragoza	
	Química Farmacéutico Biológica	
	Módulo: Microbiología Médica	
UNIDAD 5: Aparato genitourinario	Práctica: Urocultivo	Fecha: / /



Cuando las colonias son demasiado numerosos para contar.

- El máximo recuento usando el asa de 1 µl es $>10^5$ UFC/ ml.
- El máximo recuento usando el asa de 10 µl es $>10^4$ UFC/ml.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UROCULTIVO

Tabla 1. Descripción general del método tradicional y moderno.

MÉTODO TRADICIONAL		MÉTODO MODERNO DE DIAGNÓSTICO	
Origen de la muestra a analizar		Origen de la muestra a analizar	
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
<p>La inoculación de orina se realizara por asilamiento en los medios de cultivo:</p> <ul style="list-style-type: none"> * Agar sangre * Agar cistina-lactosa-deficiente en electrolitos (CLED) * Agar McConkey * Agar S-110 o Agar Sal y Manitol * Agar Sabouraud o PDA <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Se incuban de 35-37° C durante 18 a 24 horas.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Después de la incubación observar la morfología colonial para cada medio de cultivo sembrado</p> <p>En las colonias de agar sangre observar el tipo de hemólisis y realizar las pruebas de catalasa y coagulasa</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Realizar la tinción de Gram.</p> <p style="text-align: center;">↓</p>		<p style="text-align: center;">Medios Cromogénicos</p> <p>La inoculación de orina se realizara por asilamiento en los medios cromogénicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • CPS ID 3 • Candida ID <p>Incubar de 35 a 37°C de 24 a 48 hrs.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Observar las colonias asiladas, comparar con la literatura y reportar.</p> <p>Realizar el llenado de las galerías de API 20 con una cepa problema en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • API 20 E • API 20 C AUX 	

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



Realizar las siguientes pruebas bioquímicas:

- SIM
- MIO
- TSI
- LIA
- Urea
- Citrato de Simmons
- Medio Manitol Hugh-Leifson con sello
- Medio Manitol Hugh-Leifson sin sello
- Caldo nitrato
- RM-VP

Incubar a 37° C por 18-24h. Posteriormente leer.



En las colonias formadas en agar papa dextrosa realizar la prueba de tubo germinal.



Efectuar Antibiograma de bacterias patógenas encontradas y reportar.

A. Descripción del método tradicional

1) Con una asa bacteriológica esterilizada, tomar una asada directamente del frasco de orina y sembrar por aislamiento en 3 o 4 cuadrantes en los siguientes medios:

- Agar cistina-lactosa-deficiente en electrólitos (CLED)
- Agar S-110 o Agar Sal y Manitol
- Agar Sabouraud o PDA

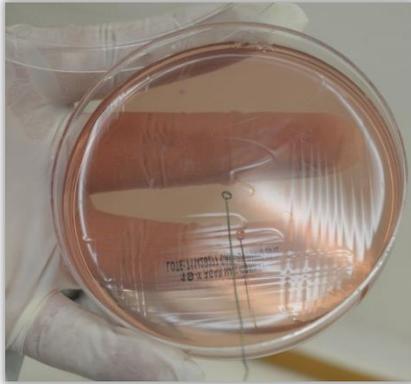
Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /



Agar McConkey



Agar Sal y Manitol



Agar Sabouraud

2) Incubar de 35-37° C durante 18 a 24 horas



3) Observar la morfología en cada uno de los medios inoculados y seleccionar el crecimiento del posible patógeno.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:

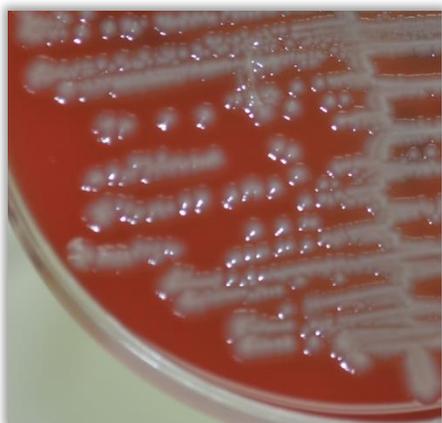


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

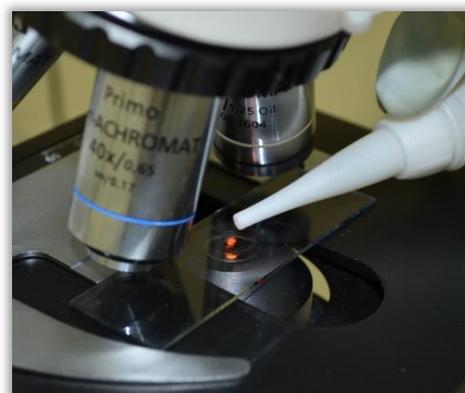
Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

- 4) De acuerdo al punto 3 de Urianálisis, observar en la placa de agar sangre si hubo hemólisis y realizar la prueba de catalasa y coagulasa de una colonia aislada.



- 5) Realizar la tinción de Gram de una cepa aislada los medios inoculados. Observar la preparación teñida en el microscopio, utilizando objetivos: seco débil (40x) e inmersión (100x).



- 6) Realizar la inoculación en las pruebas bioquímicas, a partir de colonias bien aisladas de los medios de cultivo utilizados.

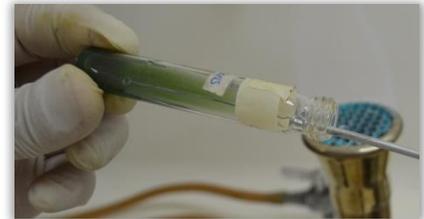
Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



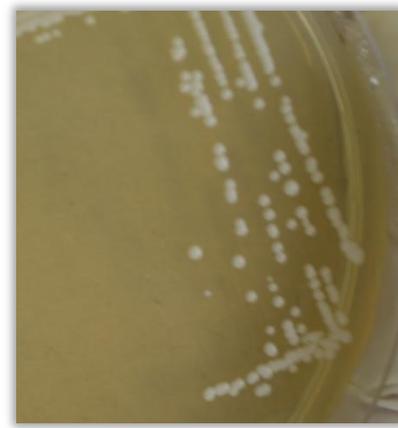
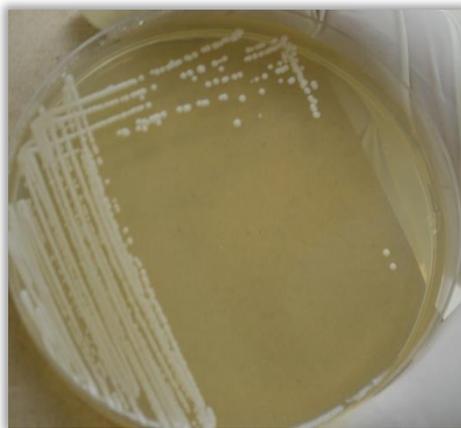
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /



- 7) Incubar a 37° C por 18-24h. Posteriormente leer las pruebas bioquímicas.
- 8) En las colonias formadas en agar Sabouraud realizar la prueba de tubo germinal. (ANEXO II)



- 9) Reportar todos los resultados en los formatos para el método tradicional. (ANEXO III)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



B. Descripción del método moderno

MEDIOS CROMOGENICOS

Material	Medios de cultivo: Agar cromogénico
Asa bacteriológica	Crom Candida ID
Guantes	Crom CPS ID
Cubrebocas	Crom COS ID
Mechero bunsen	



1) Tomar una asada directamente del frasco con orina y sembrar por aislamiento en tres o cuatro cuadrantes en los medios cromogénicos:

- COS ID
- CPS ID
- Candida ID



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

2) Incubar las placas de forma invertida en atmósfera aerobia de 35 a 37°C de 24 a 48 hrs



3) Efectuar la lectura de las placas y anotar el resultado correspondiente en la tabla de resultados para medios cromogénicos (**ANEXO III**)



Crom CPS / *Proteus mirabilis*



Crom Columbia / *E. coli*



Crom Candida / *Candida albicans*

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



API 20E

Material

Reactivos para revelado de pruebas bioquímicas

Kit API 20 E	-FeCl ₃ 10% (TDA)
Jeringa de 1ml o pipeta Pasteur	-KOH al 40% (VP1)
Guantes	-Naftol (VP2)
Cubrebocas	-Kovacs o dimetilamino-cinamaldehido o reactivo de James.
	-Tetrafenilendiamina
	-NIT 1 y NIT 2
	-Zn



Metodología

Preparación de la tira

- 1) Prepare una caja de incubación (bandeja y tapa) y distribuir aproximadamente 5 ml de agua destilada o agua desmineralizada (o cualquier agua sin aditivos o productos químicos que puedan liberar gases como Cl₂, CO₂) en el panel de pocillos de la bandeja para crear una atmósfera húmeda.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

- 2) Escribir la referencia de las cepas en la lengüeta lateral de la cámara. **(No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar extraviada durante la manipulación).**



- 3) Sacar una galería API 20 E de su envase individual.



- 4) Colocar la galería en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo

- 5) Abrir una ampolla de API NaCl 0,85% Medium (5 ml) o una ampolla de API Suspensión Medium (5 ml) o utilizar un tubo que contenga 5 ml de agua fisiológica estéril o de agua destilada estéril, sin aditivos



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:

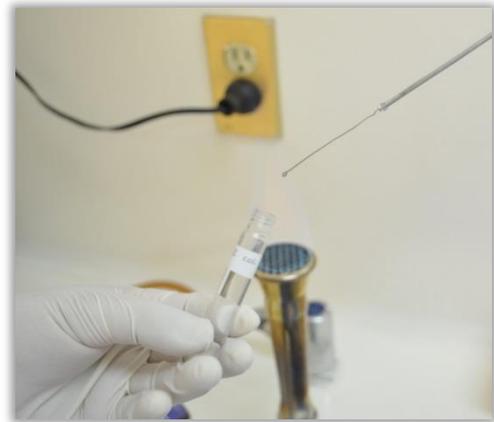
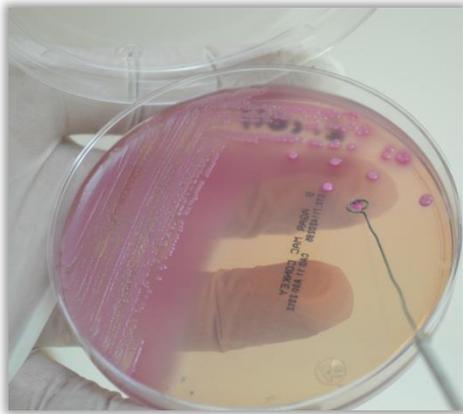


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

- 6) A partir de una colonia bien aislada del microorganismo, hacer una suspensión en 5mL de solución salina (0.85% de NaCl) o 5 mL de agua estéril. Utilizar preferentemente cultivos jóvenes (18-24 horas).



