



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Algoritmos diagnósticos bacteriológicos y
toma de muestra en los principales aparatos y
sistemas del cuerpo humano”

T E S I S
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA
P R E S E N T A N :
ALEJANDRO HERNÁNDEZ COLÍN

ASESOR: M. EN C. ANA LAURA VÁZQUEZ MARTÍNEZ

.CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX.

2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis y examen profesional**

Algoritmos diagnósticos bacteriológicos y toma de muestra en los principales aparatos y sistemas del cuerpo humano

Que presenta el pasante: **Alejandro Hernández Colín**

Con número de cuenta: **310269410** para obtener el título de: **Licenciado en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de enero de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. Ladislao Palomar Morales	
VOCAL	M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez	
SECRETARIO	M. en C. Raquel María del Refugio Tapia Romero	
1er. SUPLENTE	M. en C. Paola Edith Briseño Lugo	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Laura Gricelda Martínez Méndez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada a mis padres José Amado y María Estela, quienes son el motor que impulsa mis sueños y que siempre han estado conmigo en todo momento brindando el apoyo incondicional que solo el amor de padres puede dar, enseñándome que siempre se puede avanzar y seguir adelante ante cualquier situación o adversidad, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo, trabajo y perseverancia.

A mis hermanos José Antonio, Ricardo y José Luis, quienes siempre cuidan de mí y que en todo momento me han apoyado a lo largo de este camino, que aunque no ha sido fácil, encuentran la forma de hacer que no me dé por vencido y siga luchando por ver materializados mis sueños.

A mis amigos Iván (QEPD) y José (QEPD), que aunque ya no están conmigo, fueron dos grandes pilares en mi vida que me enseñaron que solo el trabajo duro puede llevarnos a lugares donde nunca imaginamos estar.

Agradecimientos

Agradezco en primera instancia a mi alma mater la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán y a los docentes que forman parte de ella, quienes siempre tuvieron la amabilidad de transmitir sus conocimientos y sabiduría durante cada día de mi estancia de mi vida universitaria, siempre los llevaré conmigo en mí transitar profesional.

Agradecimientos especiales a mi asesora la Maestra Ana Laura Vázquez, quien me apoyo durante toda mi formación profesional y siempre mantuvo la puerta abierta para que pudiera seguir fortaleciendo e incrementando mis conocimientos.

A la Química Reyna del laboratorio de Bacteriología del CMNSXXI, quien me brindó la oportunidad de enriquecer mis conocimientos y fue una gran guía para la elaboración de este trabajo.

Al personal del laboratorio de EPED del InDRE, quienes siempre me hicieron sentir parte de ellos como una gran familia y que con tanta paciencia me compartieron su conocimiento y sabiduría.

A mis compañeros de trabajo, Cesar, José, Marco y Lizbeth, quienes estuvieron apoyándome, dándome consejos y compartiendo grandes momentos que aunque si bien las circunstancias ya no nos hacen estar juntos, siempre llevarán un lugar muy importante en mi vida.

A mis compañeros, Alejandra (QEPD), Alethia, Jesús, Ulises, Jair, Alejandra, Joselyn, Brenda y Gabriela, con quienes compartí risas, enojos y muchos buenos momentos, en ustedes encontré una bonita familia y siempre estarán presentes en cada paso de mí transitar profesional. Gracias por hacer tan especial y amena esta etapa de mi vida.

Índice

Índice figuras	4
Índice de tablas	6
Abreviaturas	7
Introducción	9
Justificación	13
Objetivo General	14
Objetivos particulares	14
1. Tracto Gastrointestinal	15
1.1 Toma de muestra: Coprocultivo e Hisopo rectal/fecal	20
1.2. Algoritmo diagnóstico:	22
2. Aparato respiratorio	25
2.1. Toma de muestra: Exudado faríngeo/Espujo/Espujo inducido/Aspirado bronquial	32
2.2. Algoritmo diagnóstico:	35
3. Aparato Urinario	39
3.1 Toma de muestra: Chorro medio/Cateterización/Punción suprapúbica ..	44
3.2. Algoritmo diagnóstico:	47
4. Aparato Genital	51
4.1 Toma de muestra: Exudado endocervical/Exudado uretral	58
4.2. Algoritmo diagnóstico:	60
5. Infecciones asociadas a piel	63
5.1 Toma de muestra: Heridas superficiales y abscesos abierto/Abscesos cerrados/Biopsias/Quemaduras	68
5.2. Algoritmo diagnóstico:	71
6. Aparato cardiovascular: Bacteriemia, sepsis e infecciones asociadas a catéter vascular	73
6.1 Infecciones asociadas a catéter intravascular	77
6.2. Hemocultivo	79

6.3.	Toma de muestra: Hemocultivo/Punta de catéter	80
6.4.	Algoritmo Diagnóstico:	84
7.	Líquido Cefalorraquídeo y otros Líquidos Serosos	88
1.1	Líquidos serosos	93
7.1.1.	Líquido pleural.....	94
7.1.2.	Líquido ascítico	96
7.1.3.	Líquido pericárdico.....	97
7.1.4.	Líquido sinovial	98
7.2.	Toma de muestra: Líquido cefalorraquídeo/Líquido pleural/Líquido ascítico/Líquido pericárdico/Líquido sinovial	100
7.3.	Algoritmo Diagnóstico:	109
8.	Infecciones de Oftálmicas y Óticas	113
8.1.	Infecciones oftálmicas	113
8.2.	Infecciones óticas	117
8.3.	Toma de muestra: Exudado conjuntival/Raspado corneal/Lente de contacto/ Timpanocentesis/Exudado de oído externo	121
8.4.	Algoritmo Diagnóstico:	125
9.	Mycobacterium	127
9.1.	Tuberculosis pulmonar	130
9.2.	Toma de muestra: Esputo/ Esputo inducido/ Aspirado bronquial	133
9.3.	Algoritmo Diagnostico:	135
9.4.	<i>Mycobacterium leprae</i>	139
10.	<i>Helicobacter pylori</i>	141
11.	Infecciones por Bacterias no Cultivables	148
11.1.	Espiroquetas	148
11.1.1.	<i>Treponema</i>	148
11.1.2.	<i>Borrelia</i>	151
11.1.3.	<i>Leptospira</i>	154
11.2.	Rickettsia	156
11.2.1.	Rickettsia	157

11.2.2.	Coxiella	159
11.2.3.	<i>Anaplasma y Ehrlichia</i>	161
11.3.	<i>Chlamydia</i>	162
11.4.	<i>Mycoplasma y Ureaplasma</i>	164
Anexo 1. Principales Medios de Cultivo		170
Anexo 2. Técnicas de Sembrado más comunes.....		173
Anexo 3. Tinción de Gram, Baciloscopia ácido alcohol resistente y tinción negativa.		177
Anexo 4. Taxo A y Taxo B.....		182
Anexo 5. Serotipos de <i>Vibrio cholerae</i>.....		184
Anexo 6. Pruebas bioquímicas adicionales para <i>Haemophilus influenzae</i>.....		186
Anexo 7. Equipos de Hemocultivo.....		188
Anexo 8. VITEK 2 y VITEK MS (Maldi Tof).		190
Anexo 9. Sistema API.....		194

Índice figuras

Figura 1. Principales componentes del tracto gastrointestinal	16
Figura 2. <i>Coprocultivo</i>	21
Figura 3. Principales estructuras del aparato respiratorio	27
Figura 4. Toma de muestra exudado faríngeo	34
Figura 5. Principales estructuras del aparato urinario	40
Figura 6. Técnica de sembrado por agotamiento en líneas paralelas	47
Figura 7. Aparato reproductor masculino	53
Figura 8. Aparato reproductor femenino	55
Figura 9. Exudado Uretral.....	59
Figura 10. Principales componentes de la piel	64
Figura 11. Toma de muestra de absceso abierto	70
Figura 12. Partes principales del aparato cardiovascular	74
Figura 13. Frasco de hemocultivo para infante.....	82
Figura 14. Punta de Catéter en caldo nutritivo.....	83
Figura 15. Análisis de Punta de Catéter por Técnica de Maki.....	83
Figura 16. Principales componentes del Sistema Nervoso Central (SNC)	89
Figura 17. Líquido cefalorraquídeo	101
Figura 18. Toracocentesis	103
Figura 19. <i>Paracentesis</i>	105
Figura 20. Pericardiocentésis	107
Figura 21. Toma de muestra de Líquido Sinovial	108
Figura 22. Anatomía interna del ojo.....	113
Figura 23. Anatomía interna del oído.....	118
Figura 24. Exudado conjuntival.....	122
Figura 25. Estructura de la pared bacteriana de <i>Mycobacterium</i>	128
Figura 26. Tuberculosis primaria	132
Figura 27. Infección por <i>Helicobacter</i> en la mucosa gástrica.....	143

Figura 28. Identificación de <i>Treponema</i> spp., por técnica de Inmunofluorescencia indirecta	149
Figura 29. Transmisión de <i>Borrelia</i> spp., por garrapata.....	152
Figura 30. Vista al microscopio de una <i>Leptospira</i> spp., con tinción de plata.....	154
Figura 31. Células infectadas por <i>Rickettsia rickettsii</i>	158
Figura 32. Células infectadas por <i>Ehrlichia</i> y <i>Anaplasma</i>	161

Índice de tablas

Tabla 1.1. Microorganismos más comúnmente encontrados en el tracto digestivo	17
Tabla 1.2. Microorganismos patógenos en el tracto gastrointestinal.....	19
Tabla 2.1. Microbiota más común encontrada en el tracto respiratorio	28
Tabla 2.2. Principales enfermedades en las vías respiratorias altas	29
Tabla 2.3. Principales enfermedades en las vías respiratorias medias	30
Tabla 2.4. Principales enfermedades de las vías respiratorias bajas.....	31
Tabla 3.1. Principales Uropatógenos	42
Tabla 3.2. Factores de virulencia bacteriana más comunes y su mecanismo de acción	43
Tabla 4.1. Infecciones Genitales y los microorganismos causales	57
Tabla 5.1. Microorganismos más comúnmente encontrados en la piel.....	65
Tabla 5.2. Causas principales de infecciones cutáneas y heridas	67
Tabla 6.1. Terminología usada en los procesos relacionados con el síndrome séptico	76
Tabla 7.1. Signos típicos encontrados en LCR en algunas enfermedades del SNC	90
Tabla 7.2. Agentes causales de infección en el SNC.....	91
Tabla 7.3. Pruebas diagnósticas complementarias.....	93
Tabla 8.1. Principales causas infecciosas de enfermedades oculares	116
Tabla 8.2. Principales causas infecciosas de enfermedades oculares	120
Tabla 9.1. Micobacterias de principal importancia clínica	129
Tabla 9.2. Criterios de Murray y Washington	133
Tabla 11.1. Especies de Mycoplasma spp y de Ureaplasma spp., con interés clínico	165

Abreviaturas

µm	Micrómetro
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenosin trifosfato
BH	Biometría Hemática
CCPI	Catéter Central Periféricamente Instalado
cm	Centímetro
CVC	Catéter Venoso Central
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Derrame Pleural
DPC	Derrame Pleural Complicado
DPP	Derrame Pleural Paraneumónico
dsRNA	RNA de doble cadena
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
g	Gramo
HIV	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
IFN	Interferón
IgA	Inmunoglobulina A
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
IL	Interleucina
InDRE	Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
ITS	Infección de Transmisión Sexual
L	Litro
LAM	Lipoarabinomanano
LCR	Líquido Ceforraquídeo
LPS	Lipopolisacárido
MAT	Microaglutinación

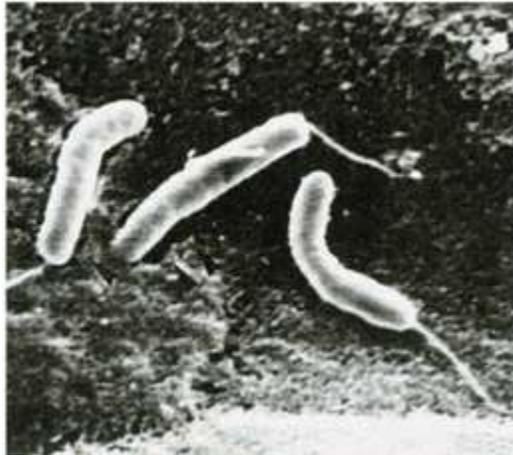
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MODS	Síndrome de Disfunción Sistémica Múltiple
NF-κβ	Factor Nuclear Kappa-Beta
NK	Natural Killer
OMA	Otitis Media Aguda
PBE	Peritonitis Bacteriana Espontanea
PCR	Polymerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
PRR	Receptores de Reconocimiento de Patrones
RNA	Ácido Ribonucleico
RPBI	Residuos Peligrosos Biológico Infeccioso
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SNC	Sistema Nervioso Central
SRIS	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
TLR	Toll Like Receptor (Receptor tipo Toll)
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
TP	Tiempo de Protrombina
TT	Tiempo de Trombina
TTPa	Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado
UFC	Unidades Formadoras de Colonia

Introducción

En la escala biológica universal los organismos unicelulares han sido agrupados en dos tipos, diferenciados por la características de si contiene o no núcleo. Las Procariotas con una presencia de núcleo primitivo con ausencia de membrana, entre los que incluye a las bacterias y algunas algas azul-verde, y las Eucariotas, con un núcleo más evolucionado que semeja a las características de organismos pluricelulares.

Las características distintivas de las procariotas son su tamaño relativamente pequeño, casi siempre del orden de 1 μm de diámetro. El DNA de casi todas las bacterias es casi siempre circular, que constituye el cromosoma bacteriano. La mayor parte de estos organismos solo posee un cromosoma.

Los seres humanos y los animales poseen una microbiota normal abundante que no suele generar enfermedades, pero que logra un equilibrio que garantiza la supervivencia, el crecimiento y la propagación tanto como de las bacterias como del hospedador.



Bacterias observadas con microscopia electrónica. Obtenida de Ryan & Ray (2011)

La patogenia de la infección bacteriana comprende desde el comienzo del proceso infeccioso y los mecanismos que provocan la aparición de los signos y síntomas de la enfermedad. Muchas infecciones producidas por bacterias que suelen considerarse patógenas permanecen ocultas o son asintomáticas. La enfermedad ocurre cuando la bacteria o las reacciones inmunológicas se desencadenan, produciendo daño a la

homeostasis de la persona. Algunas bacterias provenientes de la microbiota son causa importante de diversas enfermedades (p. ej. *Staphylococcus aureus*). Algunas veces existen bacterias que son estrictamente patógenas (p. ej., el serotipo Typhi de la *Salmonella*), pero la infección permanece latente o subclínica y el hospedador es un portador de la bacteria.