Inoculación de la galería

- 7) Con la ayuda de la jeringa o pipeta Pasteur, introducir la suspensión bacteriana en los tubos de la galería (para evitar la formación de burbujas en el fondo de los tubos, colocar la punta de la jeringa o pipeta Pasteur sobre la pared de la cúpula, inclinando ligeramente la cámara de incubación hacia delante.



- 8) Llenar el tubo y la cúpula de los pocillos CIT*, VP*, GEL* con la suspensión de bacterias evitando la formación de burbujas y apoyando la punta de la jeringa sobre el borde de la cúpula. Cada cúpula se llena hasta obtener un nivel horizontal o ligeramente convexo, nunca cóncavo para generar resultados correctos.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /



- *CIT= utilización del citrato
- *VP= producción de acetoína (VogesProskauer)
- *GEL= gelatinasa (gelatina)

9) Para las otras pruebas, llenar únicamente los tubos (no las cúpulas)

10) Cubrir con parafina las cúpulas de los pocillos ADH*, LDC*, ODC*, URE*, H₂S* para obtener anaerobiosis.



- ADH= Arginina-dihidrolas
- URE= Ureasa
- LDC =Lisina Decarboxilasa
- H₂S= Producción de H₂S
- ODC=OrnitinaDecarboxilasa

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

11) Poner la tira en su propia cámara húmeda de incubación y cerrar las cámaras de incubación.

12) Incubar a 37° C durante 18-24 horas



Lectura e interpretación

13) Tras la incubación se anotan los resultados inmediatos, es decir, los que no requieren ser revelados. La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con las tablas de lectura que proporciona el proveedor, y anotando el resultado como positivo o negativo. (Anexo IV)



14) Determinadas pruebas requieren ser reveladas, para el revelado se tienen que tener en cuenta dos criterios:

- Si la glucosa da negativo y los test positivos son dos o menos de dos, no hay que añadir reactivos.
- Si la glucosa es positiva y/o tres o más test son positivos se revelan los test que requieren reactivos:

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

TDA: añadir una gota de FeCl₃ 10% (una gota del reactivo TDA)
Positivo= color marrón oscuro



VP: añadir una gota del reactivo VP1 y una gota del reactivo VP2

Positivo= color rosa fuerte o rojo en 5-10 minutos.

Negativo= color rosa débil después de los 10 min.



IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs¹ o dimetilamino-cinamaldehido². O reactivo de James³ dependiendo del reactivo utilizado pueden darse las posibilidades siguientes:

¹Positivo= aparece un anillo rosa-rojo.

²positivo= color de rosa a morado en todo el pocillo.

³ positivo= rosa



Oxidasa: es la prueba número 21 y se realiza de forma independiente a la tira. Añadir una gota del reactivo (tetrafenilendiamina) recién preparado.
Positivo= color azul que aparece

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



inmediatamente.

Reducción de los nitratos en nitritos (NO₂) y en nitrógeno (N₂): añadir una gota de los reactivos NIT 1 y NIT 2 en el tubo GLU. Esperar de 2 a 5 minutos.



Positivo (NO₂)= coloración roja

Negativo= coloración amarilla, puede deberse a la producción de nitrógeno (eventualmente señalado por la presencia de micro-burbujas): agregar de 2 a 3 mg de reactivo Zn en la cúpula GLU. Después de 5 minutos, si el color sigue siendo **amarillo**, indica una reacción **positiva** (N₂)

Negativo= coloración naranja-rojizo de la cúpula, ya que los nitratos aún presentes en el tubo han sido reducidos a nitritos por el Zinc.



15) Del conjunto de reacciones y resultados se obtiene un perfil numérico de 7 cifras. Los pocillos están separados en grupos de tres: en total tenemos 7 grupos de tres tubos o triplete (el test número 21 corresponde al test de la oxidasa).

Para obtener el perfil numérico de 7 cifras, a cada pocillo se le dará el valor 0, 1, 2 ó 4, de acuerdo a los siguientes criterios:

- Si la reacción es negativa en un pocillo se pone 0.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

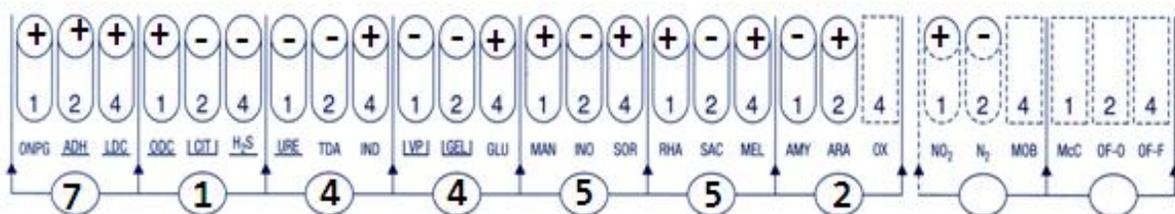
Fecha: / /

- Si la reacción es positiva en el primer pocillo se escribe 1, si es positiva en el segundo pocillo se escribe 2 y si es positivo en el tercero se escribe 4 obteniendo un triplete.
- Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata.^{9,10,11}

16) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato para API 20 E (Anexo IV).



 <p>ONPG GADH LDC</p>	 <p>ODC CIT H2S</p>	 <p>URE TDA IND</p>
 <p>VP GEL GLU</p>	 <p>MAN INO SOR</p>	 <p>RHA SAC MEL</p>
 <p>AMY ARA OX NO2 N2</p>	<p>PERFIL NUMERICO DE 7 CIFRAS: 7144552</p> <p>IDENTIFICACIÓN:</p>	



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



API 20C AUX

Metodología

Material

Kit API 20C AUX
Micropipeta de 100µL
Solución fisiológica de NaCl al 0.85%
Guantes
Cubrebocas

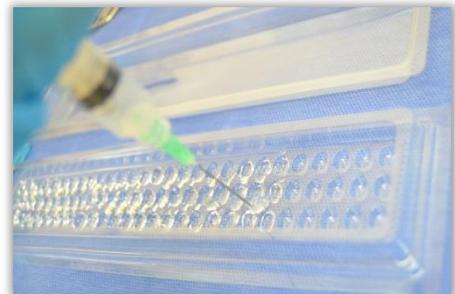
Reactivos

Patrón 2 de MacFarland
Ampolla API C Medium



Preparación de la galería

- 1) Reunir fondo y tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 mL de agua destilada o desmineralizada [o cualquier agua sin aditivos ni derivados susceptibles de liberar gases (Ej.: Cl₂, CO₂, etc.)] en los alvéolos para crear una atmósfera húmeda.



- 2) Inscribir la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara. (**No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar desplazada durante la manipulación**).



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

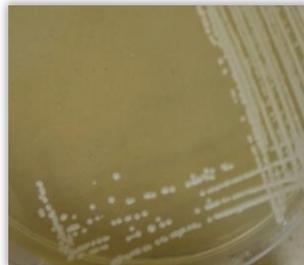
3) Retirar la galería de su envase individual y depositarla en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo.

4) Abrir una ampolla de API NaCl 0,85% Médium o una solución estéril que contenga la misma solución sin aditivos.



5) A partir de un cultivo joven de la levadura a identificar, realizar una suspensión de levaduras de turbidez igual a la del patrón 2 de McFarland. Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación.



6) Abrir una ampolla de API C Medium:

- a) Introducir la ampolla en el protector de ampolla.
- b) Sujetar verticalmente el conjunto en una mano (tapón blanco hacia arriba).
- c) Presionar a fondo el tapón blanco.
- d) Ejercer una presión horizontal con el pulgar en la parte estriada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.
- e) Sacar la ampolla del protector de ampolla y conservarla para un próximo uso.
- f) Retirar delicadamente el tapón

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /



Ampolla y protector



a)



b) y c)



d)



d)



e) y f)

- 7) Con la ayuda de la micropipeta, transferir 100 microlitros de la suspensión de levaduras a una ampolla de C Medium y homogeneizar con la micropipeta evitando la formación de burbujas.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



Inoculación de la galería

8) Llenar las cúpulas con la suspensión obtenida en el API C Médiu. Evitar la formación de burbujas apoyando la punta de la micropipeta sobre el borde de la cúpula. Cuidar que se cree un nivel horizontal o ligeramente convexo pero jamás cóncavo. Las cúpulas parcial o excesivamente llenas son causa de resultados incorrectos.



9) Volver a cerrar la cámara de incubación e incubar 48-72 horas (± 6 horas) a $29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.



Lectura de la galería

Después de 48 horas de incubación, o de 72 horas (si los ensayos, no resultan muy claros después de 48 horas), observar el crecimiento de las levaduras comparativamente con la cúpula 0, testigo negativo. Una cúpula **con mayor turbidez** que la de control nos indica una reacción **positiva**, se leerá por tripletes y se anotará en la hoja de resultados.

Con el fin de evitar toda contaminación durante una reincubación, levantar la tapa exclusivamente durante el período de lectura.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



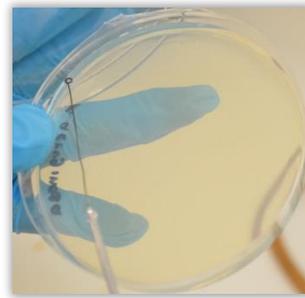
Susceptibilidad a antibióticos

Equipo y reactivos

Material	Medios de cultivo
Bata	Agar Mueller Hinton
Asa bacteriológica	
Multidiscos Gram positivos y Gram negativos	
Guantes	
Cubrebocas	
Mechero	

Procedimiento

- 1 En una placa de Müller Hinton inocular en todo el medio el microorganismo identificado, a partir de una colonia perfectamente aislada.



- 2 Colocar los multidiscos sobre el agar inoculado e incubar la placa a 35°C por 24 horas



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

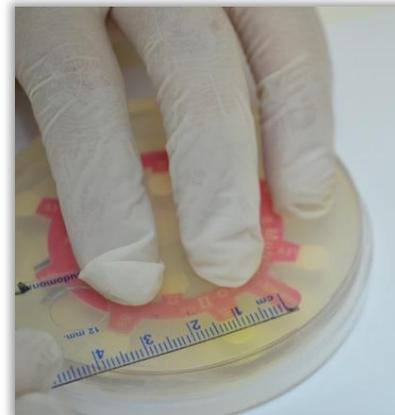
FECHA:

FECHA:



3

Realizar la lectura del antibiograma, utilizando la hoja para susceptibilidad a antibióticos suministrada por el proveedor. ⁹ (Anexo V)



4

Anotar los resultados y en el formato de “Informe de Laboratorio”. Se colocará el nombre del microorganismo patógeno identificado, así como la susceptibilidad a antibióticos en dicho formato. (Anexo VI).