Los postulados de Koch vinculan especies de bacterias con enfermedades, que pueden ser específicas o inespecíficas. No todos los microorganismos causantes de enfermedades satisfacen los criterios de estos principios. Por ejemplo *Treponema pallidum* (sífilis) y *Mycobacterium leprae* (lepra), que no pueden ser cultivados *in vitro*; no obstante existen modelos animales de infección con estos microorganismos.

Principios de Koch

- 1- El microorganismo se debe encontrar en todos los casos de la enfermedad en cuestión y su distribución en el organismo debe concordar con las lesiones observadas.
- 2- El microorganismo se debe cultivar *in vitro* (o fuera del cuerpo del hospedador) durante varias generaciones.
- 3- Cuando este tipo de cultivo puro se inocula en un animal susceptible, debe causar la enfermedad típica.
- 4- El microorganismo se debe aislar de nuevo a partir de las lesiones de las enfermedades producidas en forma experimental.

Las bacterias y otros microorganismos se adaptan a diversos ambientes que comprenden fuentes externas como tierra, agua y materia orgánica o fuentes internas encontradas dentro de los insectos vectores, animales y seres humanos, donde normalmente habitan y subsisten. Al producir una infección asintomática o enfermedad leve, en lugar de la muerte del hospedador, los microorganismos que habitan normalmente en las personas aumentan la probabilidad de transmisión de una persona a otra. Otra manera de transmisión son las manifestaciones clínicas, por ejemplo en el caso de infección de *Vibrio cholerae* que provoca diarrea abundante. Esta puede contaminar el agua potable u algunos alimentos, facilitando el modo de transmisión.

Una de las formas de identificar al microorganismo causante de una enfermedad, es a través del estudio de muestras clínicas obtenidas del sitio de la infección, donde se pueda

encontrar presente el microorganismo de interés. Para esto se hace uso de los laboratorios de microbiología, o más específicamente de bacteriología. Estos laboratorios tienen el fin de identificar el agente etiológico de una infección y establecer la actividad *in vitro* de las drogas antimicrobianas contra el microorganismo identificado.

La interpretación de los resultados obtenidos en el laboratorio de microbiología depende de la calidad de las muestras recibidas, siendo el manejo previo a su recepción en el laboratorio, crítico para la exactitud de los resultados. El cuadro clínico y los posibles agentes etiológicos implicados condicionan no solo el tipo de muestra a enviar, sino también su procedimiento de obtención, transporte, conservación y procesamiento. Igualmente, la información clínica es la que permite al laboratorio aplicar las técnicas diagnósticas disponibles de manera más eficiente. Por ello, es fundamental que exista una estrecha comunicación entre los microbiólogos y los médicos responsables del paciente, participando activamente en el proceso diagnóstico. Un manejo inadecuado de la muestra puede producir resultados erróneos, los que afectan directamente la salud del paciente e influyen las decisiones terapéuticas. Siempre hay que elegir el material biológico en cantidad suficiente que mejor represente el proceso infeccioso del que se quiere conocer el agente etiológico. Las sustancias analizables son todas las muestras biológicas disponibles, desde los líquidos estériles, las muestras de los distintos órganos o sistemas, como heces, orina, esputo, lavado broncoalveolar, aspirados, biopsias y exudados de distintas localizaciones o lesiones superficiales o profundas, y los dispositivos hospitalarios como, por ejemplo, catéteres y prótesis.

La toma de muestras para estudios microbiológicos puede variar en función de si estas se van a procesar mediante métodos convencionales o si lo van a ser mediante métodos automatizados o moleculares.

Desde mediados de los años setenta del siglo XIX, la prensa médica mexicana siguió los trabajos de Pasteur, Koch, Klebs y otros microbiólogos. Se ha dicho que entre 1880 y 1890 fue la década de gran importancia en la historia de la medicina. El Doctor Eduardo Liceaga (Presidente de 1885 a 1914 del Consejo Superior de Salubridad), llevo a cabo en México el Congreso de Higiene e Intereses Profesionales, el cual fue un parteaguas importante, ya que una década después la Bacteriología seria incorporada como materia

obligatoria en los planes de estudio de las escuelas de medicina, primero en la capital, después en Puebla, Guadalajara, Campeche, Yucatán, San Luis Potosí y Nuevo León. En 1905 se fundó el Instituto Bacteriológico Nacional, el cual tenía como objetivo el estudio de las enfermedades infecciosas que atacaban al hombre (Carrillo, 2001).

Los primeros bacteriólogos mexicanos obtuvieron su título en la década de 1880 y se formaron como especialistas en el extranjero. Estas especializaciones implicaban por lo general, una estancia medianamente corta en el extranjero, aunque hubo quienes se graduaron en México. La influencia de la escuela francesa era notoria, ya sea porque hubo científicos franceses trabajando en México, o porque algunos mexicanos trabajaron en los institutos franceses como el Instituto Pasteur. Aunque no solo se veía el conocimiento Francés, hubo mexicanos como Manuel Toussaint, quien trabajo en Alemania estudios bacteriológicos con Koch y sus discípulos Fraenkel y Petri (Carrillo, 2001).

Justificación

Una de las principales causas de mortalidad en México son las enfermedades asociadas a infecciones por bacterias y otros microorganismos, por lo que es importante contar con una guía de apoyo para poder realizar un correcto análisis de las muestras clínicas con sospecha de infección, ya que actualmente esta información no se encuentra compilada en un solo documento.

El presente trabajo describe las principales muestras clínicas y los algoritmos de toma de muestra más utilizados en los laboratorios de microbiología de hospitales de México que siguen principalmente los principios de Koch, es decir, aquellos que se pueden mantener en un medio de cultivo. También se describe los medios de cultivo más usados y las bacterias que se encuentran más comúnmente en las muestras clínicas.

Objetivo General

Compilar y exponer en una guía de apoyo las principales muestras clínicas asociadas al área de diagnóstico Bacteriológico, explicando de manera detallada y mediante algoritmos de diagnóstico, la recolección y sitio anatómico de toma de muestra, procesamiento y los medios de cultivo usados en los hospitales de México.

Objetivos particulares

- Realizar una recopilación y estudio sobre los principales aparatos o sistemas del cuerpo humano, los órganos que lo conforman y la microbiota específica por área anatómica.
- Describir las muestras que son usadas para el diagnóstico bacteriológico de acuerdo a un área anatómica específica, la correcta toma de estas y las condiciones de asepsia que sean requeridas.
- Conocer el procesamiento de las muestras con sospecha de infección bacteriana dentro del laboratorio.
- Reconocer a través de algoritmos diagnósticos los principales agentes bacterianos causantes de infección por área anatómica específica.
- Describir otras técnicas auxiliares en el diagnóstico

1. Tracto Gastrointestinal

La mayoría de moléculas de nutrientes en los alimentos son demasiado grandes como para pasar al torrente sanguíneo. Por este motivo, las enzimas de la luz del aparato digestivo tienen que descomponerlas en moléculas más pequeñas, en un proceso que se llama digestión. El aparato digestivo se divide en dos partes: el tubo digestivo o tracto gastrointestinal, y las glándulas accesorias. El tubo digestivo es básicamente un conducto hueco de unos 5-7 metros en una persona viva que recorre el organismo y se abre al exterior en ambos extremos, es decir, el tubo comienza en la boca, por donde entra la comida, y termina en el ano, por donde salen las sustancias que no se absorben (Stanfield C., 2011; Tortora G., 2006).

El tracto gastrointestinal está compuesto por diferentes órganos como lo son: faringe, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y recto. Aunque cada órgano se distingue por su propia estructura y función, la pared del tubo digestivo tiene una estructura relativamente uniforme en la mayoría de su recorrido, el cual está compuesto por cuatro capas principales, que son la mucosa, la submucosa, la capa muscular externa y la serosa. El tracto gastrointestinal contiene a los alimentos desde el momento en que se comen, digieren, se absorben y eliminan. Este cumple con 6 funciones:

- Ingestión: Introducción de la comida en la boca
- Secreción: Liberación de agua, ácido, sustancias amortiguadoras y enzimas en la luz del tubo digestivo.
- Mezcla y propulsión de la comida a través del tracto gastrointestinal.
- Digestión: Degradación mecánica y química de la comida.
- Absorción: pasaje de los productos digeridos desde el tracto gastrointestinal hacia la sangre y la linfa.
- Defecación: Eliminación de heces del tubo digestivo (Stanfield C., 2011; Tortora G., 2006).

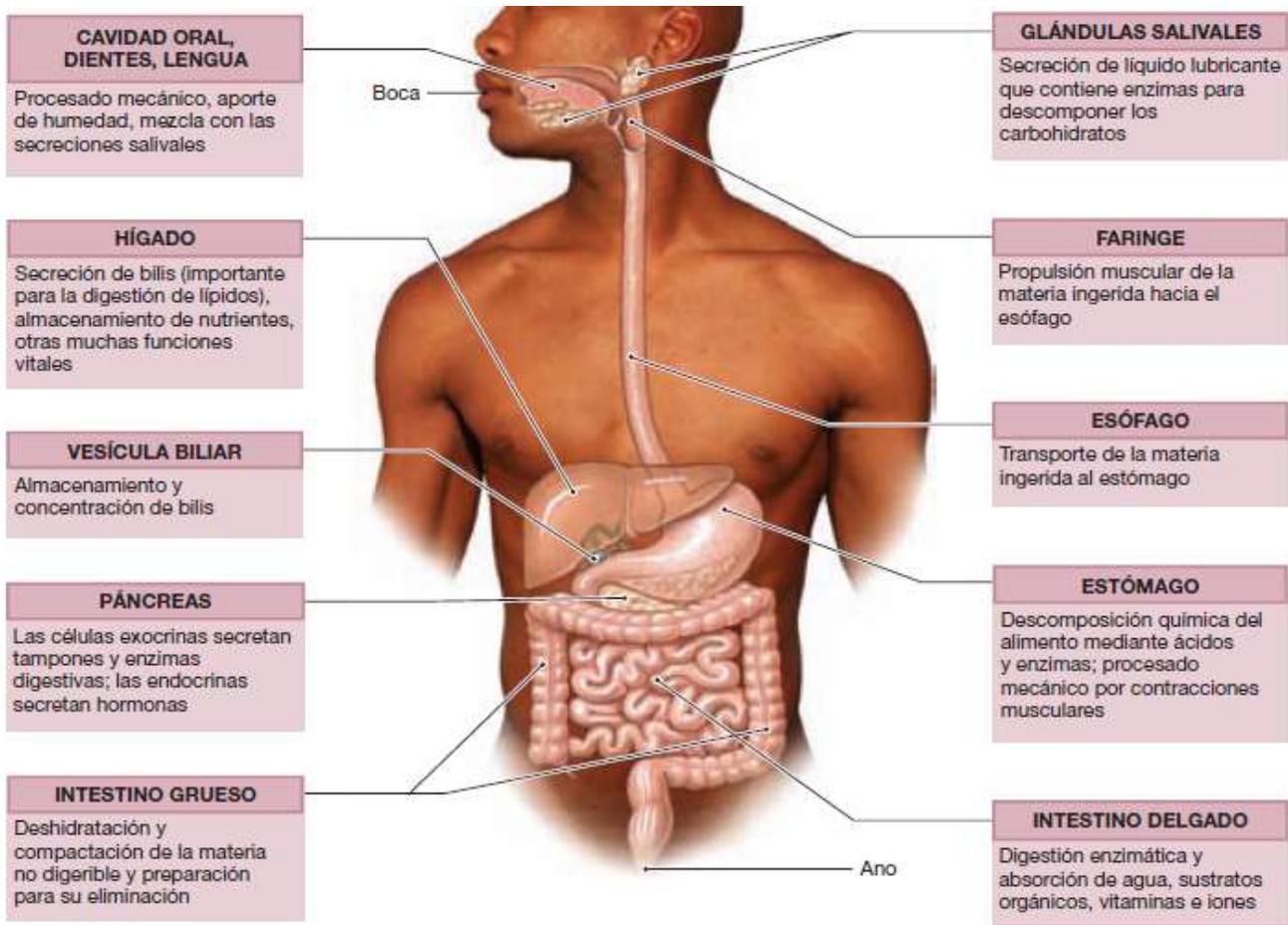


Figura 1. Principales componentes del tracto gastrointestinal. Obtenido de: Martini F, (2009).

El tracto gastrointestinal constituye el mayor órgano inmunológico en el cuerpo humano. En él se encuentran el mayor número de linfocitos del organismo y se generan grandes cantidades de IgA. De una forma fisiológica se encuentra permanentemente activado por la continua exposición a los antígenos ingeridos. En el tracto gastrointestinal hay un gran número de células plasmáticas pero también linfocitos B y T, macrófagos, monocitos, mastocitos, etc. Su distribución y porcentaje varía mucho dependiendo de la localización (placas de Peyer, lámina propia, epitelio, etc.). El intestino es la parte principal la inmunidad dentro del tracto digestivo, ya que aquí es donde se lleva a cabo la absorción de nutrientes con un elevado nivel de selectividad. El intestino es apto para seleccionar los componentes nutritivos y benéficos de aquellos que pueden ser nocivos, así como, seleccionar a los microorganismos de la microbiota de los patógenos. Principalmente las células del sistema inmune se encuentran en la lámina propia, que es una de las capas que constituyen al tubo digestivo (Diez R., 2010; Tortora G., 2006).