V.3 FASE POSTANALITICA

Los resultados e interpretación se anotaran en el formato de Laboratorio de Microbiología Médica (Anexo VI). Se colocará el nombre del microorganismo(s) patógeno(s) identificado(s), así como la susceptibilidad a antibióticos en dicho formato.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



VI. Bibliografía

1. Duerden, B.I. Microbiología de Enfermedades Infecciosas. México. Limusa SA de CV; 1993.
2. Forbes B. Diagnostico Microbiológico Bailey y Scott. 12º Edición. Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2009.
3. OMS. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3º Edición. Ginebra: 2005.
4. García, Pedro y col. Microbiología Clínica Aplicada. 3º Edición. España. Ed. Díaz de Santos: 1992.
5. Mims, C.A. Microbiología Médica. España. Mosby / Doyma Libros; 1995
6. Soto J.Guillén A. Rojas R. Manual de procedimientos para el Cultivo de orina (urocultivo). Sociedad Científica Peruana de Microbiología. 2012
7. Manual de Microbiología Médica. Aparato Genitourinario. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. 2008.
8. Biomeriux. Medios cromogénicos chromID. 2012. Disponible en: http://www.biomerieux.com.mx/servlet/srt/bio/mexico/dynPage?doc=MEX_CLN_PRD_G_PRD_CLN_35. Acceso 26 enero de 2013.
9. Koneman E., Allen S., Janda W., Schreckenberger P., Winn W. Diagnóstico microbiológico texto y atlas color. 5ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2002.
10. API20 E. Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes. 2009; [56 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/4.pdf>
11. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid; Médica Panamericana; 2005
12. API Staph. Sistema de identificación de estafilococos, micrococos y géneros relacionados. 2009. [44 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/6.pdf>
13. Multidiscos^{MR} II. Biorad 2010; [2 páginas]. Disponible en: <http://sdpmexico.com.mx/files/MULTIDISCOS.pdf>
14. Técnica de lavado de manos. Disponible en: http://calidad.salud.gob.mx/calidad/seguridad_paciente.html

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO I. Reporte de Uroanálisis

Fecha				
Clave				
Edad / sexo				
Volumen (mL)				
Color				
Aspecto				
Densidad				
pH				
Leucocitos				
Nitritos				
Proteínas				
Glucosa				
Cetonas				
Urobilinógeno				
Bilirrubina				
Sangre / Hb				
Examen microscópico				
Cel. epiteliales				
Eritrocitos				
Leucocitos				
Bacterias				
Levaduras				
Cilindros				
Oxalato de calcio				
Fosfato amorfo				
Ácido Úrico				
Cristales colesterol				
Fosfato triple				
Otros				

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO II. Determinación de *Candida albicans*

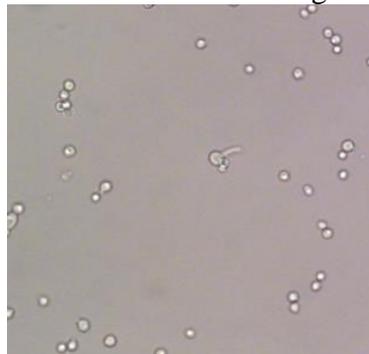
1. Producción de Clamidioesporas.

- Divida por la mitad la caja de agar harina de maíz y en cada mitad siembre cada cepa en forma de "Z".
- Incube a 37° C por 24 a 48 horas.
- Tome una pequeña muestra de cada mitad en un portaobjetos y agregue una gota de solución salina.
- Observe al microscopio y reporte el tipo de desarrollo.



2. Producción de Tubo Germinal.

- En dos tubos de ensaye coloque aproximadamente 1 mL de suero de conejo, carnero o humano.
- Inocule una asada de cada cepa de hongo.
- Incube a 35° C durante 3 horas.
- Al término de la incubación, tome una gota de la solución de cada tubo, en su respectivo portaobjetos y se coloca un cubreobjetos.
- Observe al microscopio en busca del desarrollo del tubo germinal y reporte el resultado.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

ANEXO III. Método tradicional

Formato de resultados.

TINCIÓN DE GRAM

CLAVE CEPA	FORMA INDIVIDUAL	AGRUPACIÓN	TIPO DE GRAM
1			
2			
3			
4			
5			
6			

MORFOLOGÍA COLONIAL

CLAVE CEPA	1	2	3	4
MEDIO DE CULTIVO				
TAMAÑO				
FORMA				
BORDE				
COLOR				
SUPERFICIE				
ELEVACIÓN				
LUZ REFLEJADA				
LUZ TRANSMITIDA				
CONSISTENCIA				
OTRAS ¹				

¹ Características que dependen del medio de cultivo: hemólisis, acidificación del medio, reducción de sales, entre otras.

PRUEBAS ESPECIALES (positivo o negativo)

CLAVE CEPA			
PRODUCCION DE CLAMIDIOSPORAS			
PRODUCCION DE TUBO GERMINAL			

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

CARACTERÍSTICA	Clave de la cepa						CARACTERÍSTICA	Clave de la cepa					
	1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6
ÁCIDO DE: ADONITOL							MOVILIDAD						
ARABINOSA							PRODUCCIÓN DE: H ₂ S						
GLUCOSA							INDOL						
INOSITOL							UREASA						
INULINA							FENILALANINA DESAMINASA						
LACTOSA							DESAMINACIÓN DE: LISINA						
MALTOSA							DESCARBOXILACIÓN DE: LISINA						
MANITOL							ORNITINA						
SACAROSA							CITRATO COMO FUENTE DE C						
SALICINA							REDUC. DE NO ₃ A NO ₂						
SORBITOL							DE NO ₂ A N ₂						
TREHALOSA							LECHE TORNASOL ³						
O/F GLUCOSA ²							O/F MANITOL ²						
RM / VP							O/F MALTOSA ²						
TSI (SUP/FONDO)							RED. DEL AZUL DE METILENO.						

² O = Oxidativo F = Fermentativo N = No utiliza el carbohidrato

³ A = Ácido C = Coágulo F = Fermentativo G = Gas P = Peptonización
K = Alcalino R = Reducción

PRUEBAS ESPECIALES

PRUEBA	Clave de la cepa						PRUEBA	Clave de la cepa					
	1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6
PROD. DE: CATALASA							CAMP						
COAGULASA							SOLUBILIDAD EN BILIS						
OXIDASA							CRECIMIENTO: 4 °C						
SENS. A: BACITRACINA							42 °C						
KANAMICINA							PH = 6						
OPTOQUINA							PH = 9						
PROD. DE: PIOCIANINA							NACL 7.5 %						
FLUORESCÉINA							TELURITO 0.2 %						
REDUCCIÓN DE TELURITO													

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO IV. Método Moderno

Formato de resultados Medio cromogénico

MORFOLOGÍA COLONIAL

CLAVE CEPA				
MEDIO CROMOGÉNICO				
TAMAÑO				
FORMA				
BORDE				
COLOR				
SUPERFICIE				
LUZ REFLEJADA				
LUZ TRANSMITIDA				
CRECIMIENTO				
OTRAS ¹				

¹ Características que dependen del medio de cultivo: halos.

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA

CLAVE CEPA				
MEDIO CROMOGÉNICO				
M.O(S) IDENTIFICADO(S)				

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 E

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANTIDAD (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
ONPG	2-nitro-fenil- β Dgalactopiranosida	0.223	β -galactosidasa (orto-nitrofenil- β Dgalactopiranosidasa)	Incoloro	Amarillo (1)
ADH	L-arginina	1.9	Arginina-dihidrolasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
LDC	L-lisina	1.9	Lisina Decarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
ODC	L-ornitina	1.9	OrnitinaDecarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
CIT	Citrato trisódico	0.756	Utilización del Citrato	Verde pálido/amarillo	Azul-verde/azul (3)
H2S	Tiosulfato sódico	0.075	Producción de H ₂ S	Incoloro/grisáceo	Depósito negro/fin liserado
URE	Urea	0.76	Ureasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
TDA	L-triptófano	0.38	Triptófano Desaminasa	<u>TDA/ inmediato</u>	
				Amarillo	Marrón-rojizo
IND	L-triptófano	1,9	Producción de Índol	<u>James/ inmediato</u>	
				Incoloro Verde pálido/amarillo	Rosa
VP	Piruvato sódico	1,9	Producción de acetoina (VogesProskauer)	<u>VP1 + VP2/10 min</u>	
				Incoloro/rosa pálido	Rosa/rojo (5)
GEL	Gelatina (origen bovino)	0.6	Gelatinasa (Gelatina)	No difusion	Difusion pigmento negro
GLU	D-glucosa	1,9	Fermentación/oxidación (Glucosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo/amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	1,9	Fermentación/oxidación (Manitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
INO	Inositol	1,9	Fermentación/oxidación (Inositol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentación/oxidación (Sorbitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1,9	Fermentación/oxidación (Rhamnosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1,9	Fermentación/oxidación (sacarosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1,9	Fermentación/oxidación (Melibiosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:

**UNIDAD 5: Aparato genitourinario****Práctica: Urocultivo**

Fecha: / /

AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación/oxidación (Amygdalina) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,9	Fermentación/oxidación (Arabinosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

- (1) Un color amarillo muy ligero también implica resultado positivo.
- (2) La aparición de un color naranja tras 36-48 H de incubación debe considerarse negativa.
- (3) Lectura en la cúpula (zona aerobia).
- (4) La fermentación comienza en la parte inferior de los tubos, mientras que la oxidación empieza en la cúpula.
- (5) Una ligera coloración rosa, que aparece tras 10 minutos, debe ser leída como negativa.