El tubo digestivo se encuentra colonizado por microorganismos ya desde el nacimiento, y sigue albergando una variada población de microbios durante toda la existencia del organismo huésped. Aunque la ingestión de alimentos y agua supone cada día una oportunidad de colonización por nuevos microorganismos, la población microbiana permanece relativamente estable a no ser que se altere el equilibrio de la microbiota como consecuencia de factores exógenos, como un tratamiento antibiótico. (Murray P., 2013)

La microbiota del tracto gastrointestinal, es muy amplia, y en algunos casos, se comporta como agentes patógenos produciendo infección y daño en el individuo. Los principales microorganismos presentes en el tracto son:

Tabla 1.1. *Microrganismos más comúnmente encontrados en el tracto digestivo. Adaptada de Murray P. et al. (2013).*

Bacterias	Hongos	Parásitos
<i>Acinetobacter</i>	<i>Candida</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>
<i>Actinobacillus</i>		<i>Entamoeba dispar</i>
<i>Actinomyces</i>		<i>Entamoeba coli</i>
<i>Aeromonas</i>		<i>Endolimax nana</i>
<i>Cardiobacterium</i>		<i>Iodamoeba butschlii</i>
<i>Clostridiodes</i>		<i>Blastocystis sp.</i>
<i>Corynebacterium</i>		<i>Giardia lamblia</i>
<i>Enterococcus</i>		<i>Cystoisospora belli</i>
<i>Escherichia coli</i>		<i>Ascaris lumbricoides</i>
<i>Eubacterium</i>		<i>Enterobius vermicularis</i>
<i>Edwardsiella</i>		<i>Taenia sp.</i>
<i>Fusobacterium</i>		<i>Trichuris trichiura</i>
<i>Haemophilus</i>		
<i>Kingella</i>		
<i>Moraxella</i>		
<i>Mycoplasma</i>		
<i>Neisseria</i>		
<i>Peptostreptococcus</i>		
<i>Porphyromonas</i>		
<i>Prevotella</i>		
<i>Propionibacterium</i>		
<i>Staphylococcus</i>		
<i>Streptococcus</i>		
<i>Stomatococcus</i>		

Las características clínicas más prominentes de las infecciones gastrointestinales son fiebre, vómito, dolor abdominal y diarrea. Su presencia varía según las diferentes enfermedades y distintas etapas de infección. La aparición de diarrea es la característica central y su presencia y naturaleza constituyen la base para la clasificación de las infecciones gastrointestinales en tres síndromes principales: diarrea acuosa, disentería y fiebre tifoidea. Estos síndromes están causados principalmente por las siguientes bacterias: (Tortora G., 2006).

Tabla 1.2. Microorganismos patógenos en el tracto gastrointestinal. Adaptada de Ryan K., Ray G. (2011).

Microorganismo	Síndrome que causa	Mecanismo Patógeno	Examen microscópico heces
Serotipos de <i>Salmonella</i>	Disentería	Invasión de la mucosa	PMN
<i>Salmonella</i> serovariedad Typhi	Fiebre tifoidea	Penetración, diseminación	Monocitos
<i>Shigella</i> spp	Disentería	Invasión de la mucosa, citotoxinas	PMN, eritrocitos
<i>Shigella dysenteriae</i> (Shiga)	Disentería	Invasión de la mucosas, citotoxinas	PMN, eritrocitos
<i>Campylobacter jejuni</i>	Disentería	Se desconoce	PMN, eritrocitos
<i>Escherichia coli</i> (EIEC)	Disentería	Invasión de la mucosa	PMN, eritrocitos
<i>E. coli</i> (ETEC)	Disentería	Enterotoxinas(s)	-----
<i>E. coli</i> (EHEC)	Diarrea acuosa	Citotoxinas	Eritrocitos
<i>E. coli</i> (EPEC)	Diarrea acuosa	Adherencia	-----
<i>Vibrio cholerae</i>	Diarrea acuosa	Enterotoxinas	-----
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Diarrea acuosa	Se desconoce	-----
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Fiebre tifoidea.	Penetración, diseminación	-----
<i>Clostridiodes difficile</i>	Disentería	Citotoxinas, enterotoxinas	-----
<i>Clostridiodes perfringens</i>	Diarrea acuosa	Enterotoxinas	-----
<i>Bacillus cereus</i>	Diarrea acuosa	Enterotoxinas	-----
<i>Giardia lamblia</i>	Diarrea acuosa	Irritación de la mucosa	Flagelados, quistes
<i>Entamoeba histolytica</i>	Disentería	Invasión de la mucosa	Amibas, PMN
<i>Cryptosporidium</i>	Diarrea acuosa	Atrofia de las vellosidades intestinales, alteración de la permeabilidad intestinal	Ooquistes acidorresistentes
<i>Cystoisospora belli</i>	Diarrea acuosa	Atrofia de la mucosa intestinal	Ooquistes
<i>Cyclospora</i>	Diarrea acuosa	Atrofia de las vellosidades intestinales	Ooquistes redondos

1.1 Toma de muestra: Coprocultivo e Hisopo rectal/fecal

Coprocultivo

Las muestras de materia fecal se deben obtener en los primeros 5 días de cualquier enfermedad entérica a partir de la fecha de inicio de los síntomas, periodo en el que los agentes patógenos están en mayor número y con especial atención, antes de que se haya iniciado el tratamiento con antibiótico (InDRE, 2017).

Material:

- Frasco de boca ancha estéril de sello hermético.
- Hisopos estériles de algodón.
- Tubo con medio de transporte Cary-Blair (en caso de que la muestra sea transportada).

Toma de muestra:

- Si la muestra es formada o pastosa, colocar entre 3 y 5 g de materia fecal (el tamaño aproximado de una nuez) en el recipiente de boca ancha. No son válidas las muestras contaminadas con orina o papel higiénico.
- Si la muestra es líquida, colocar entre 5 y 10 mL de materia fecal. No contaminar con orina o papel higiénico.
- Tomar dos hisopos e impregnar con materia fecal.
- Cultivar la muestra lo antes posible, y en caso de que la muestra se tenga que enviar o no sea posible cultivar en ese momento, colocar en tubos con medio de transporte Cary-Blair.
- Realizar un análisis microscópico de zonas que presenten pus o sangre usando solución salina isotónica.

Hisopado Rectal

Se ha demostrado eficaz en el aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae*, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., *C. difficile*, virus herpes simplex y en portadores anales de *Streptococcus pyogenes*. No es válido para la búsqueda de antígenos.

Material:

- Hisopos rectales de algodón.
- Tubo con medio de transporte Cary-Blair (en caso de que la muestra sea transportada).

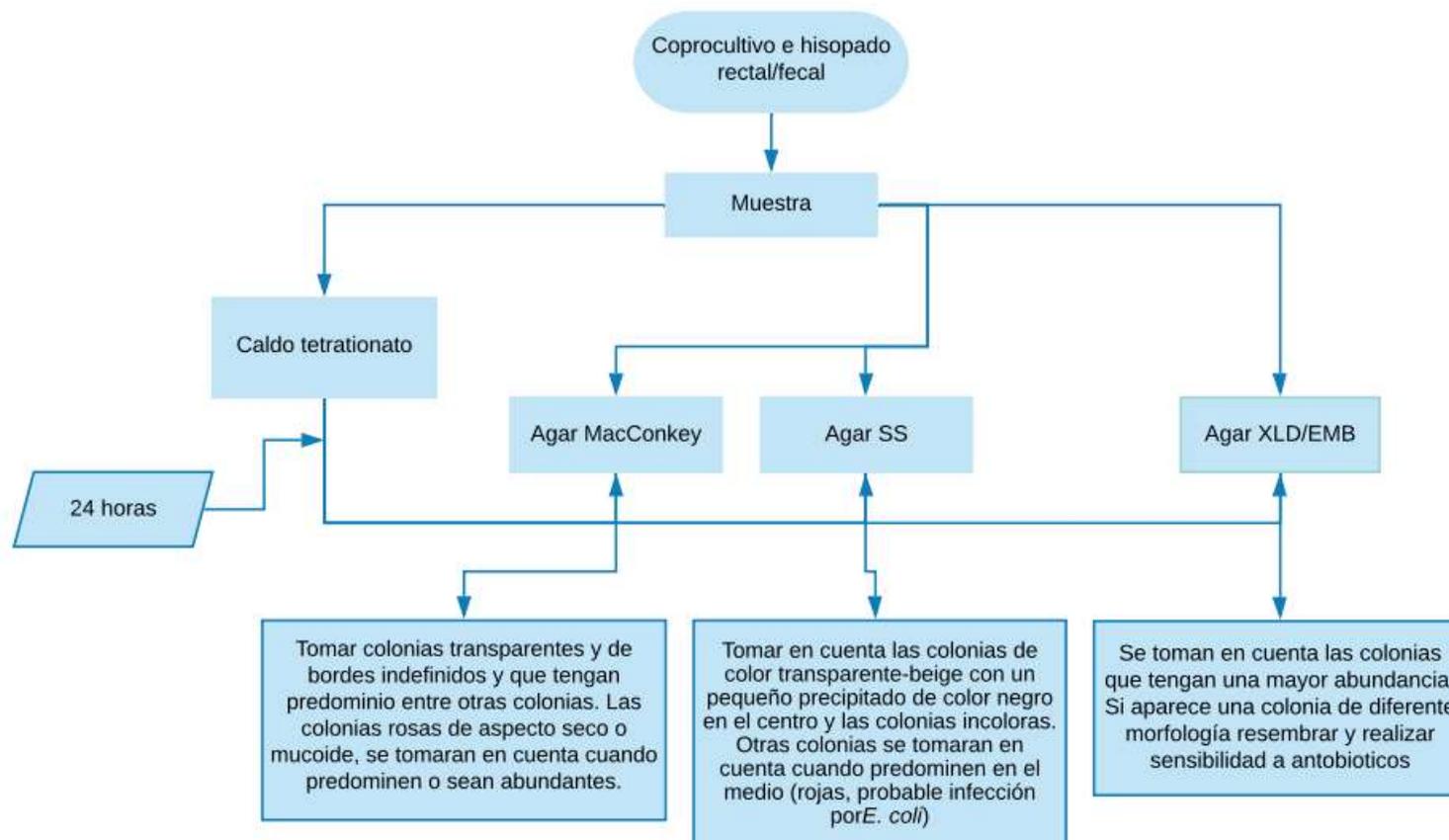
Toma de muestra:

- Introducir el hisopo sobrepasando un poco el esfínter anal, girar para hacer la toma en las criptas anales. Dejar de 10 a 30 segundos para que se absorba de muestra y retirar.
- Si la muestra se envía, colocar en tubo con medio de transporte Cary-Blair.



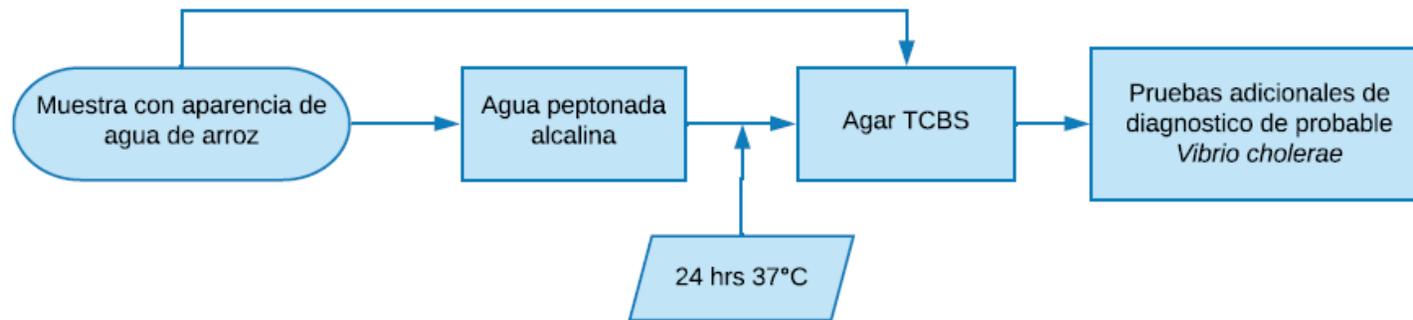
Figura 2. Coprocultivo

1.2. Algoritmo diagnóstico:



Se recomienda usar medios cromogénicos como CPSI o Agar Cromogénico Salmonella (bioMérieux), para un mejor aislamiento y diferenciación de las colonias.

Diagnóstico de *Vibrio cholerae*



Nota: Los diversos serotipos de *V. cholerae* se pueden encontrar en el Anexo 5.

Referencias.

- Diez, R. R.; García, M. J.; Vivas, S.; Arias, L.; Rascarachi, G.; Del Pozo, E.; Vaquero, L. M.; Miguel, A.; Sierra, M. M.; Calleja, S.; Ruíz de Morales, J. M. (2010). Manifestaciones gastrointestinales en pacientes con inmunodeficiencias primarias que cursan con déficit de anticuerpos. *Gastroenterología y Hepatología*. 33(5):347–351. Obtenido de: <https://bit.ly/3wS0qOi>
- Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”. (2017). Lineamientos para la Vigilancia por Laboratorio de la Enfermedad Diarreica Aguda Bacteriana, InDRE. México: Secretaria de Salud. Obtenido de: <https://bit.ly/3o11YSZ>
- Murray, P., Rosenthal K., Pfaller, M., (2013). *Microbiología Médica*. Elsevier.
- Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. Mc Graw Hill
- Stanfield, C., (2011). *Principios de Fisiología Humana*. Pearson.
- Tortora G., Derrickson B., (2006). *Principios de Anatomía y Fisiología*. Ed. Medica Panamericana

2. Aparato respiratorio

La principal función del pulmón es la respiración, que comprende la captación de O₂ y eliminación de CO₂ del organismo en su totalidad. En reposo un ser humano normal respira 12 a 15 veces por minuto y con cada respiración, se movilizan en promedio, 500 mL de aire, la cifra se transforma en 6 a 8 L de aire inspirado y espirado en ese lapso. Una vez que el aire llega a planos profundos del pulmón y concretamente a los alveolos, la difusión simple permite que el oxígeno se incorpore a la sangre de los capilares pulmonares y que entre bióxido de carbono en los alveolos, sitio del cual se expulsa en la espiración (Barret K., 2013).

La respiración engloba cuatro procesos:

- Ventilación pulmonar, el movimiento de entrada (inspiración) y salida (espiración) de aire de los pulmones.
- Intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre los espacios aéreos pulmonares y la sangre mediante la difusión.
- Transporte de oxígeno y dióxido de carbono entre los pulmones y los tejidos del organismo gracias a la sangre.
- Intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre la sangre y los tejidos mediante la difusión.

Además de su función principal, la respiración, el aparato respiratorio realiza otras funciones, como:

- Contribuir a la regulación del equilibrio ácido-base en la sangre
- Permitir la vocalización
- Participar en la defensa contra patógenos y partículas exógenas en las vías respiratorias;
- Facilitar un camino para la pérdida de agua y calor (a través de la espiración de aire que se ha humedecido y calentado durante la inspiración)
- Mejorar el retorno venoso (mediante el bombeo respiratorio)
- Activar ciertas proteínas plasmáticas a medida que pasan por la circulación pulmonar (Stanfield C., 2011).

El aparato respiratorio se divide en tres principales regiones interconectadas. La primera región son las vías respiratorias altas o superiores, que comprende conductos de entrada que son la nariz y la cavidad nasal y la boca, que desembocan en la faringe, un tubo muscular que sirve de conducto común para el aire y la comida. Tras la faringe se bifurcan los conductos para el aire y la comida; donde el aire entra en la primera estructura del tubo respiratorio, la laringe (Barret K., 2013).

Las vías conductoras o vías respiratorias medias, comienzan en la epiglotis, seguido por la tráquea y se ramifican de manera dicotómica para ampliar enormemente el área de superficie de los pulmones, es decir, los bronquios. Las ramas las componen bronquios, bronquiolos y bronquiolos terminales. La zona de conducción posee innumerables células especializadas que tienen otras funciones además de servir como conducto del aire al parénquima pulmonar. El epitelio de la mucosa está sobre una fina membrana basal y más abajo de ella, está la lámina propia. Se conoce a tal conjunto como mucosa de vías respiratorias. El epitelio es pseudoestratificado y contiene varios tipos de células que incluyen las ciliadas y secretoras (como las caliciformes y los ácinos glandulares) que aportan componentes básicos para la inmunidad innata de las vías respiratorias. Estas células eliminan agentes nocivos mediante los movimientos coordinados de sus cilios gracias al reconocimiento por PRR's y TLR's Una fracción importante del epitelio de las últimas zonas de la vía conductora lo componen células claras que son células de epitelio cúbico no ciliadas que secretan marcadores importantes para la defensa inmunitaria y pueden actuar como elementos progenitores después de lesión. Las células epiteliales en la vía de conducción secretan moléculas diversas que participan en la defensa del pulmón. Dichas células en estas zonas generan mucinas, péptidos antimicrobianos como defensinas, histatinas y cateclinas. De la misma manera se secretan lactoferrina, lisozima, complemento e interferones e IgA, que reclutan a linfocitos y otras células efectoras inmunitarias, en el sitio de las infecciones (Barret K., 2013; Jiménez L., 2009; Ryan K., 2011).

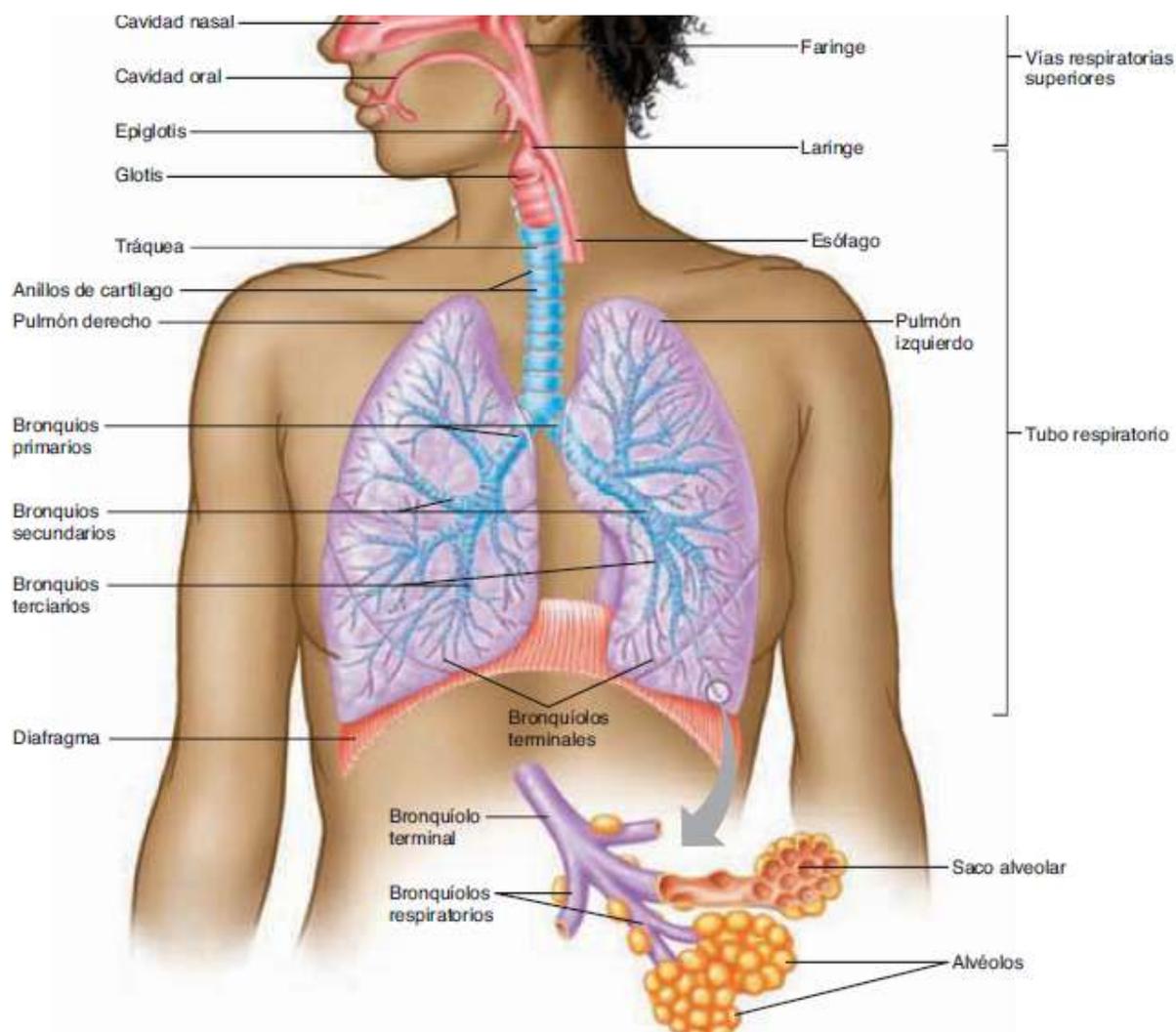


Figura 3. Principales estructuras del aparato respiratorio. Obtenido de: Stanfield. (2011)

Las vías respiratorias bajas o zona respiratoria, está compuesta por los alveolos, que están revestidos de dos tipos de células epiteliales. Las células de tipo I son células planas con grandes extensiones citoplásmicas; son las células primarias de revestimiento de los alveolos y cubren, en promedio, 95 % de la superficie epitelial de estos últimos. Las células de tipo II (neumocitos granulosa) son más gruesas y contienen innumerables cuerpos de inclusión laminares. Estas últimas células son importantes en la reparación alveolar y una de sus principales funciones es la producción del agente tensoactivo o surfactante pulmonar. Los alveolos también contienen otras células especializadas que incluyen los macrófagos alveolares pulmonares (PAM o AM), linfocitos, células

plasmáticas, células neuroendocrinas y células cebadas. Los humanos tienen 300 millones de alveolos y el área total de las paredes alveolares en contacto con los capilares en los dos pulmones se acerca a 70 m² (Barret K., 2013; García L., 2013; Jiménez L., 2009).

La mayor parte de la microbiota del tracto respiratorio se encuentra en las vías respiratorias altas, de las cuales se encuentran entre 10 y 100 bacterias anaerobias por cada bacteria aerobia. La mayor parte de la microbiota no se comporta como patógenos potenciales, a excepción de que introduzcan en zonas estériles (p. ej. senos paranasales, oído medio y cerebro). Los principales microorganismos presentes en el aparato respiratorio son (Murray P., 2013):

Tabla 2.1. Microbiota más común encontrada en el aparato respiratorio (vías respiratorias altas) y cavidad oral. Adaptada de Murray P. Rosenthal K. (2013).

Bacterias	Hongos
<i>Acinetobacter</i>	<i>Candida</i>
<i>Actinobacillus</i>	<i>Pneumocystis carinii / jiroveci</i>
<i>Actinomyces</i>	
<i>Cardiobacterium</i>	
<i>Corynebacterium</i>	
<i>Eikenella</i>	
Enterobacteriaceae	
<i>Eubacterium</i>	
<i>Fusobacterium</i>	
<i>Haemophilus</i>	
<i>Kingella</i>	
<i>Moraxella</i>	
<i>Mycoplasma</i>	
<i>Neisseria</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	
<i>Porphyromonas</i>	
<i>Prevotella</i>	
<i>Propionibacterium</i>	
<i>Staphylococcus</i>	
<i>Streptococcus</i> (grupo viridans principalmente)	
<i>Stomatococcus</i>	
<i>Veillonella</i>	

La microbiota encontrada en las vías respiratorias altas es muy similar a la encontrada en el tracto digestivo, esto se debe a la gran cercanía que existe entre ellos, y que comparten la cavidad bucofaríngea. Las vías respiratorias bajas se deben de encontrar en un esquema de esterilidad, de encontrarse un microorganismo, es posible que esté cause una infección.

Las infecciones de vías respiratorias altas por lo común incluyen la cavidad nasal y la faringe; en su mayor parte son causadas por virus (más de 80 % de los casos). La rinitis (o coriza) implica la inflamación de la mucosa nasal, la faringitis denota la infección faríngea y el término amigdalitis indica afección inflamatoria de las amígdalas. La faringitis y amigdalitis se relacionan con dolor faríngeo y con la aparición de eritema e hinchazón de los tejidos afectados. Puede haber exudados, que consisten sobre todo en células inflamatorias en la mucosa suprayacente y hemorragias petequiales; estas últimas tienden a ser más prominentes en infecciones bacterianas (Barret K., 2013; Ryan K., 2011).

Tabla 2.2. Principales enfermedades en las vías respiratorias altas. Adaptada de Ryan K., Ray G. (2011).

Enfermedad	Virus	Bacterias y hongos
Rinitis	Rinovirus, adenovirus, coronavirus, virus de parainfluenza, virus de la influenza, virus sincitial respiratorio, algunos virus Cocksackie A	Poco común
Faringitis o amigdalitis	Adenovirus, virus de la parainfluenza, virus de la influenza, rinovirus, virus Cocksackie A o B, virus del herpes simple, virus de Epstein-Barr	Estreptococos del grupo A, <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Absceso periamigdalino o retrofaríngeo	Ninguno	Estreptococos del grupo A (el más común), anaerobios en la cavidad bucal como bacterias del género <i>Fusobacterium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> (por lo común en lactantes)

Las infecciones de las vías respiratorias medias La enfermedad inflamatoria que afecta estos sitios puede ser localizada (laringitis) o diseminada (laringotraqueobronquitis). Con la excepción de la epiglotitis, las enfermedades agudas de las vías respiratorias medias por lo común son producidas por virus. Cuando ocurre obstrucción de las vías respiratorias, también deben considerarse otras posibilidades no infecciosas, como la aspiración de un cuerpo extraño, ocasionando reacción anafiláctica (Barret K., 2013; Ryan K., 2011).

Tabla 2.3. Principales enfermedades en las vías respiratorias medias. Adaptada de Ryan K., Ray G. (2011).

Enfermedad	Virus	Bacterias
Epiglotitis	Poco común	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i>
Laringitis y crup	Virus de parainfluenza, virus de la influenza, adenovirus; en ocasiones virus sincitial respiratorio, metaneumovirus, adenovirus, coronavirus, echovirus	Poco común
Traqueitis	Virus de parainfluenza, virus de la influenza, adenovirus; en ocasiones virus sincitial respiratorio, metaneumovirus, adenovirus, coronavirus, echovirus	<i>H. influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
Bronquitis y bronquiolitis	Virus de parainfluenza, virus de la influenza, virus sincitial respiratorio, adenovirus, sarampión	<i>Bordetella pertussis</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i>

Las infecciones de vías respiratorias bajas se desarrollan con la invasión y la enfermedad del pulmón, lo que incluye los espacios alveolares y estructuras de sostén, el intersticio y bronquiolos terminales. La infección puede ocurrir por extensión de una infección de las vías respiratorias medias, por aspiración de patógenos que rebasan los mecanismos de defensa de las vías respiratorias superiores o, con menos frecuencia, por diseminación

hematógica desde sitios distantes como un absceso o una válvula cardiaca infectada. El derrame pleural es un trasudado de líquido hacia la cavidad pleural en respuesta a un proceso inflamatorio en el parénquima pulmonar adyacente. Los principales síndromes presentados cuando existe una infección en estas zonas son las neumonías y los abscesos pulmonares (Barret K., 2013; Ryan K., 2011).

Tabla 2.4. Principales enfermedades de las vías respiratorias bajas. Adaptada de Ryan K., Ray G. (2011).

Enfermedad	Virus	Bacterias comunes	Hongos	Otros agentes infecciosos
Neumonía aguda	Virus de la influenza, parainfluenza, adenovirus, virus sincitial respiratorio (lactantes y personas de edad avanzada), metaneumovirus	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , enterobacterias, <i>Legionella</i> , anaerobios mixtos (broncoaspiración), <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Pneumocystis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> (lactantes), <i>Chlamydia pneumoniae</i>
Neumonía crónica	Poco común	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , otras micobacterias, <i>Nocardia</i>	<i>Coccidioides immitis</i> , <i>Blastomyces dermatitidis</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Paragonimus westermani</i>
Absceso pulmonar	Ninguno	Anaerobios mixtos, <i>Actinomyces</i> , <i>Nocardia</i> , <i>S. aureus</i> , enterobacterias, <i>P. aeruginosa</i>	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Entamoeba histolytica</i>
Empiema	Ninguno	Anaerobios mixtos, <i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> , enterobacterias, <i>P. aeruginosa</i>	Poco común	

2.1. Toma de muestra: Exudado faríngeo/Espujo/Espujo inducido/Aspirado bronquial

Cuando se sospecha de una infección en el tracto respiratorio superior la muestra más adecuada es el exudado faríngeo, aunque el aislamiento de un patógeno o posible patógeno no nos indica que sea el que este causando el cuadro clínico, debido a que estos microorganismos pueden ser parte de la microbiota. En las vías respiratorias bajas y medias, la muestra más común es el espujo, pero en esta muestra se debe de tener cuidado, ya que el paciente tiene que tener un enjuague con agua estéril, o solución salina fisiológica estéril, para que no pueda haber un arrastre de microorganismos de las vías respiratorias altas (Castro C., 2011).

Exudado faríngeo

Material:

- Hisopo estéril.
- Tubo con medio de transporte Amies.
- Abatelenguas.