TABLA DE COMPOSICIÓN DE LA GALERÍA API 20 AUX

ENSAYOS	SUBSTRATOS
0	Ninguno
GLU	D-GLUcosa
GLY	GLYcerol
2KG	2-ceto-Gluconato-cálcico
ARA	L-ARAbinosa
XYL	D-XYLosa
ADO	ADOnitol
XLT	XyLiTol
GAL	D-GALactosa
INO	INOsitol
SOR	D-SORbitol
MDG	Metil- α D-Glucopiranosida
NAG	N-Acetil-Glucosamina
CEL	D-CELlobiosa
LAC	D-LACtosa
MAL	D-MALtosa
SAC	D-SACarosa
TRE	D-TREhalosa
MLZ	D-MeLeZitosa
RAF	D-RAFinosa

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

ANEXO V. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN MM

ANTIBIÓTICO	CONCENTRACION	R ($< 0 =$)	I	MS	S ($> 0 =$)
AMIKACINA	30 µg	14	15 - 16		17
AMPICILINA	10 µg				
<i>ENTEROBACTERIACEAE</i>		11	12 - 13		14
<i>STAPHYLOCOCCUS SPP</i>		28			29
ENTEROCOCOS		16		($> 0 =$)	
OTROS ESTREPTOCOCOS		21		22 - 29	30
CARBENICILINA	100 µg				
ENTEROBACTERIACEAE		17	18 - 22		23
<i>PSEUDOMONAS SPP</i>		13	14 - 16		17
CEFALOTINA	30 µg	14	15 - 17		18
CEFOTAXIMA	30 µg	14		15 - 23	23
CEFTAZIDIMA	30 µg	14	15 - 17		18
CEFTRIAXONA	30 µg	13		14 - 20	21
CEFUROXIMA	30 µg	14	15 - 17		18
CLORANFENICOL	30 µg	12	13 - 17		18
DICLOXACILINA	1 µg				
<i>Staphylococcus spp</i>		10	11 - 12		13
PENICILINA VS NEUMOCOCOS		19			20
ENOXACINA	10 µg	14	15 - 17		18
ERITROMICINA	15 µg	13	14 - 17		18
GENTAMICINA	10 µg	12	13 - 14		15
NETILMICINA	30 µg	12	13 - 14		15
NITROFURANTOÍNA	300 µg	14	15 - 16		17
PEFLOXACINA	5 µg	14	15 - 22		23
PENICILINA	10 U				
<i>Staphylococcus spp</i>		28			29
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		19			20
ENTEROCOCOS		14		($> 0 =$)15	
OTROS ESTREPTOCOCOS		19		20 - 27	28
TETRACICLINA	30 µg	14	15 - 18		19
TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	25µg	10	11 - 15		16

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

FORMATO DE REPORTE SE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS (ANTIBIOGRAMA)

CLAVE CEPA	_____	R, I, S
AMIKACINA	AK	_____
AMPICILINA	AM	_____
CARBENICILINA	CB	_____
CEFALOTINA	CF	_____
CEFOTAXIMA	CTX	_____
CEFTAZIDIMA	CAZ	_____
CEFTRIAXONA	CRO	_____
CEFUROXIMA	CXM	_____
CLORANFENICOL	CL	_____
DICLOXACILINA	DC	_____
ENOXACINA	ENX	_____
ERITROMICINA	E	_____
GENTAMICINA	GE	_____
NETILMICINA	NET	_____
NITROFURANTOÍNA	NF	_____
PENICILINA	PE	_____
PEFLOXACINA	PEF	_____
TETRACICLINA	TE	_____
TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	SXT	_____

R: Resistente
I: Intermedio
S: Sensible

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 51 de 52

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: / /

ANEXO VI



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Laboratorio de Microbiología Médica



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE _____

FOLIO _____

EDAD _____ SEXO _____

LOCALIDAD _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE _____

ESTUDIOS REALIZADOS

OBSERVACIONES

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

SELLO DE LABORATORIO

Elaboró: Q.F.B. Antonio
Avilés Villada

Revisó: M en C. Roberto Cruz González
Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA:

FECHA:

FECHA:



ANEXO VII. CUESTIONARIO

1. ¿La redacción de las etapas de control de calidad dentro del manual son?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
2. ¿Qué te parece la estructura de la práctica? :
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
3. ¿Cómo consideras los apartados que conforman la práctica?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
4. ¿Cómo consideras los aspectos de bioseguridad contemplados en la práctica?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
5. ¿Cómo consideras las imágenes con respecto a la redacción de los procedimientos?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
6. ¿Cómo consideras las tablas de resultados del anexo?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
7. ¿Cómo consideras la redacción del procedimiento del método tradicional?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
8. ¿Cómo consideras la redacción del procedimiento del sistema API?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
9. ¿Cómo consideras la redacción del procedimiento del medio cromogénico?
Excelente () Bueno () Regular () Malo ()
10. ¿Qué propondrías para mejorar el diseño de la práctica?

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada	Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez	Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA:	FECHA:	FECHA:

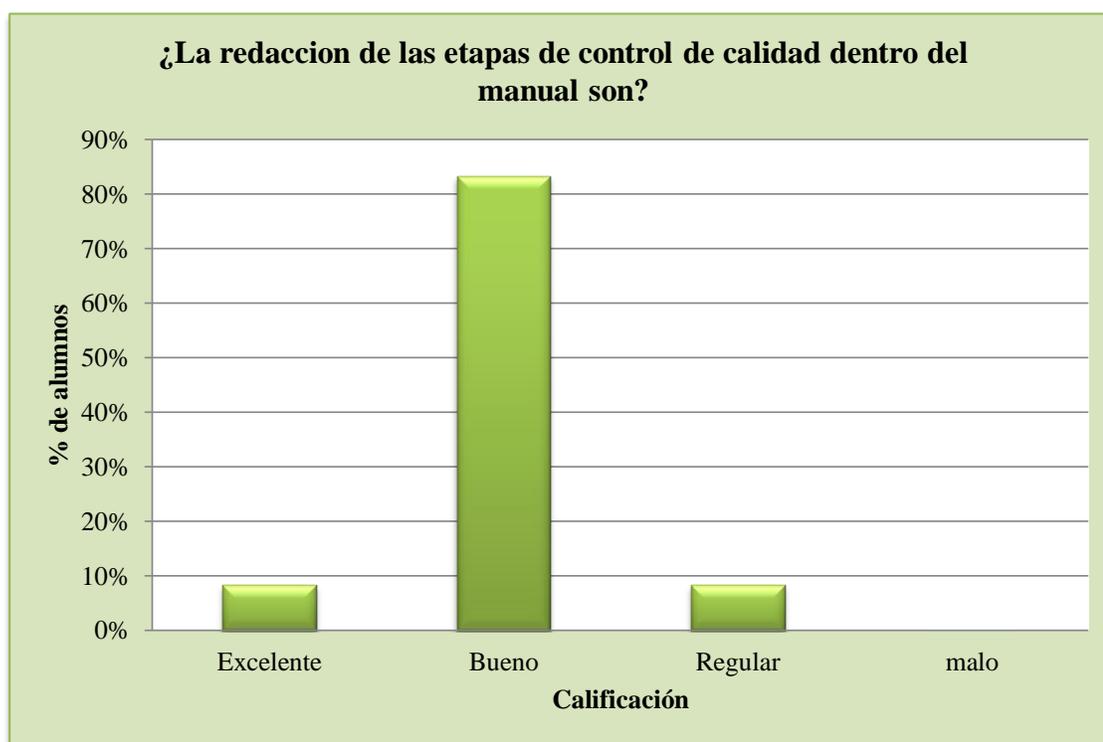
Resultados de la Validación de la Práctica Diagnóstico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Mediante Urocultivo

Cuadro 1. Resultado del cuestionario aplicado a los alumnos de Microbiología Médica

Preguntas	Calificación								% Total
	Excelente		Bueno		Regular		Malo		
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%	
Pregunta 1	1	8.3	10	83.3	1	8.3	0	0	100
Pregunta 2	4	33.3	8	66.7	0	0	0	0	100
Pregunta 3	5	41.7	7	58.3	0	0	0	0	100
Pregunta 4	4	33.3	7	58.3	1	8.3	0	0	100
Pregunta 5	5	41.7	6	50	1	8.3	0	0	100
Pregunta 6	2	16.7	10	83.3	0	0	0	0	100
Pregunta 7	3	25	8	66.7	1	8.3	0	0	100
Pregunta 8	5	41.7	5	41.7	2	16.7	0	0	100
Pregunta 9	6	50	4	33.3	2	16.7	0	0	100

Total de alumnos que realizaron la práctica: 12

Los resultados obtenidos del cuestionario que se aplicó se presentan en las siguientes gráficas para cada una de las preguntas que conforman el cuestionario.



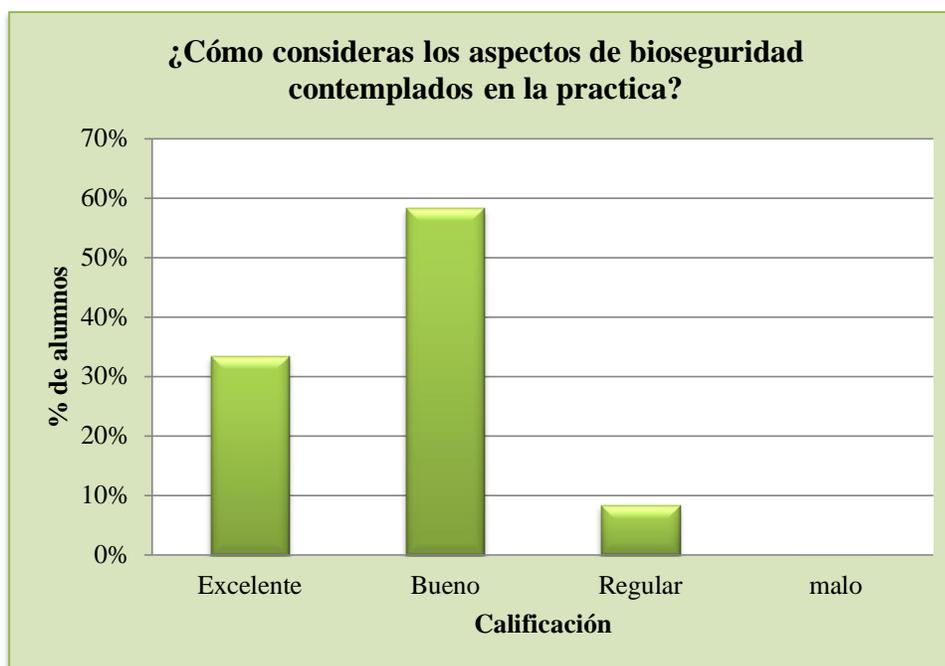
Gráfica 1. Se observa que las etapas de control de calidad son consideradas como buenas con un 83.3%, excelente con un 8.3% y ninguno lo considera malas.