Toma de muestra:

- Deprimir la lengua con abatelenguas, que tal forma que permita la visualización directa de la zona afectada y evitar que el hisopo entre en contacto con la lengua.
- Frotar y exprimir con el hisopo la zona afectada.
- Colocar el hisopo en el tubo con medio de transporte y llevar al laboratorio a la mayor brevedad.

Nota: Para la epiglotitis el procedimiento es el mismo que en el exudado faríngeo.

Espujo

Material:

- Frasco de boca ancha.

Debe obtenerse un espujo fresco, correspondiente a la primera expectoración de la mañana, tras haber realizado el paciente un cuidadoso enjuague de la boca y gárgaras a

ser posible con suero fisiológico estéril o agua destilada estéril. En pacientes que no expectoran con facilidad puede resultar útil colocarlos en una postura cómoda, tendidos boca abajo y con los hombros y la cabeza más bajos que el resto del cuerpo, durante 10 minutos, de modo que las secreciones se vayan acumulando hacia la laringe y puedan salir en un golpe de tos.

Esputo inducido

Material:

- Frasco de boca ancha.
- Nebulizador.
- Solución salina fisiológica.

Toma de muestra:

- Haga que el paciente se enjuague la boca con agua.
- Con ayuda de un nebulizador, haga que el paciente inhale 25 mL de solución salina estéril al 3-10 %.
- Recoja el esputo inducido en un envase estéril.

Aspirado bronquial

El uso de la broncoscopia, permite obtener la muestra bajo visualización directa de la zona donde se localiza el proceso infeccioso.

Toma de muestra:

- Recogida de secreciones respiratorias a través de fibrobroncoscopio, introduciendo de 3 a 5 mL de suero fisiológico previo a la aspiración. Con menor grado de contaminación que el esputo.

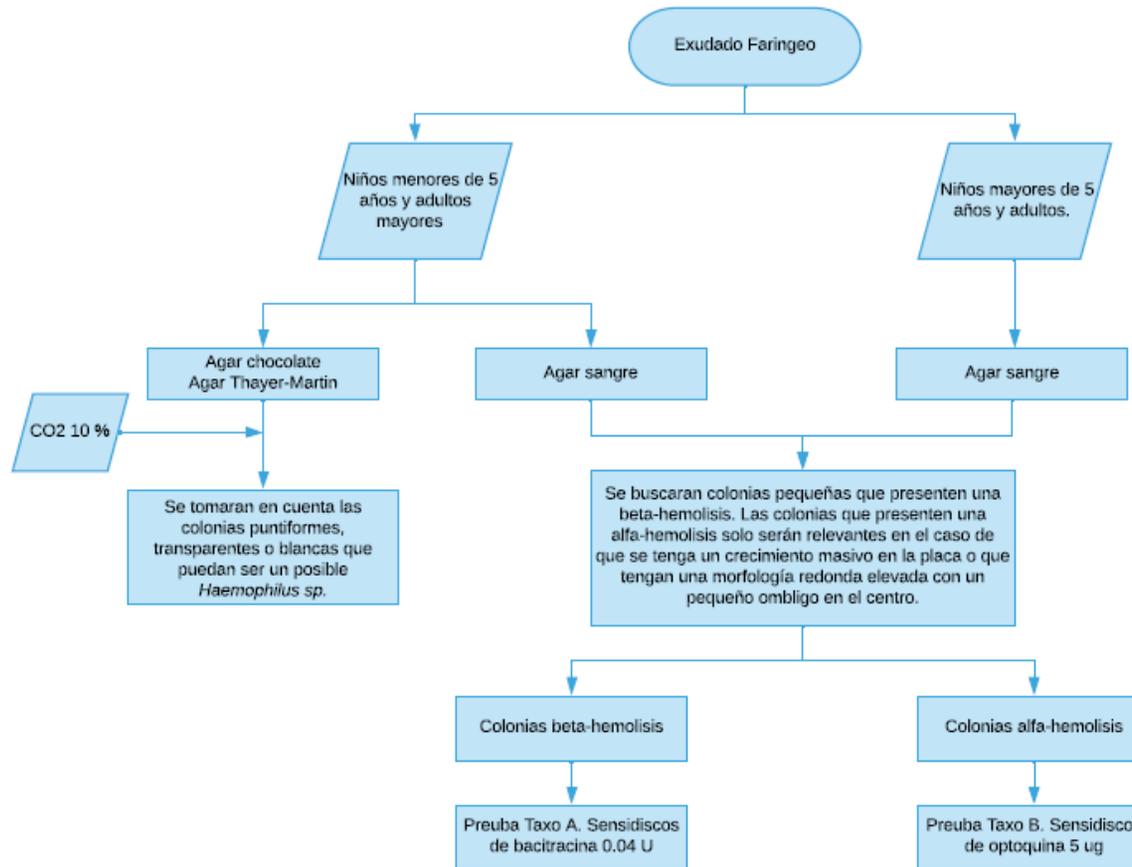
Nota: Esta toma de muestra solo se debe de hacer por un médico experto.



Figura 4. Toma de muestra exudado faríngeo. Obtenido de: https://es.wikipedia.org/wiki/Faringitis_estreptoc%C3%B3cica

2.2. Algoritmo diagnóstico:

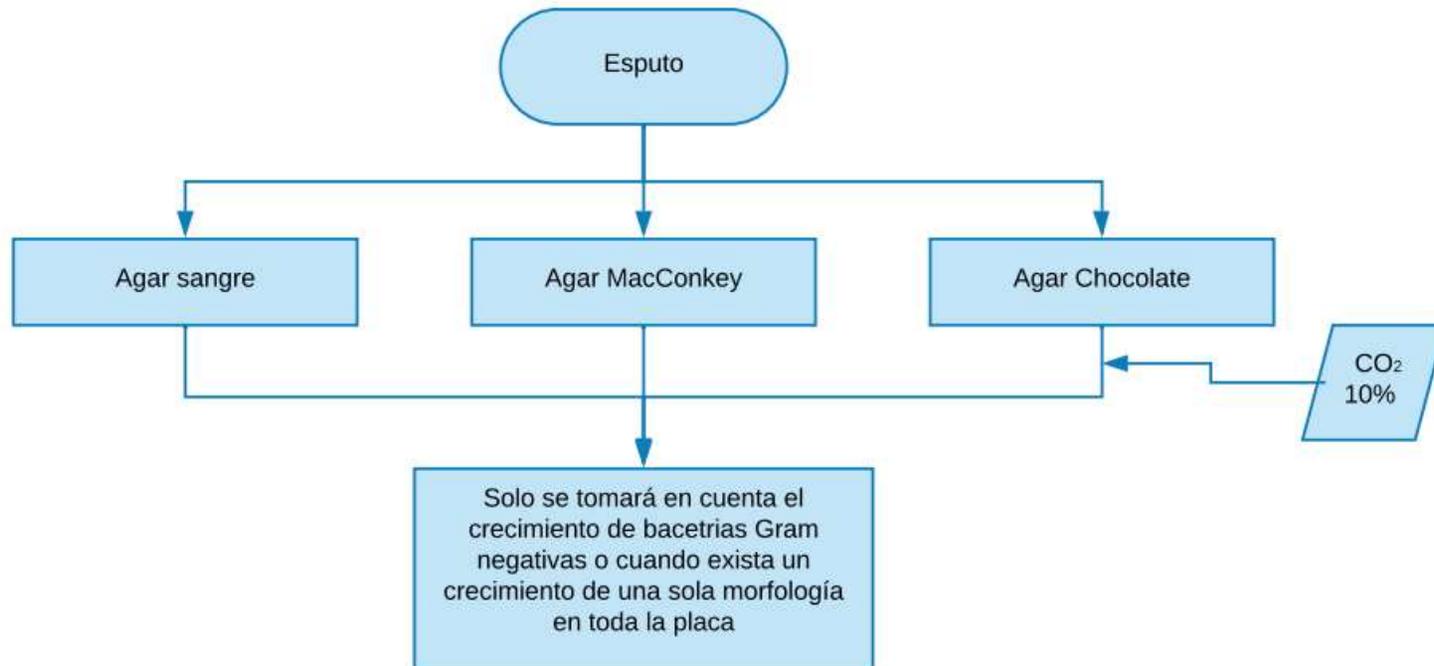
Exudado faríngeo.



Notas:

- Prueba de Taxo A. Sensible: Probable *Streptococcus pyogenes*. y prueba de Taxo B. Sensible: Probable *Streptococcus pneumoniae*. Anexo 4
- Las colonias blancas, elevadas y mucoides indican una probable infección por *Staphylococcus aureus*, por lo cual se debe hacer un sembrado en agar sales y manitol, prueba de catalasa y hemolisis en agar sangre.
- Para la diferenciación de patógenos, una herramienta muy útil es la tinción de Gram.

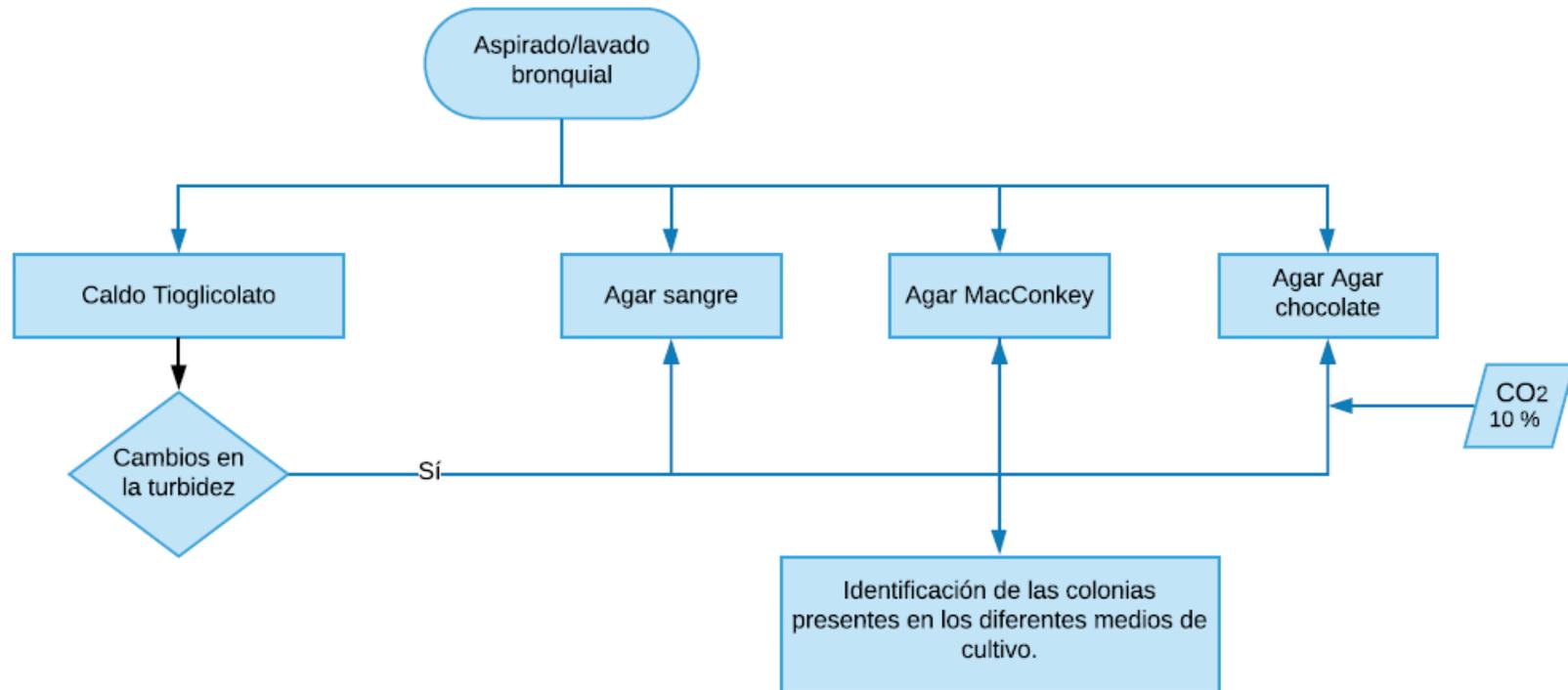
Espuito



Nota.

- La muestra debe de ser de calidad, de lo contrario el crecimiento de bacterias será similar a la microbiota presente en la boca
- Si la muestra contiene porciones sanguinolentas, trabajar la muestra de éstas porciones

Aspirado/lavado bronquial



Nota

- Todas colonias que crezcan en los medios de cultivo serán tomados en cuenta, ya que se trata de una zona estéril.
- El caldo tioglicolato se debe de guardar durante 7 días a una temperatura de 37 °C

Referencias.

- Barret K., Barman, S., Boitano, S., Brooks, H., (2013). *Ganong. Fisiología Médica*. Mc Graw Hill.
- Castro, C., (2011). PNT Manual de toma de muestra. *Unidad Clínica de enfermedades infecciosas y microbiología*. Hospital Universitario Virgen de Valme. España Recuperado de: <https://bit.ly/3LOz0yi>
- García, L., (2013). Mecanismos de defensa pulmonar. *Medicina respiratoria*. 6(2);15-24. Hospital de la Santa Creu. España. Disponible en: <https://bit.ly/3GoqtRQ>
- Jiménez, L., Ramírez, G., Zúñiga, J., (2009). Mecanismos moleculares y celulares de la respuesta inmune del pulmón. *Revista Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias México*. (304-315). Disponible en: <https://bit.ly/3wMvj7Y>
- Murray, P., Rosenthal K., Pfaller, M., (2013). *Microbiología Médica*. Elsevier.
- Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill
- Stanfield C., (2011). *Principios de Fisiología Humana*. España. Pearson.

3. Aparato Urinario

Los riñones, la vejiga y los uréteres constituyen el aparato urinario. En el interior de los riñones la unidad funcional es la nefrona y cada riñón tiene aproximadamente 1 millón de éstas. Otras de sus funciones son la reabsorción de glucosa y aminoácidos a partir del filtrado plasmático, además de regular la entrada de calcio y fosfato (que es alta en niños). Los riñones intervienen en la gluconeogénesis y durante el ayuno sintetizan y liberan glucosa en la sangre, y producen casi 20 % de la capacidad glucógena del hígado. Los riñones también son órganos endocrinos y elaboran cininas, así como 1,25-dihidroxicolecalciferol, eritropoyetina; además, sintetizan y secretan renina (Barret K., 2011).

En el proceso de regulación de contenido de solutos del plasma (y, por tanto, del líquido extracelular), los riñones desempeñan una función esencial en el mantenimiento de la excitabilidad normal de tejidos nerviosos y musculares. Recordemos que el potencial de membrana en reposo depende de los gradientes electroquímicos de los iones de sodio y potasio a través de las membranas celulares. Los riñones son necesarios para mantener el nivel plasmático de estos iones. Los riñones también participan el equilibrio ácido-base, regulando el nivel plasmático de bicarbonato e iones de hidrógeno (Stanfield C., 2011).

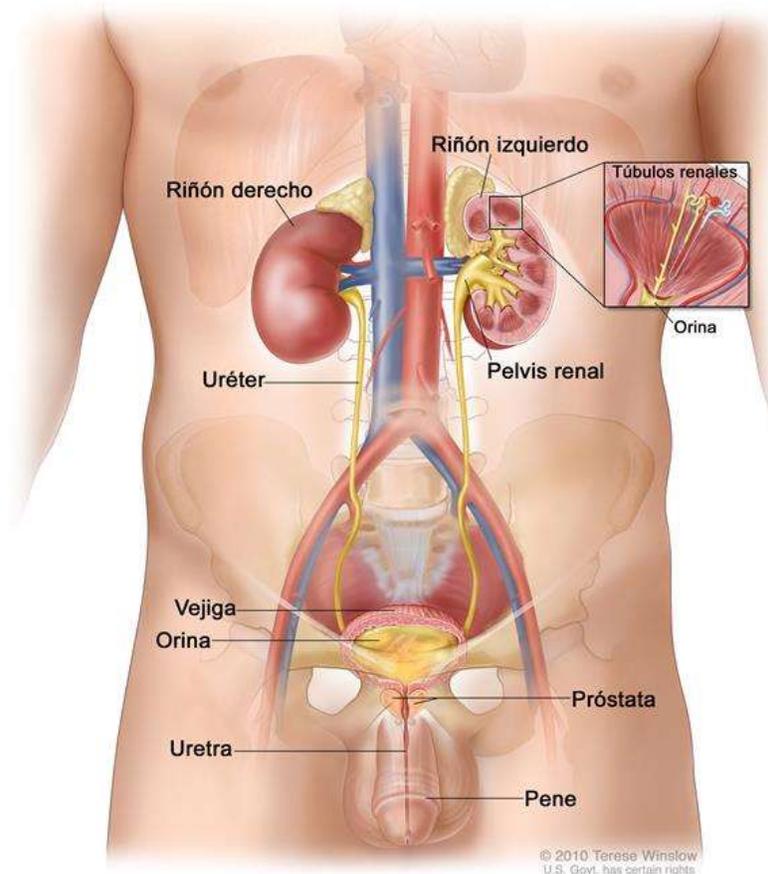


Figura 5. Principales estructuras del aparato urinario.

Obtenido de: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/vias-urinarias>

El aparato urinario desempeña funciones excretoras esenciales y elimina residuos orgánicos generados por las células en todo el cuerpo. También ejerce otras funciones, que a veces no son tenidas en cuenta. Una lista de dichas funciones es la siguiente:

1. *Regulación de las concentraciones plasmáticas de sodio, potasio, cloruro, calcio y otros iones* mediante control de las cantidades perdidas en la orina.
2. *Regulación del volumen y la presión sanguíneos* mediante: a) ajuste del volumen de agua perdido en orina; b) liberación de eritropoyetina, y c) liberación de renina.
3. *Contribución a la estabilización del pH* sanguíneo.
4. *Conservación de nutrientes útiles* previniendo su excreción urinaria.
5. *Eliminación de residuos orgánicos*, en especial nitrogenados como *urea* y *ácido úrico*, sustancias tóxicas y fármacos.

6. *Síntesis de calcitriol*, hormona derivada de la vitamina D3 que estimula la absorción de calcio en tejido y hueso.
7. *Ayuda al hígado* en la eliminación de tóxicos y, durante los períodos de ayuno, en la desaminación de aminoácidos, para que puedan ser descompuestos por otros tejidos (Martini F., 2009).

Todos los desechos excretados por los riñones son eliminados a través de la orina, la cual es un líquido amarillo resultado de la depuración y filtración de la sangre. Los compuestos que podemos encontrar en la orina, son compuestos nitrogenados (urea), sales e incluso el desecho de azúcares.

La vejiga es una mucosa constituida por tejido estratificado de tres a seis capas uroteliales, clasificadas en basal (5-10 μm), intermedia (20 μm) y de superficie (25-250 μm); además, la submucosa contiene vasos sanguíneos y linfáticos. Las células del revestimiento del tracto urinario (TU) son la primera línea de defensa contra los uropatógenos y se caracterizan principalmente por secretar proteínas solubles, como la uromodulina. Esta proteína estimula la liberación de IL-1, IL-6 y IL-8. La uromodulina evita la adherencia de *E. coli* uropatogénica (UPEC) al TU por la inducción de agregados bacteria-uromodulina, facilitando la eliminación de la bacteria por el flujo de orina. Los TLR-2, TLR-4, TLR-5 y TLR-11 son capaces de iniciar una fuerte respuesta inmunitaria proinflamatoria. La activación temprana (2 horas pos-infección) de PRR en las células del TU por UPEC favorece la liberación de IL-8, un quimioatrayente que genera la migración de neutrófilos a la vejiga para la eliminación de la bacteria. Por debajo del uroepitelio se localizan células cebadas (mastocitos), que actúan como inmunomoduladoras durante las infecciones del tracto urinario, induciendo la liberación de citocinas proinflamatorias, como TNF (factor de necrosis tumoral), y la histamina. De 6 a 12 horas pos-infección, los mastocitos producen IL-10, que suprime la respuesta inmunitaria (Luna V., 2017).

Las enfermedades de los riñones son muchas y entre las más comunes están las lesiones agudas y crónicas de los mismos como nefropatía diabética, síndromes nefríticos y nefróticos, riñón poliquístico, obstrucción e infección de vías urinarias y cánceres de riñón. Cuando la función de estos órganos disminuye al grado de que dejan de funcionar

para conservar la salud, en ocasiones se recurre a la diálisis y al final al trasplante (Barret K., 2013).

Más de 95 % de las infecciones de vías urinarias son causadas por bacilos Gram negativos, 90 % de los cuales corresponde a *E. coli*. Otras enterobacterias, *Pseudomonas* y bacterias Gram positivas cada vez se hacen más comunes en pacientes crónicos, complicados y hospitalizados. De las bacterias Gram positivas, las más importantes incluyen a los *Enterococcus*. *Staphylococcus saprophyticus* es un estafilococo coagulasa-negativo que hoy en día se reconoce como la causa en una minoría significativa de infecciones sintomáticas en mujeres jóvenes con vida sexual activa. Las levaduras, en general las que pertenecen al género *Candida*, pueden aislarse de pacientes con catéteres urinarios que reciben tratamiento antibacteriano y en personas diabéticas, pero rara vez producen enfermedad sintomática (Ryan K., 2011).

Tabla 3.1. Principales Uropatógenos. Adaptado de González J. (2015).

Bacterias	Hongos	Parásitos
<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		
<i>Enterococcus faecalis</i>		
<i>Proteus</i> spp. (más frecuente en varones)		
<i>Providentia</i> spp. (más frecuente en varones)		
<i>Klebsiella</i> spp.		
<i>Pseudomonas</i> spp.		
<i>Citrobacter</i> spp.		
<i>Serratia</i> spp.		
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>		

La mayor parte de las infecciones del tracto urinario ocurren en la mujer, y la mayor parte de los esfuerzos e investigación se dirigen a este grupo; el varón es también susceptible de padecer infecciones urinarias. De hecho, hasta el 12 % de los varones situados entre los 14-61 años van a presentar a lo largo de su vida un episodio de infección urinaria.

Las bacterias que generan las infecciones en el varón difieren de las bacterias aisladas con frecuencia en la subpoblación femenina. En el varón, prácticamente el 75 % del total

de infecciones urinarias se encuentran producidas por gérmenes Gram negativos, pero a diferencia de la mujer solo en el 25 % de estas infecciones *E. coli* es el responsable de la misma. El resto de los cuadros infecciosos del varón presentan como germen responsable habitualmente otro bacilo Gram negativo (*Proteus* spp., y con menos frecuencia, *Providentia* spp.). Los gérmenes Gram positivos son responsables de hasta el 20 % de los cuadros infecciosos urinarios en el varón.

Las bacterias que colonizan la orina de forma más frecuente son saprofitos habituales de la flora intestinal. Estas bacterias pueden alcanzar la mucosa vaginal bajo diferentes condiciones y adherirse a la mucosa con cierta facilidad. Desde la mucosa vaginal pueden asimismo alcanzar el orificio uretral externo y establecer una vía de comunicación ascendente hacia la vejiga (González J., 2015; Ryan K., 2011).

Muchas de las interacciones que se establecen entre la bacteria y el endotelio se establecen a través de las denominadas fimbrias bacterianas y la capa de glucosaminoglucanos y glicolípidos que recubre la superficie endotelial. En ocasiones las bacterias pueden secretar toxinas con capacidad para deteriorar o dañar el endotelio o proteasas que incrementan la resistencia bacteriana en medio ácido (ureasa) (González J., 2015).

Tabla 3.2. Factores de virulencia bacteriana más comunes y su mecanismo de acción. Adaptado de González J. (2015).

Factor	Acción
<i>Pili</i> tipo I	Hemaglutininas sensibles a manosa, que se adhieren a la uroplaquina Ia y Ib (Proteínas de membrana uroteliales). Principalmente encontrada en <i>E. coli</i> .
<i>Pili</i> tipo P	Hemaglutinina insensible a la manosa. Alta afinidad por el epitelio de revestimiento del sistema colector de los cálices renales. Principalmente encontrada en <i>E. coli</i> .
Hemolisina	Toxina secretada con capacidad para producir la lisis de los hematíes
Ureasa	Proteasa con capacidad para fragmentar la urea (producida por <i>Pseudomonas</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>S. saprophyticus</i>) produciendo litiasis de fosfato amónico-magnésico (estruvita)
Factor de incremento de motilidad	Cambio de configuración fenotípica de algunas especies de <i>Proteus</i> que incrementan de forma notable la virulencia del patógeno
CNF-1 (Factor necrotizante citotóxico tipo I)	Toxina producida por algunas especies de <i>E. coli</i> con efecto citolítico sobre el parénquima renal

La orina en sentido estricto es bactericida, a pesar de que los mecanismos adaptativos han proporcionado a determinadas cepas de *E. coli* la capacidad para crecer en este medio. Existen ciertos factores en la orina que dificultan o inhiben el crecimiento bacteriano, como la acidez, la osmolaridad, la urea, la presencia de determinados ácidos orgánicos y los factores inhibitorios secretados. El factor inhibitorio secretado más importante es la proteína de Tamm-Horsfall (uromodulina). Se trata de una glicoproteína sintetizada por las células del epitelio tubular de la porción ascendente del asa de Henle y las células parietales del túbulo contorneado distal. Esta glicoproteína funciona como un receptor matricial para las bacterias que expresan fimbrias de tipo I y de tipo S, evitando de este modo la adhesión de las fimbrias al epitelio. Además, la proteína de Tamm-Horsfall se une a los neutrófilos para facilitar la fagocitosis. Sin embargo, esta proteína no presenta actividad hacia los *pilli P*, explicando en parte el incremento en la virulencia de las cepas que expresan este tipo de fimbrias (González J., 2015).

3.1 Toma de muestra: Chorro medio/Cateterización/Punción suprapúbica

La orina es un medio de cultivo excelente, por tanto las muestras deben ser enviadas rápidamente al laboratorio. El almacenamiento a temperatura ambiente puede durar de 1 a 2 horas, después de eso, se tiene que mantener en refrigeración, de lo contrario se necesitara una nueva muestra (Castro C., 2011).

Chorro medio

Material:

- Frasco estéril de boca ancha de cierre preferentemente hermético.

Toma de muestra mujeres:

- Lavarse las manos.
- Lavarse los genitales con agua estéril o solución salina y jabón neutro. Lavarse de delante hacia atrás, para evitar la contaminación anal.
- Sepárese los labios mayores con una mano y con la otra tome el frasco de boca ancha abierto.

- Desechar el primer chorro en el retrete. El segundo chorro recójalo en el frasco de boca ancha, y desechar el último.
- Cerrar el frasco inmediatamente, sin tocar los bordes ni el interior.

Toma de muestra hombres:

- Lavarse las manos.
- Lavarse los genitales, para ello retirar el prepucio y limpiar el glande, con agua estéril o solución salina y jabón estéril neutro.
- Desechar el primer chorro en el retrete.
- El segundo chorro recójalo en el frasco de boca ancha, y desechar el último.
- Cerrar el frasco inmediatamente, sin tocar los bordes ni el interior.

Punción suprapúbica

Material:

- Solución aséptica y torundas de algodón estériles.
- Aguja No. 21.
- Jeringa estéril de 10 mL.
- Frasco estéril para cultivo.

Toma de muestra:

- Dar un buen aporte de líquidos para que la vejiga esté llena.
- Inmovilizar al paciente en posición decúbito dorsal.
- Limpiar con solución antiséptica el cuadrante medio inferior del abdomen con solución antiséptica.
- Secar el área.
- Localizar la sinfisis púbica con un dedo.
- Insertar la aguja con la jeringa colocada 1 cm arriba de la sinfisis púbica en la línea media.
- Se punciona en dirección al coxis en un ángulo de 30° hasta llegar a la cavidad vesical (2-3 cm de profundidad).
- Aspirar hasta obtener 3 mL por lo menos.
- Retirar la aguja junto con la jeringa.

- Limpiar el área de punción con solución antiséptica.
- Cubrir con torunda estéril el punto de punción.

Nota: Esta muestra solo se debe hacer por un médico experto

Sonda uretral

Material:

- Solución aséptica y torundas de algodón estériles.
- Jeringa estéril de 3 mL.
- Frasco estéril para cultivo.

Toma de muestra:

- Limpiar el extremo distal del catéter con alcohol.
- Con jeringa de 3 mL. introducir la aguja en el catéter.
- Aspirar 1-2 mL. de orina. Si no pudiera obtenerse orina a partir de este punto, levantar cuidadosamente el tubo y hacer refluir una pequeña cantidad de orina desde la parte baja del mismo, pero teniendo cuidado de no forzar el retorno de la orina a la vejiga.