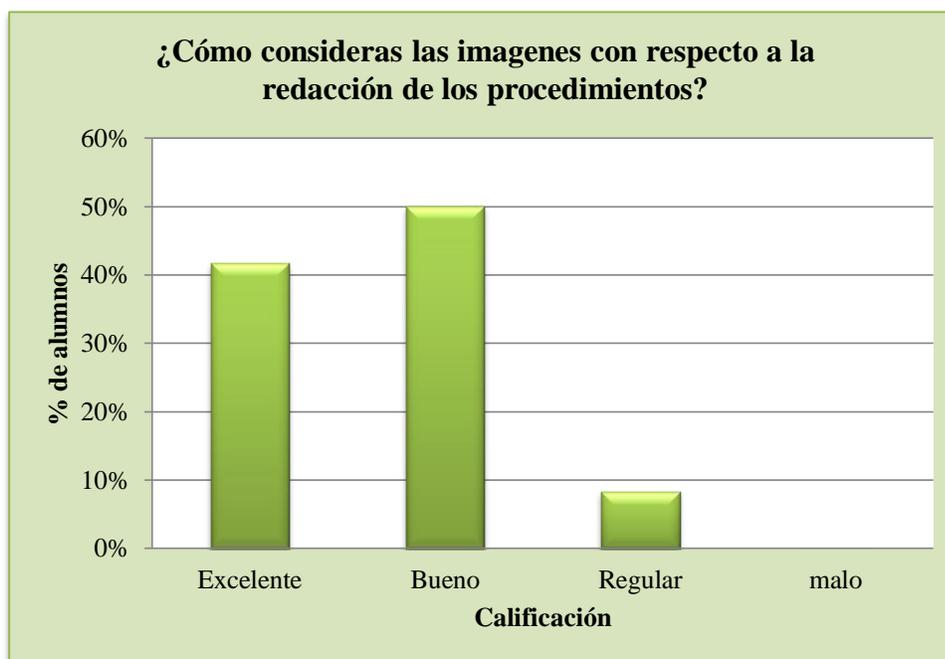
Gráfica 2. Se muestra que la estructura de la práctica es considerada como buena con un 66.7% y excelente con un 33.3% y ninguno la considera mala.



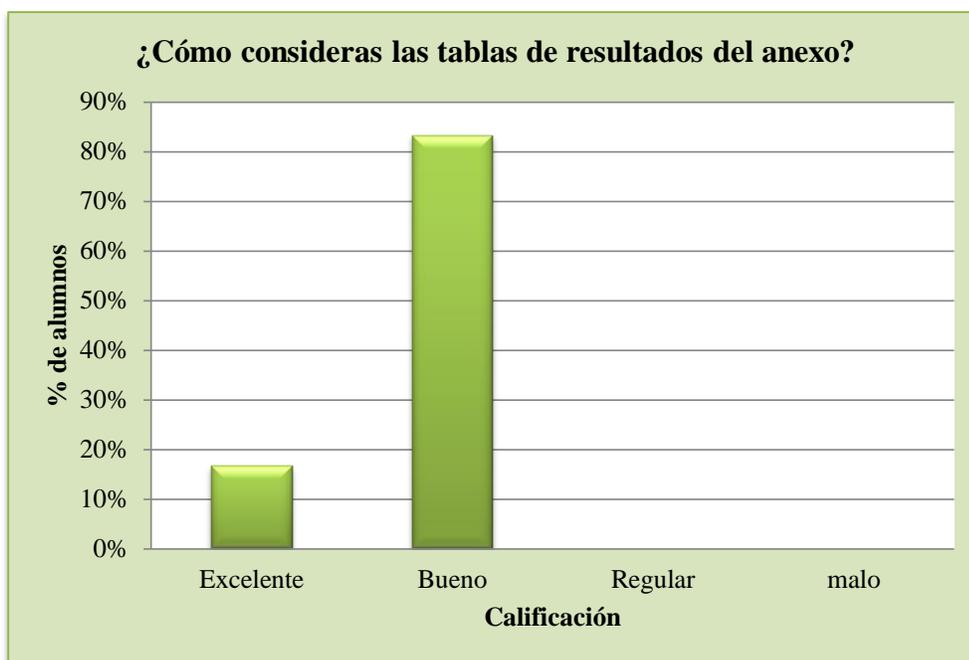
Gráfica 3. Los apartados que conforman la práctica son considerados como buenos con un 58.3%, excelente con un 41.7% y ninguno los considera malos.



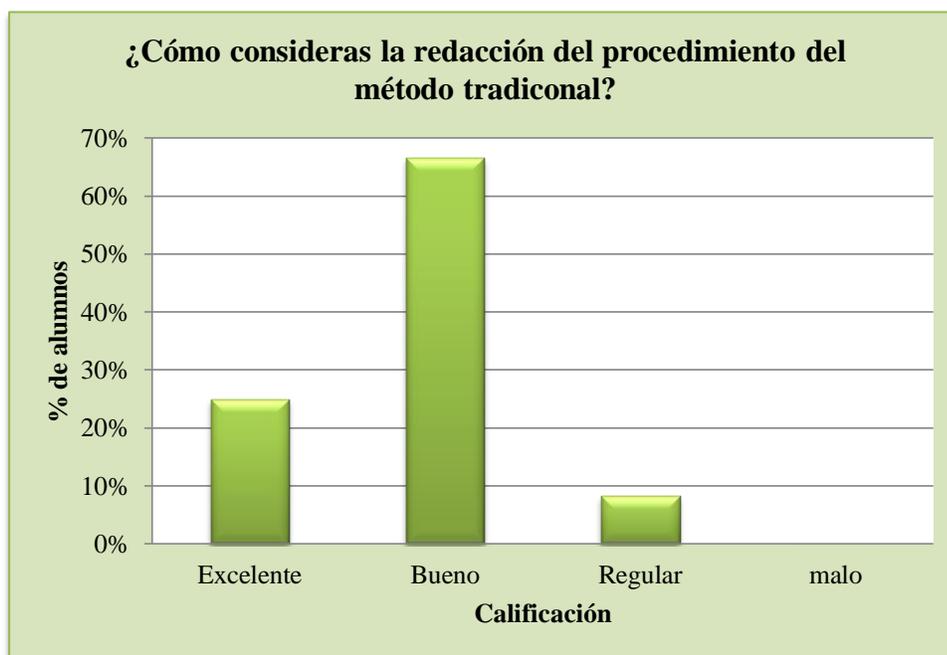
Gráfica 4. Se considera que los aspectos de bioseguridad contemplados en la práctica son buenos con un 58.3%, excelente con un 33.3% y ninguno los califica como malos.



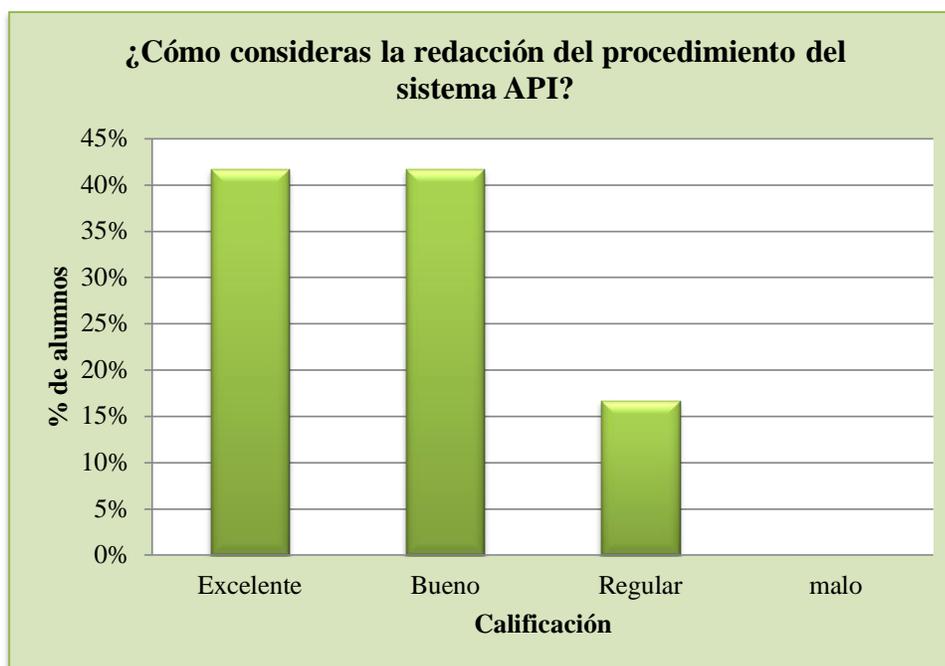
Gráfica 5. Nos muestra que las imágenes en la redacción de los procedimientos en la práctica son consideradas como buenas con un 50%, excelentes con un 41.7% y ninguno las consideran malas.



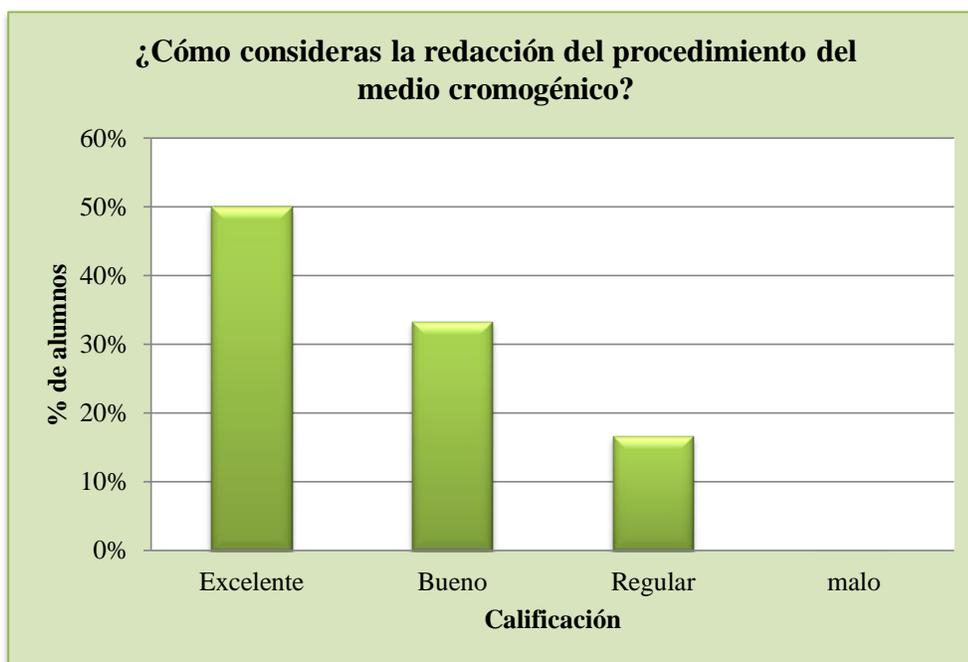
Gráfica 6. Los resultados muestran que las tablas de resultados de los anexos en la práctica son consideradas como buenas con un 83.3%, excelente con un 16.7% y ninguno las considera malas.



Gráfica 7. Podemos apreciar que el procedimiento del método tradicional en la práctica es considerado como bueno con un 66.7%, excelente con un 25% y ninguno lo considera malo.



Gráfica 8. En esta gráfica el procedimiento del sistema API en la práctica es considerado de igual manera como excelente y bueno con un 41.7% y ninguno lo considera malo.



Gráfica 9. Se calificó el procedimiento del medio cromogénico en la práctica como excelente con un 50%, bueno con un 33.3% y ninguno lo considera malo.

Cuadro 2. Utilidad global de la práctica				
	excelente	bueno	regular	malo
Número de alumnos	1	10	1	0
	4	8	0	0
	5	7	0	0
	4	7	1	0
	5	6	1	0
	2	10	0	0
	3	8	1	0
	5	5	2	0
	6	4	2	0
Frecuencia total	35	65	8	0
% total	32%	60%	7%	0%
Alumnos	12			

A partir de las frecuencias obtenidas para las 9 preguntas del cuestionario se calculó un porcentaje para cada una de las calificaciones y con ello se observa la utilidad global del diseño de la práctica.



Gráfica 10. Se demuestra que la mayoría de los alumnos consideran buena a excelente la práctica con un 93% de aceptación y cabe señalar que ninguno la considera mala.

Dentro del cuestionario, la última pregunta está encaminada a que el alumno proporcionara su punto de vista y/o comentarios para el mejoramiento de la práctica. De acuerdo a la última pregunta, estos fueron los comentarios que hicieron:

Cuadro 3

Pregunta 10. ¿Qué propondrías para mejorar el diseño de la práctica?
A) “Poner un poco más de imágenes en el procedimiento”
B) “Que sea para semestres más tempranos”
C) “Falta más explicación de cómo llenar la suspensión. No entendía como sembrar cada medio. Una imagen de como sembrar cada uno de los medios ya que causa confusión.”
D) “Cuidar la congruencia de los apartados”
E) “Sección para contestar dudas de manera grupal después de leer las instrucciones.”
F) “Que nos explicaran más acerca de la toma de muestra, en otras prácticas y que se pudiera comparar una muestra con la cepa ATCC.”

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las prácticas fueron validadas y diseñadas para el módulo 5 “Aparato genitourinario” del manual de prácticas de Laboratorio de Microbiología Médica y cuentan con una estructura de tal forma que el alumno pueda ver y entender claramente cómo se realiza la toma de muestra y como identificar al microorganismo patógeno ya sea teniendo una cepa desconocida o una muestra clínica real.

Las tres practicas cuentan con un diseño innovador distinto a las prácticas tradicionales aplicadas en el Laboratorio de Microbiología Médica debido a que está organizada por aparatos y sistemas, manejando las etapas de control de calidad: fase preanalítica, fase analítica y fase postanalítica además de contar con cepas ATCC también como control de calidad, la inclusión de medios cromogénicos y Sistema API 20 para identificación de microorganismos y el reglamento de bioseguridad para el Laboratorio de Microbiología Médica. Además, debido a que cada práctica cuenta con dos metodologías diferentes, se pueden utilizar tanto muestras clínicas como cepas problema obteniendo así buenos resultados, esta característica le proporciona una mayor flexibilidad a la práctica y se pueden comparar ambos métodos para asegurar la confiabilidad de los resultados.

Dentro del manual de prácticas actual de Laboratorio de Microbiología Médica podemos observar que está estructurado, de manera general, por aparatos y sistemas pero cada práctica individual está organizada por taxonomía bacteriana. Las prácticas correspondientes al aparato genitourinario son solamente dos, una correspondiente a la zona genital y la otra para urocultivo, las cuales en cada una sólo se menciona la introducción, el material a utilizar, algunas pruebas para identificación, un diagrama general de siembra y aislamiento y tablas para capturar los resultados. Al ser tan pocas practicas no es posible que el alumno observe realmente como se hace realiza la toma de muestra debido a la zona que se trata además que las infecciones en el tracto genitourinario son causados por distintos microorganismos los cuales solo son mencionados en la práctica pero no existe una metodología para el manejo de muestras clínicas y también no cuenta con medidas de bioseguridad para cada una y ni tampoco un control de calidad que nos avala el resultado.

En la siguiente tabla se realiza una comparación de la estructura de las prácticas del manual actual y las prácticas innovadoras presentes en este trabajo:

Practicas del manual actual	Practicas innovadoras
Practica por taxonomía	Practica por aparatos y sistemas
Breve introducción del microorganismo	Introducción acorde a las infecciones en el tracto genital
Material acorde al microorganismo a identificar	Material específico para toma de muestra y para identificar al microorganismo
Explicación general del procedimiento para identificar al microorganismo	Explicación detallada del procedimiento de toma de muestra, aislamiento e identificación del microorganismo.
Imágenes en blanco y negro del microorganismo	Imágenes originales a color acorde al procedimiento a seguir
Esquema general de sembrado y aislamiento	Metodología especial para cada procedimiento a implementar.

Medidas de Bioseguridad para cada practica
Metodología por fases de control de calidad
Uso de cepas bacterianas ATCC
Manejo de simuladores anatómicos

Por estos motivos, las prácticas se diseñaron con una mejor estructura teniendo en cuenta aspectos importantes como son aspectos de bioseguridad, control de calidad, dos metodologías de acuerdo al tipo de muestra que se maneje, imágenes propias en cada procedimiento, la inclusión de medios cromogénicos y sistemas miniaturizados API 20 y el uso de cepas bacterianas ATCC, de esta manera se obtienen practicas más completas y más comprensibles para mejorar la formación de los alumnos en ésta área.

Cabe señalar que en las tres prácticas no se utilizaron muestras clínicas ya que era necesario que la muestra fuera de un paciente con infección en el tracto genitourinario pero el diseño de la práctica permite trabajar con muestra clínica o con cepa biológica, por lo que se optó por utilizar cepas bacterianas ATCC probadas previamente con todos los medios tradicionales, cromogénicos y sistema API.

Una parte innovadora contenida en las prácticas es el uso de medios cromogénicos y sistema API 20 dentro de la metodología moderna, en donde encontramos ventajas significativas en comparación con la metodología tradicional y el uso de medios convencionales. En las siguientes tablas se colocan las ventajas y desventajas de cada método:

VENTAJAS			
Metodología Tradicional		Metodología moderna	
Medios convencionales	Pruebas bioquímicas	Medios cromogénicos	Sistema API 20
Se recicla el material de vidrio Se generan menos residuos solidos Los medios al estar deshidratados pueden durar más al vencer la fecha de caducidad. Se pueden identificar los microorganismos patógenos más comunes.		Menos material por practica Los materiales utilizados son reciclados y se generan menos residuos. No hay que lavar material. Hay resultados más confiables en un menor tiempo Fácil manejo de cajas y tira API Los cambios de color son más notorios, hay menos confusión al leer las pruebas. Se pueden esterilizar por calor húmedo o seco. Los medios cromogénicos y sistema API vienen listos para usar. Los medios en caja y tiras API tienen un menor costo. Se pueden identificar los microorganismos patógenos más comunes.	

DESVENTAJAS			
Metodología Tradicional		Metodología moderna	
Medios convencionales	Pruebas bioquímicas	Medios cromogénicos	Sistema API 20
Mayor tiempo para identificar al microorganismo Mucho material utilizado Se tiene que lavar todo el material Se generan más residuos semisólidos Se necesitan más reveladores Las pruebas bioquímicas llegan a ser confusas al revelar las y leerlas Mayor costo por la cantidad de medios, reveladores y el material extra en el proceso de elaboración de medios y pruebas bioquímicas.		La licencia para el sistema API es cara y se compra a parte. Los tiempos de caducidad son cortos.	

De acuerdo a los cuadros anteriores, podemos decir que la metodología moderna tiene una mejor aplicación dentro de las prácticas realizadas y esto se observa en la buena aceptación dada por los alumnos, la cual se muestra en la gráfica 10, Aceptación de la Práctica, de cada una de las tres prácticas en donde se aprecia que la aceptación global va de buena a excelente con más del 80% de aceptación en su mayoría y cabe destacar que ningún alumno la consideró mala, esto es muy importante ya que indica que los alumnos consideran importante los apartados de las prácticas y por lo tanto es posible aplicarla dentro de las prácticas del módulo 5 de Microbiología Medica.

Para el mejoramiento de las prácticas, los alumnos escribieron un comentario correspondiente a la pregunta 10 la cual está al final de cada práctica (**cuadro 3**). A continuación se muestran las respuestas a los comentarios realizados para cada una de las prácticas:

Práctica “Diagnostico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Femenino Mediante Exudado Vaginal”

- A) Considerando este comentario, cualquier situación anormal que se presente en el laboratorio se debe reportar al jefe del laboratorio.
- B) Considerando este comentario, en cada procedimiento de la práctica se le adjuntaron más imágenes para que sea mayormente comprensible cada paso.
- C) Una norma especial para este tipo de exudado no existe, solo existe la NOM-039-SSA2-2002, Para la prevención y control de las infecciones de transmisión sexual, la cual menciona la realización del exudado vaginal para el diagnóstico de infección.
- D) Se toma en cuenta la redacción y ortografía en la práctica y dentro de la introducción se mencionan las infecciones más comunes que se pueden encontrar al realizar el exudado.
- E) Tomando en cuenta este comentario, se anexa un apartado donde se explica los distintos tipos de espéculos y en qué caso se usa cada uno.
- F) Tomando en cuenta este comentario, se adjunta un apartado donde se explica el manejo del espéculo paso a paso con imágenes.

Práctica “Diagnóstico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Mediante Exudado Uretral Masculino”

- A) El diseño de la práctica está enfocada a la utilización de los modelos anatómicos en donde el alumno puede practicar la toma de muestra como si fuera un paciente real.
- B) El simulador anatómico esta adecuado para que el alumno practique la toma de muestra como si fuera un paciente real, sin embargo no es posible obtener directamente muestra biológica real debido a que el simulador anatómico no está adecuado para ese enfoque.
- C) No puede ser posible que cada alumno tenga un modelo debido al costo de cada modelo, por tal motivo se realiza una demostración de cómo se realiza la toma de muestra para después cada alumno la practique.
- D) La explicación grupal se lleva a cabo antes de comenzar la práctica y esperando que hayan leído la práctica previamente se realiza la demostración de la toma de muestra y después todos los alumnos interesados pueden practicar la toma sin problema.
- E) Tomando en cuenta las dudas durante la realización de la práctica, cualquier duda que haya se atenderán junto con el equipo.
- F) Debido al costo del material, los reactivos utilizados en la realización de esta práctica fueron los necesarios, pero si se necesitaran más se pueden comprar más kits de reactivos.