Pool de orina de 24 h Se emplea para el estudio de parásitos: *Schistosoma haematobium*, microfilarias de *Onchocerca volvulus* y *Trichomonas vaginalis* en hombres. Solo bajo ciertas condiciones se recibe la muestra de catéter.

3.2. Algoritmo diagnóstico:

En este caso en particular se sembrara la muestra con asa calibrada de 10 μ L, y se estría por técnica de agotamiento como se ven en la siguiente imagen.

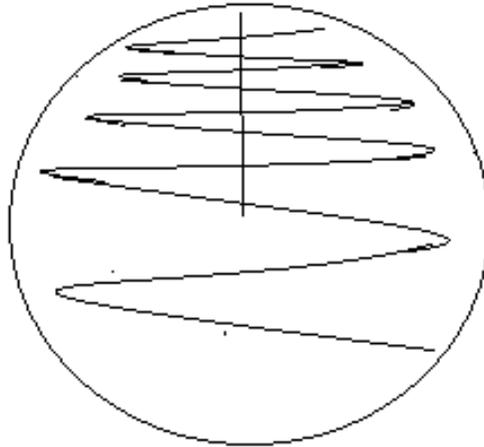
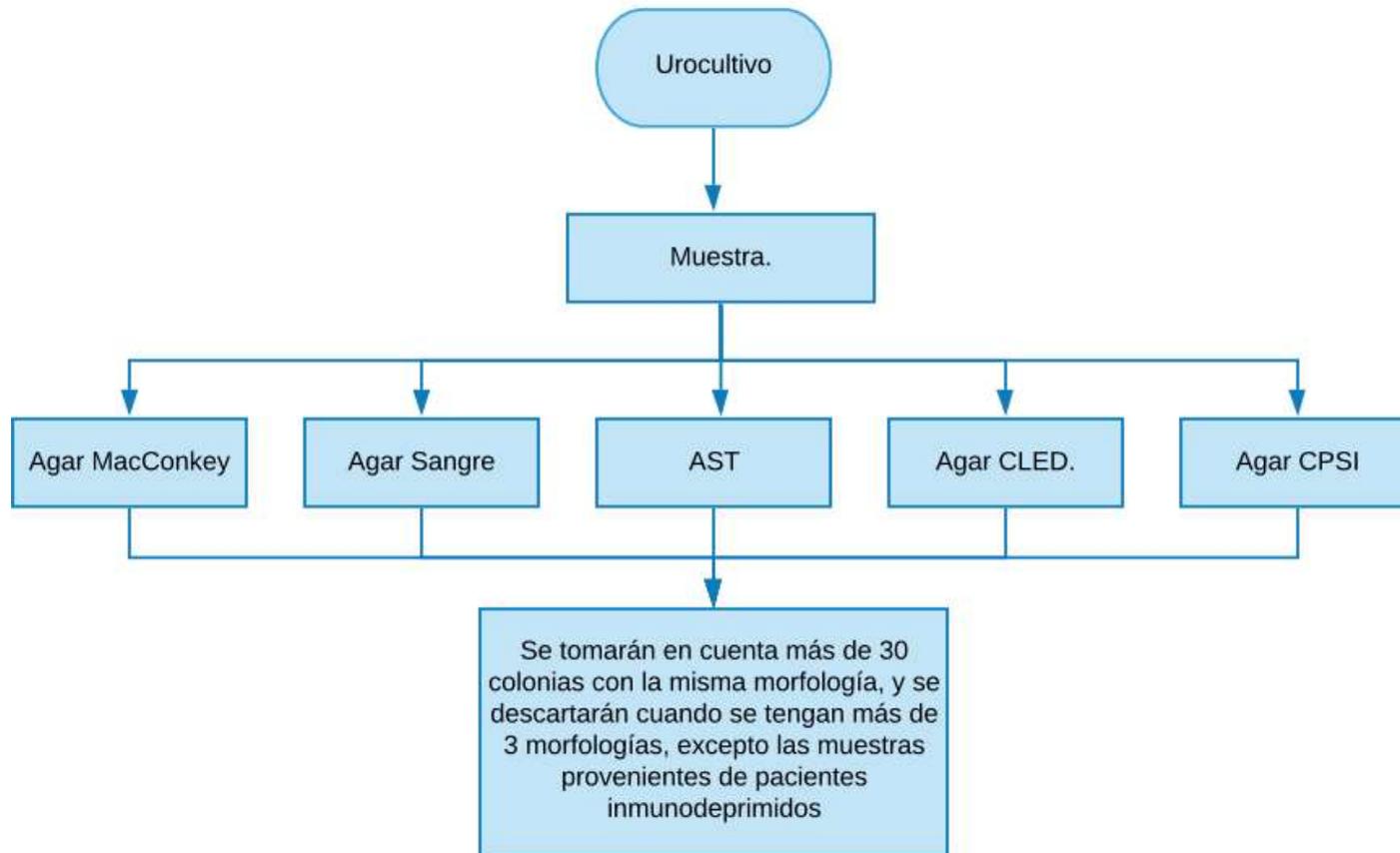
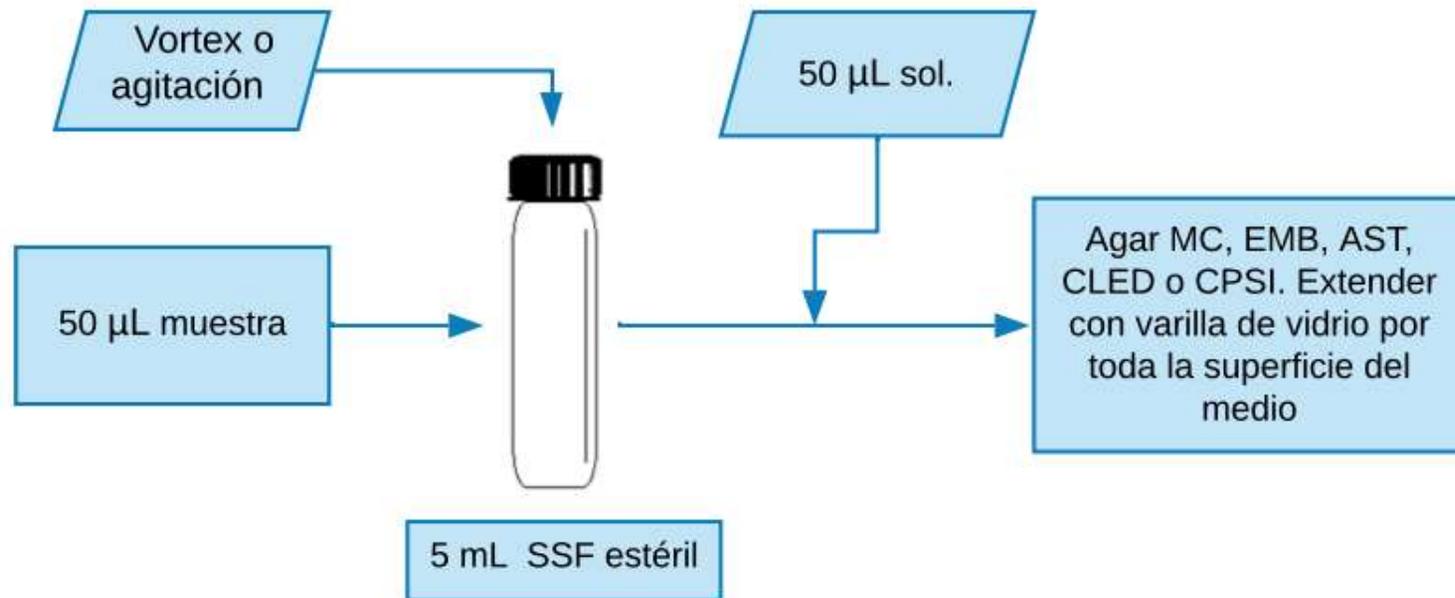


Figura 6. Técnica de siembra por agotamiento en líneas paralelas



Método alternativo de inoculación de la muestra



Nota.

- Cuando se trata de una concentración bacteriana alta, este método ayuda a la distribución de las Unidades Formadoras de Colonia (UFC).
- Este método es igual de eficiente que el anterior, aunque ocupa más material, por lo que no suele ocuparse en muchos hospitales, sobre todo aquellos con una carga elevada de trabajo.

Referencias.

- Barret K., Barman, S., Boitano, S., Brooks, H., (2013). *Ganong. Fisiología Médica*. Mc Graw Hill.
- Castro, C., (2011). PNT Manual de toma de muestra. *Unidad Clínica de enfermedades infecciosas y microbiología*. Hospital Universitario Virgen de Valme. España Recuperado de: <https://bit.ly/3LOz0yj>
- González, J., (2015). Infecciones urinarias bacterianas no complicadas. *Medicine*. 11(83):4950-63. Hospital Central de la Cruz Roja San José y Santa Adela. Madrid. España.
- Luna, V., Ochoa, S., Cruz, A., Cázares, V., Vélez, F., Hernández, R., Xicohtencatl, J., (2017). Infecciones del tracto urinario, inmunidad y vacunación. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. 75:67-78, Disponible en: <https://bit.ly/39SExGT>
- Martini, F., Timmons, M., Tallitsch, R., (2009). *Anatomía Humana*. España. Pearson.
- Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill
- Stanfield C., (2011). *Principios de Fisiología Humana*. España. Pearson.

4. Aparato Genital

Los hombres y las mujeres tienen órganos reproductores anatómicamente distintos que se encuentran adaptados para la producción, almacenamiento, maduración y transporte de las células reproductoras funcionales masculinas y femeninas, conocidos como gametos. La combinación del material genético presente en el espermatozoide paterno y el óvulo materno inmaduro sucede poco tiempo después de la fecundación. La fecundación da lugar a un cigoto, una célula única que crecerá, se desarrollará y dividirá muchas veces durante 9 meses para dar lugar a un lactante que crecerá y madurará. De igual modo, el aparato reproductor fabrica hormonas sexuales que influyen en la estructura y el funcionamiento de los demás sistemas orgánicos. Los órganos reproductores pueden dividirse según su función (Gónadas, conductos, glándulas genitales accesorias y estructuras de sostén), así como por su anatomía (Órganos genitales externos, órganos genitales internos y glándulas genitales accesorias) (Martini F., 2009; Tortora G., 2006).

Los aparatos reproductores masculino y femenino presentan importantes diferencias funcionales. En un hombre adulto, las gónadas, conocidas como *testículos*, secretan unas hormonas sexuales denominadas *andrógenos*, principalmente *testosterona*, y producen diariamente alrededor de medio millón de espermatozoides. Los espermatozoides maduros almacenados recorren un largo sistema de conductos en el que se incorporan a las secreciones de las glándulas accesorias para formar la mezcla conocida como *semen*. El semen se expulsa del organismo durante la *eyaculación* (Martini F., 2009).

Los órganos que conforman el aparato reproductor masculino son:

- Testículos: Órganos glandulares con una doble función: la producción de espermatozoides y la testosterona; tienen forma ovoide y contienen en su interior los túbulos seminíferos y tejido glandular secretor de la hormona masculina mencionada. Constituyen las gónadas masculinas y tienen el mismo origen embriológico que los ovarios o gónadas femeninas.

- Escroto: Es un saco cutáneo exterior que contiene los testículos y está situado inferiormente en relación al pene e inferiormente en relación a la sínfisis del pubis.
- Pene: Órgano cilíndrico formado por dos cuerpos cavernosos y un cuerpo esponjoso a través del cual se encuentra la uretra. Se distinguen la raíz, el pene y el glande en donde desemboca el meato urinario en el orificio uretral.
- Conductos deferentes: Como su nombre lo indica son dos conductos continuación de los epidídimos que se dirigen hacia la cavidad pelviana pasando por la cara posterior de la vejiga, se unen a los conductos de las vesículas seminales constituyendo los conductos eyaculadores, atraviesan la próstata y finalmente desembocan en la uretra peneana, la cual permite el paso de orina y también el semen en el momento de la eyaculación.
- Vesícula seminal: Las vesículas seminales son 2 largos tubos de unos 15 cm de longitud que están enrollados y forman unas estructuras ovaladas en la base de la vejiga, por delante del recto. Producen una secreción espesa y alcalina que contiene fructosa, prostaglandinas y diversas proteínas, que se mezcla con el esperma a medida que éste pasa a lo largo de los conductos eyaculadores hasta el conducto deferente.
- Epidídimos: Los tubos seminíferos se enrollan sobre sí mismos y este apilotonamiento constituye dos formaciones que por encontrarse encima de los testículos se denominan epidídimos. Aquí es donde los espermatozoides son almacenados para pasar las etapas finales de su maduración, El epidídimo ayuda a expulsar los espermatozoides hacia el conducto deferente durante la excitación sexual por medio de contracciones peristálticas del músculo liso de su pared. Los espermatozoides pueden permanecer almacenados y viables en el epidídimo durante meses.
- Próstata: La próstata es la mayor glándula accesoria del sistema reproductor masculino, Se sitúa en la pelvis por debajo de la vejiga urinaria y detrás de la sínfisis del pubis y rodea la primera porción de la uretra. Produce un líquido lechoso y levemente ácido y contiene ácido cítrico, enzimas proteolíticos y sustancias antibióticas que contribuyen a disminuir el crecimiento de bacterias en el semen y el aparato reproductor femenino.

- Glándulas bulbouretrales: Se encuentran por debajo de la próstata, son aproximadamente del tamaño de un frijol. Durante la excitación sexual secretan un líquido alcalino al interior de la uretra que protege a los espermatozoides, neutralizando la acidez de la uretra y moco que lubrica el extremo del pene y las paredes de la uretra, disminuyendo el número de espermatozoides que resultan dañados por la eyaculación.
- Uretra masculina: La uretra masculina es un tubo muscular que transporta la orina y el semen hasta el orificio externo de la uretra o meato uretral, localizado en el extremo del glande (Reiriz J., 2015; Secretaria de Salud, 2002).