Práctica de “Diagnóstico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Mediante Urocultivo”

- A) Tomando en cuenta el comentario, se considera que cada procedimiento cuenta con las imágenes necesarias para que el alumno pueda observar y entender mejor la práctica.
- B) Esta práctica está diseñada para el área de microbiología médica ya que es para realizar un diagnóstico por aparatos y sistemas, por lo tanto no están enfocadas al temario de semestres más tempranos.
- C) Muchos de los medios utilizados se manejaron a lo largo del semestre y aun así se describe el procedimiento con imágenes cuales son los medios que se siembran y la forma de hacerlo tanto con medios tradicionales como medios cromogénicos y sistema API 20.
- D) Considerando este comentario, se realizó una lectura total de la práctica y se realizaron las modificaciones pertinentes en cada apartado.
- E) Considerando este comentario, después de dar la explicación grupal de las prácticas se pueden contestar las dudas para que sea más fácil la realización de la práctica y lectura de resultados.
- F) Tomando en consideración el comentario, el manual está diseñado para utilizar tanto cepas bacterianas como muestras clínicas y dentro del manual viene señalado paso a paso la explicación de la toma de muestra con imágenes, así como el procedimiento que hay que hacer cuando tenemos una muestra clínica y una cepa ATCC.

Una complicación que se tiene en este tipo de prácticas, es la realización de toma de muestra debido a la zona anatómica y es muy difícil que una persona se preste para realizar un exudado, por tal motivo se requirió el uso de simuladores anatómicos femenino y masculino. Con estos simuladores se puede practicar fácilmente la toma de muestra de exudado vaginal y uretral como si fuera un paciente real y en las prácticas se muestra la forma de cómo se realiza en cada caso, mencionando las medidas de

bioseguridad, el material a utilizar, las precauciones al manejar la muestra y siguiendo una metodología ordenada para obtener una muestra representativa.

La inclusión de los simuladores anatómicos en las prácticas tienen varias ventajas entre las cuales están:

- ★ El observar de forma más real la toma de muestra.
- ★ Practicar la toma por parte de los alumnos.
- ★ Que los alumnos despejen las dudas al manipular el material especial para la toma de muestra.
- ★ Específicamente con el simulador femenino, se pueden simular distintas infecciones y de ahí realizar el exudado correspondiente.
- ★ Al tratarse de un simulador, se puede practicar varias veces la toma de muestra para que el alumno entienda mejor su uso.

Conforme a los resultados y análisis de la validación de las prácticas, se observaron algunas dificultades generales relacionadas con el sembrado y aislamiento además de que hubo un poco de confusión al interpretar los cambios de coloración de los pocillos de las tiras API 20; esto fue solucionado con la asesoría directa de los alumnos por parte de los profesores y pasantes.

Los microorganismos que se usaron para la realización de la práctica fueron seleccionados de acuerdo a su clasificación por tinción Gram, bacterias grampositivas y gramnegativas, al tipo de infección más recurrentes encontradas en el laboratorio clínico y también porque son bacterias que se pueden manejar dentro de un laboratorio de microbiología nivel 1, para uso de enseñanza, además de que era necesario que fueran acorde a el material que se utilizaría en la práctica.

El material utilizado en las prácticas, tanto medios convencionales como medios cromogénicos fueron seleccionados de acuerdo al tipo de microorganismos que se utilizarían en cada práctica, al tipo de muestra clínica que se utiliza y a los objetivos de la práctica, por eso no fue necesario pedir distintos medios para identificar otros microorganismos fuera de los que se seleccionaron.

Para la identificación por pruebas bioquímicas, se utiliza el sistema API 20 por su facilidad de manejo, la identificación es rápida, la amplia gama de microorganismos que se pueden identificar de acuerdo al código que se genere, su lectura no es compleja siempre y cuando se maneje con cuidado y sigan el procedimiento descrito en las prácticas y con resultados específicos para género y especie. Todo esto hace que este sistema sea seguro para identificar al patógeno y no tardar tanto para darle al paciente un resultado.

Los agares cromogénicos contienen un sustrato cromógeno el cual se define como una sustancia que contiene un grupo formador de color y son de gran importancia debido a que estos medios son selectivo-diferenciales, estos sustratos son específicos para cada enzima y cambian de color debido a la acción de la enzima sobre el sustrato. La aparición de ese color en la colonia y a su alrededor indica la presencia de la enzima, por lo que su detección permite la identificación en forma sencilla y específica de los microorganismos de 18-24 horas de incubación. Los agares cromogénicos utilizados son especiales para enterobacterias y bacterias grampositivas del laboratorio Biomerieux, los cuales presentan una gran sensibilidad y especificidad para identificar al agente etiológico en una muestra clínica y/o cepa desconocida.

El sistema miniaturizado API 20, es un método rápido que permite la identificación de microorganismos a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas, la interpretación de los resultados se basa en la observación de las coloraciones desarrolladas, mediante la comparación del color obtenido en cada pocillo con el que muestra la tabla de identificación y la lectura se lleva de 18-24 horas de incubación. Este sistema de gran utilidad para la identificación del género y especie del agente causal, sin embargo, se debe realizar una buena disolución de la cepa para que el cambio de color de los pocillos se vea claramente y así no haya confusión al momento de la lectura.

Todas las prácticas realizadas y validadas serán englobadas en un solo manual de diagnóstico clínico el cual tendrá características únicas debido a los apartados que conforman cada práctica son innovadores y cuentan con imágenes capturadas especialmente para cada procedimiento, lo cual le da carácter único a cada práctica. Este tipo de estructura, apartados e imágenes no se encontraron en ningún otro manual de diagnóstico clínico por lo que cada practica innovadora tiene características inéditas en comparación con otros existentes en la literatura.

De manera general, las prácticas para exudado uretral y urocultivo tuvieron una aprobación buena a excelente mayor al 80% excepto la práctica para exudado vaginal el cual tuvo una aprobación del 78%. Este dato se debió a que muchos alumnos no leyeron totalmente la práctica y su base para calificar fue por medio de la explicación previa a la práctica sin embargo, hubo buena aportación de su parte para mejorar la práctica y mucha participación en el uso del simulador anatómico, por lo tanto la práctica es catalogada como buena.

IX. CONCLUSIONES

De acuerdo a la hipótesis del trabajo, las conclusiones a las que se llegaron son las siguientes:

Las prácticas, en su mayoría, se consideran de buenas a excelentes de acuerdo a la validación realizada por los alumnos, con una aprobación mayor al 80%.

La práctica “Diagnostico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Femenino Mediante Exudado Vaginal” tuvo una aprobación del 78%

La práctica “Diagnóstico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Mediante Exudado Uretral Masculino” tuvo una aprobación del 90%

La práctica de “Diagnóstico De Infecciones Bacterianas Del Tracto Genital Mediante Urocultivo” tuvo una aprobación del 93%

El diseño de las prácticas fue bien entendido y aceptado por los alumnos de noveno que permitió trabajar con estos nuevos medios cromogénicos y sistema API obteniendo un resultado favorable.

Se considera útil la metodología por aparatos y sistemas que por taxonomía bacteriana.

El uso de imágenes en cada procedimiento es de gran importancia para que el alumno entienda mejor la realización de la práctica tanto el método moderno como el método tradicional.

La utilidad de los simuladores anatómicos en la realización de la toma de muestra fue bien aceptado, observando que los alumnos entendieron paso a paso la toma de muestra para después ellos mismos la practicasen.

Con este nuevo diseño de cada práctica el alumno entenderá mejor la importancia de la toma de muestra y la identificación del o los microorganismos causantes de infecciones en el aparato genitourinario masculino y femenino.

Se observó que los medios cromogénicos y sistema API para identificar al microorganismos patógeno son más fáciles de manejar y en un menor tiempo se puede identificar al microorganismo patógeno en comparación con los medios tradicionales donde se necesita más tiempo para llegar a la identificación del microorganismo patógeno.

Los resultados obtenidos con ambos métodos en las prácticas fueron comparados con los resultados de las cepas bacterianas ATCC, observando que ambos métodos son confiables para la identificación del microorganismo patógeno.

Con base en la validación realizada por los alumnos, consideraron importante la inclusión de control de calidad, normas de bioseguridad en el laboratorio y uso de cepas bacterianas ATCC, uso de medios cromogénicos y sistema API 20.

Finalmente, las tres prácticas fueron calificadas de buena a excelente con lo cual se mejorará la formación del alumno y éstas se pueden aplicar dentro del módulo de Microbiología Médica y áreas afines de la carrera de Q.F.B.

X. PROPUESTAS PARA EL MEJORAMIENTO DE LA PRACTICA

- Para fortalecer las prácticas, se sugiere utilizar videos que muestren la toma de muestra dependiendo de la práctica que se aplique.
- Tener disponible un manual impreso con todas las prácticas dentro del laboratorio para cualquier duda que haya en el momento de la aplicación de las prácticas.
- Habilitar una página web para que los alumnos puedan revisar detenidamente la práctica de acuerdo al método que se vaya a utilizar antes de la realización de ésta.
- Se sugiere el uso de muestras clínicas reales dentro de las prácticas cuando sea posible.

XI. REFERENCIAS

1. Henry M, Jane W. Joyce E. Benedict W. Manual Mosby de Exploración Física. 5º Edición. Madrid: ELSEVIER; 2003: 585-670.
2. Perea, E. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España: Doyma; 1992: 40, 44, 117-120.
3. Keith Struthers, Roger P. Westran. Bacteriología clínica, Masson, Barcelona: 2005.
4. Forbes B. Diagnostico Microbiológico Bailey y Scott. 12º Edición. Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2009: 842-871.
5. Martínez-Ojeda M. Saldaña-González J. Sánchez-Hernández M. *Criterios para el diagnóstico de cervicovaginitis aplicados en el primer nivel de atención*. Correlación con la norma oficial mexicana. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2007; 45 (3): 249-254.
6. Ibarrola M, Benito J, Azcona B, Zubeldía N. Patología infecciosa: vulvovaginitis, enfermedades de transmisión sexual, enfermedad inflamatoria pélvica, abscesos tubo-ováricos. An Sist Sanit Navar. 2009; 32 (Supl. 1): 29-38. Breve introducción a las ETS.
7. Hernández R, Ortega-López J, Cruz-Talonia F, Gómez-Gutierrez G, Arroyo-Verástegui R. Presencia de proteinasas en las secreciones vaginales y de anticuerpos anti-proteínas de *Trichomonas vaginalis* en el suero de pacientes con Trichomonosis Activa. Bioquímica, Vol. 28, Núm. 3, julio-septiembre, 2003, pp. 13-18.
8. CENAVECE. Semana Epidemiológica N° 37. Disponible en: http://www.dgepi.salud.gob.mx/2010/plantilla/intd_boletin.html. Acceso 28 de septiembre de 2012.
9. Spicer. J. Clínica y Enfermedades Infecciosas. 2º Edición. España: ELSEVIER; 2009: 174-187.
10. Espinosa F. Procesamiento de muestras relacionadas con enfermedades de transmisión sexual. Departamento Microbiología.
11. Mural J. et al. Guías de Procedimientos en Ginecología. Buenos Aires. 2009
12. Javier Aznar Martín, María Antonia Blanco Galán, José Antonio Lepe Jiménez, Luis Otero Guerra, Fernando Vázquez Valdés. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 2007.
13. Nester, E. Microbiología Humana. 5º Edición. México. Manual Moderno; 2007:724-725.
14. Rodríguez, M. Anatomía, Fisiología e Higiene. México. Editorial Progreso S.A. de C.V.; 2005: 131-136.
15. García, Pedro y col. Microbiología Clínica Aplicada. 3º Edición. España. Ed. Díaz de Santos: 1992. 84-85,238-248, 135-145.
16. Duerden, B.I. Microbiología de Enfermedades Infecciosas. México. Limusa SA de CV; 1993; 337-351.
17. Castillo M. et al. Frecuencia de infecciones nosocomiales del tracto urinario en el Hospital General Dr. Raymundo Abarca Alarcón de Chilpancingo Guerrero, México. Mediagraphic Artemisa.2009: 34: 107.
18. Charles J. Robert H. Heptinstall's Pathology of the Kidney.USA: Lippicont Williams &Wilkins: 2007. P 1010-1011.
19. Mims, C.A. Microbiología Médica. España. Mosby / Doyma Libros; 1995: 23.1-23.8.
20. Prats G. Microbiología Clínica. España. Médica Panamericana; 2006: 27-29, 231-244.
21. SPINREACT. Tiras Reactivas Para Uroanálisis. Disponible en http://www.spinreact.com/files/Inserts/Placas/OSIS22_Tiras_orina_2012.pdf. Acceso 11 de agosto de 2012
22. Concepción M. Estudio sobre la Recogida de Muestra y Urocultivo en Mujeres, para Diagnóstico de la infección Urinaria. Universidad de Granada. Tesis Doctoral. Granada. 2004.
23. Juan J. Picazo. Recogida, transporte y conservación de las muestras. Procedimientos en Microbiología Clínica. 1993.

24. Díaz, R. Gamazo, C. Lopez-Goñi. Manual Práctico de Microbiología. 2º Edición. España. MASSON; 1999: 115-119.
25. Brooks, G. Microbiología Médica de Jawetz. 18º Edición. México. Manual Moderno; 2005: 715-721.
26. Yuri. Fun With Microbiology (what's buggin' you?) Disponible en:<http://thunderhouse4-yuri.blogspot.mx/2010/11/bacterial-vaginosis.html>. Acceso 11 de agosto de 2012.
27. BD CHROMagar Candida Medium. Becton Dickinson. Jun 2003.
28. Dr. A. Rambach. BD CHROMagar Orientation Medium. Sep 2011.
29. Pedro García-Martos, Juan Manuel Hernández-Molina. Procesamiento de las muestras genitourinarias. Asociación Española de Micología. 2001
30. Dr. Leonardo Anzalone Cantoni, Dra. Cristina Arenas Giménez, Dra. Raquel Ballesté Alaníz, et al. Manual De Toma De Muestras Para Estudio Bacteriológico, Parasitológico Y Micológico. Departamento de Laboratorio Clínico. Hospital de Clínicas. Uruguay. 2004.
31. Jorge Alberto Cortés Luna, Margarita González Calderón, Sandra Mónica Rodríguez Colmenares, et al. Manual para la toma de muestras para análisis microbiológico. Bogotá. 2008.
32. Manual para Toma, Envío y Recepción de Muestras para Diagnostico. Instituto de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos. México. 2012.
33. Manual de Toma de Muestras. BoiNet. Laboratorios Clínicos ACHS Arauco Salud S.A.
34. Hernández L, Conocer la proporción de cervicitis en mujeres con factores de riesgo en una población de 145 mujeres del municipio de Asunción Ixtaltepec. Enfermedades del Tracto Genital Inferior. 2007;1(1): 6-13.
35. Lloret A. Canós M. Gimeno C. et al. Manual de toma de muestras. Garantía de calidad en los laboratorios de microbiología clínica. Barcelona: 2004.
36. Sistemas miniaturizados API. 2010. Disponible en http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_SistemasAPI.pdf. Acceso 17 de Septiembre de 2012.
37. Montoya M. I. Las cepas ATCC. Herramienta indispensable en el control de calidad interno en microbiología. Instituto Colombiano de Medicina Tropical. Disponible en www.labcarecolombia.com/descargas_2.php?id=59 . Acceso 17 de septiembre de 2012.
38. Lawrence S. Neinstein. Adolescent Health Curriculum. Sexuality - Sexually Transmitted Infections – Vaginitis. 2012. Disponible en : http://www.usc.edu/student-affairs/Health_Center/adolhealth/content/b3stis3.html
39. Dr. Bismark Somarriba. Tricomona vaginal. 24 de enero, 2012. Disponible en <http://www.laprensa.com.ni/2012/01/24/suplemento/nosotras/6977>
40. Velez de Villa J. Cervicitis Crónica o Aguda. 14 de febrero de 2012. Disponible en <http://preguntasintimas.blogspot.mx/2012/02/cervicitis-cronica-o-aguda.html>
41. Medical Legal Art. Corioamnionitis fetal, asepsia y sufrimiento fetal. Disponible en <http://www.doereport.com/generateexhibit.php?ID=27928>
42. Nirco. Diagnóstico & Investigación. Escobillonos secos. Septiembre 2012. Disponible en <http://www.nirco.com/web/pc-6-60-174-466-/Escobillonos-con-Medio-de-Transporte>
43. Silva González M. *Candida albicans*. 27 de noviembre de 2007. Disponible en <http://candidalbicans.blogspot.mx/>.
44. Pardi Germán. Detección de *Neisseria gonorrhoeae* en mucosa orofaríngea de pacientes con infección gonocócica genital. Acta odontol. Venez v.43 n.3 Caracas 2005. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652005000300003
45. Laboratorio de Patología. Parásitos, virus y bacterias. *Treponema pallidum*. Febrero del 2009. Disponible en: <http://labopato3.blogspot.mx/2009/02/treponema-pallidum.html>
46. Dr. Pereyra R. Sexología y Enfermedades de Transición Sexual. 2011. Disponible en: <http://doctor-alberto.blogspot.mx/2011/04/linfogranuloma-venereo.html>

47. Atlas Virtual de Medicina. Atlas Virtual de Patología. 2008. Disponible en <http://www.telmeds.org/AVIM/Apatol/PATOLOGIA%20GENERAL/Infecciones/index.htm>
48. Infogen A.C. 2010. Por la calidad de la salud. Disponible en: <http://www.infogen.org.mx/Infogen1/servlet/CtrlImpArt?clvarticulo=9409> Acceso 10 de agosto de 2012.
49. Dibujos del sistema urinario y sus partes. 2010. Disponible en: <http://fotosdibujosimagenesvideos.blogspot.mx/2010/09/dibujos-del-sistema-urinario-y-sus.html>
50. Sistema excretor-Apuntes. 2008. Disponible en: <http://www.vi.cl/foro/topic/8204-sistema-excretor-apuntes/>
51. Proyecto Biosfera. Aparato Circulatorio y Excretor. Disponible en: http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/3ESO/aparato_circulatorio/contenidos10.htm
52. Disponible en: <http://www.unidadurologia.es/portal/portal?content=1:31>
53. Dr. Helmar Rosenberg. Anatomía Patológica de los Aparatos Urinario y Genital Masculino. Disponible en: http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/anatomiapatologica/imagenes_ap/patologia824-825.html. Acceso 11 de agosto de 2012.
54. Dr. Helmar Rosenberg. Anatomía Patológica de los Aparatos Urinario y Genital Masculino. Disponible en: http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/anatomiapatologica/imagenes_ap/patologia824-825.html. Acceso 11 de agosto de 2012
55. Cistitis. Disponible en <http://www.zonamedica.com.ar/categorias/medicinailustrada/prostata/cistitis.htm>
56. Pielonefritis. Disponible en: http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/anatomiapatologica/imagenes_ap/patologia817-823.html.
57. Caballero J. E. Manual de Colección y Transporte de Muestras Microbiológicas. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos75/manual-coleccion-transporte-muestras-microbiologicas/manual-coleccion-transporte-muestras-microbiologicas2.shtml>
58. Mena Moreno C. Callado Gómez R. Bellón Elipe M.I. Extracción de Muestras de Orina. 2012. Disponible en: <http://www.eccpn.aibarra.org/temario/seccion2/capitulo35/capitulo35.htm>
59. Dr. Silva V. Presente y Futuro en el Diagnóstico de las Micosis Invasivas. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 2005. Disponible en: http://www.medwave.cl/cursos/Micologia2004/5/1.act?tpl=im_ficha_cursos.tpl
60. La orina al microscopio. Disponible en <http://medicina.programasfull.com/la-orina-al-microscopio-descarga-gratis.html>
61. SIEMENS. UF-100 Urine Cell Analyze.2012. Disponible en: <http://www.medical.siemens.com/webapp/wcs/stores/servlet/ProductDisplay?storeId=10001&productId=172990&catTree=&langId=-104&catalogId=-104&continue=1>
62. Alistair Brown. Medios cromogénicos: Bacteriología en Color. BIOARTIS. Disponible en: http://www.bioartis.com/index.php?option=com_content&view=article&id=47:medios-cromogenicos-bacteriologia-en-color&catid=9:notas-tecnicas. Acceso 5 de septiembre 2013.
63. Uretritis y cervicitis. El blog de Ricardo Ruiz de Adana Pérez. Disponible en: <http://ricardoruizdeadana.blogspot.mx/> Acceso 4 de octubre 2013.