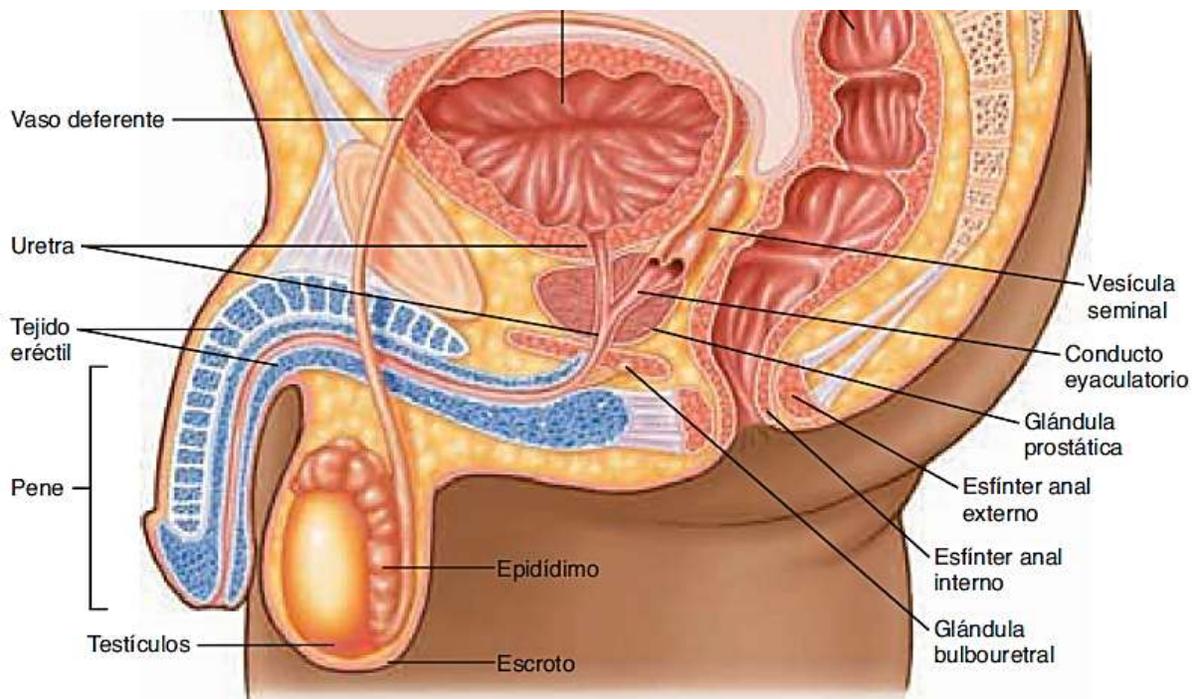


Figura 7. Aparato reproductor masculino. Obtenida de Stanfield C, (2011).

En la mujer adulta, las gónadas, u ovarios, suelen producir solamente un gameto inmaduro, u ovocito, cada mes. El ovocito viaja a través de los cortos tubos uterinos (oviductos) que desembocan en el útero muscular. La vagina, un pasadizo de corta longitud, conecta el útero con el exterior. Durante el coito, la eyaculación masculina introduce semen en la vagina, de modo que los espermatozoides pueden ascender a lo largo del tubo reproductor femenino hasta encontrar un ovocito y fecundarlo (Martini F., Reiriz J., 2015).

Los órganos que conforman el aparato reproductor femenino son:

- Labios mayores: Los labios mayores son dos grandes pliegues de piel que contienen en su interior tejido adiposo subcutáneo y que se dirigen hacia abajo y hacia atrás desde el monte del pubis. El orificio entre los labios mayores se llama hendidura vulvar.
- Labios menores: Los labios menores son dos delicados pliegues de piel que no contienen tejido adiposo subcutáneo ni están cubiertos por vello pero que poseen glándulas sebáceas y sudoríparas. Los labios menores rodean el vestíbulo de la vagina.
- Vestíbulo de la vagina: El vestíbulo de la vagina es el espacio situado entre los labios menores y en él se localizan los orificios de la uretra, de la vagina y de los conductos de salida de las glándulas vestibulares mayores (de Bartolino) que secretan moco durante la excitación sexual, el cual se añade al moco cervical y proporciona lubricación.
- Clítoris: El clítoris es un pequeño órgano cilíndrico compuesto por tejido eréctil que se agranda al rellenarse con sangre durante la excitación sexual. Tiene 2-3 cm de longitud y está localizado entre los extremos anteriores de los labios menores.
- Vagina: La vagina es el órgano femenino de la copulación, el lugar por el que sale el líquido menstrual al exterior y el extremo inferior del canal del parto. Se trata de un tubo musculomembranoso que se encuentra por detrás de la vejiga urinaria y por delante del recto. La pared vaginal tiene 3 capas: una externa o serosa, una intermedia o muscular (de músculo liso) y una interna o mucosa que consta de un epitelio plano estratificado no queratinizado y tejido conectivo laxo que forma pliegues transversales.
- Útero o matriz: El útero es un órgano muscular hueco con forma de pera que constituye parte del camino que siguen los espermatozoides depositados en la vagina hasta alcanzar las trompas de Falopio. Posee tres capas: la externa serosa que no es más que el peritoneo que lo recubre, una capa muscular con fibras dispuestas en varias direcciones y que actúan en el mecanismo del parto y una capa mucosa llamada endometrio; éste sufre modificaciones durante el ciclo menstrual. Posee un cuello o cérvix, un canal cervical, se continúa con la porción

llamada istmo y en la parte más alta el fondo uterino. En los ángulos superiores se encuentran dos orificios que son la desembocadura de las trompas uterinas.

- Trompas de Falopio: Son 2 conductos de 10 - 12 cm de longitud y 1 cm de diámetro que se unen a los cuernos del útero por cada lado. Están diseñadas para recibir los ovocitos que salen de los ovarios y en su interior se produce el encuentro de los espermatozoides con el óvulo y la fecundación.
- Ovarios: Órganos glandulares situados a ambos lados por debajo de las fimbrias. En los ovarios se forman los gametos femeninos u óvulos, que pueden ser fecundados por los espermatozoides a nivel de las trompas de Falopio, y se producen y secretan a la sangre una serie de hormonas como la progesterona, los estrógenos, la inhibina y la relaxina., ambas funciones reguladas por las hormonas hipofisarias durante el ciclo menstrual (Reiriz J., 2015; Secretaria de Salud, 2002).

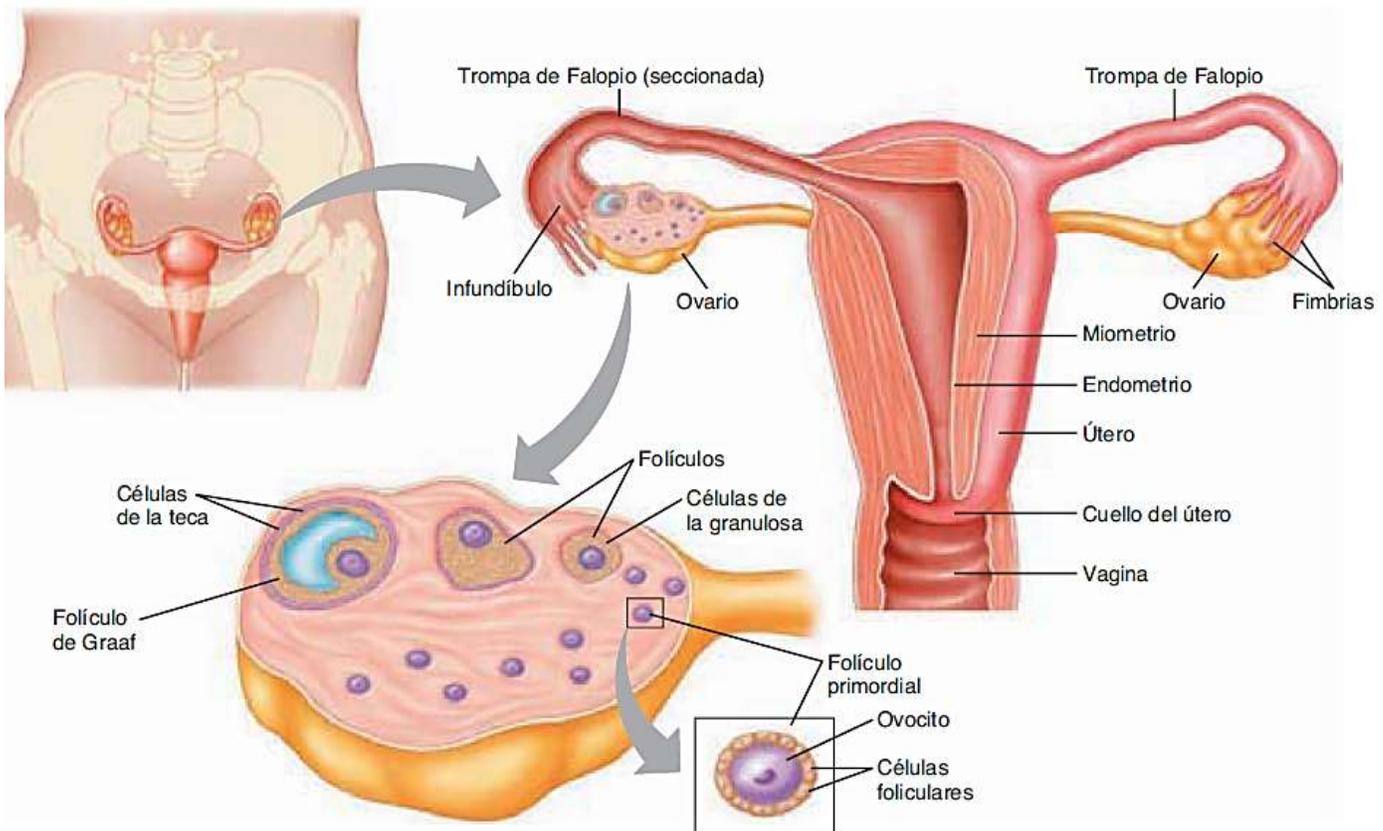


Figura 8. Aparato reproductor femenino. Obtenido de Stanfield C. (2011).

La población microbiana de la vagina es muy heterogénea y se ve influida en gran medida por diversos factores hormonales. Poco después del nacimiento, aparecen lactobacilos

aerobios en la vagina y persisten durante aproximadamente 6 semanas. Después de ese periodo, los valores de estrógenos maternos han disminuido y la flora vaginal se modifica e incluye estafilococos, estreptococos y miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Cuando en la pubertad se inicia la producción de estrógenos, se produce otro cambio de la flora microbiana, los lactobacilos reaparecen como microorganismos predominantes, los estreptococos del grupo B y especies de bacterias anaerobias, entre otras. Estos microorganismos mantienen un pH ácido, al metabolizar carbohidratos, en especial glucógeno, en productos ácidos. Esta microbiota se mantiene hasta a la edad adulta y vuelve a cambiar cuando empieza la menopausia o en el caso de un embarazo. Cuando empieza la menopausia, se restablece una biota mixta (Brooks G., 2013; Murray P., 2013).

Las infecciones genitales más comunes son las infecciones de transmisión sexual (ITS); algunos ejemplos de infecciones genitales que no corresponden a ITS incluyen vaginitis secundaria a tratamiento con antibióticos y epididimitis en personas de edad avanzada. Los microorganismos más comunes en casos de ITS son *Chlamydia trachomatis*, Virus del Papiloma Humano, sífilis (*Treponema pallidum*), chancroide (*Haemophilus ducreyi*), *Trichomonas vaginalis*, virus del herpes simple, *Neisseria gonorrhoeae* y, el más preocupante, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Agentes adicionales que se diseminan por contacto sexual incluyen virus de la hepatitis B y Citomegalovirus.

Dependiendo del patógeno, la enfermedad producida puede ser local o sistémica; para las ITS locales, por ejemplo aquellas producidas por *Chlamydia sp.*, las manifestaciones más comunes incluyen inflamación (p. ej., uretritis, cervicitis), que puede ser notada o no por el paciente. En algunos casos puede haber afección de estructuras profundas con diseminación de la infección más allá del sitio local por extensión directa (p. ej., epididimitis, salpingitis). Al igual que con otras enfermedades infecciosas, algunas de éstas pueden obtener el acceso al torrente sanguíneo y producir síntomas sistémicos y diseminarse a otros órganos. Los principales microorganismos causantes de infecciones genitales son (Brooks G., 2013; Ryan K., 2011):

Tabla 4.1. Infecciones Genitales y los microorganismos causales. Adaptado de Ryan K., Ray G. (2011).

Microorganismos		Síndrome o enfermedad
Bacterias	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Uretritis, cervicitis, proctitis, faringitis, conjuntivitis, endometritis, enfermedad inflamatoria pélvica, bartholinitis, infección gonocócica diseminada
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Uretritis no gonocócica, epididimitis, cervicitis, salpingitis, conjuntivitis de inclusión, neumonía en lactantes, tracoma, linfogranuloma venéreo
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	Uretritis no gonocócica
	<i>Treponema pallidum</i>	Sífilis, condilomas planos
	<i>Haemophilus ducreyi</i>	Chancroide
	<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>	Granuloma inguinal
Virus	HIV	SIDA, complejo relacionado con SIDA, SIDA congénito y perinatal, meningitis aséptica, síndromes neurológicos subagudos, adenopatía generalizada persistente, infección asintomática
	Virus del Herpes Simple	Herpes genital primario y recurrente, meningitis aséptica, herpes neonatal
	Virus del Papiloma Humano	Condilomas acuminados, papilomas laríngeos en el recién nacido, carcinoma cervicouterino
	Citomegalovirus	Mononucleosis infecciosa negativa para anticuerpos heterófilos, defectos congénitos
	Virus de la Hepatitis B	Hepatitis B, infección aguda y crónica
	Virus del Molusco Contagioso	Molusco contagioso genital
Parasitos	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Vaginitis por tricomonas
Hongos	<i>Candida albicans</i>	Candidiasis vulvovaginal y peniana
Ectoparasitos	<i>Phthirus pubis</i>	Pediculosis púbica
	<i>Sarcoptes scabiei</i>	Escabiosis

HIV, Virus de Inmunodeficiencia Humana. SIDA, Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

4.1 Toma de muestra: Exudado endocervical/Exudado uretral

Exudado endocervical

La indicación antes de la toma de muestra es que no se haya usado cremas ni otros medicamentos en la vagina, además de no usar duchas vaginales. No se deben de tener relaciones sexuales cuando menos 48 horas antes. No se deben de usar hisopos de algodón ya que contiene ácidos grasos insaturados y puede intervenir con el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae* (Castro C., 2011).

Material:

- Camilla ginecológica.
- Especulo estéril.
- Torundas o gasas para limpieza.
- Hisopo de alginato de calcio o Dacrón con medio de transporte Amies.

Toma de muestra:

- Colocar a la paciente en posición ginecológica, e introducir el especulo sin lubricante. Si no es posible introducirlo, lubricar con agua tibia.
- Limpiar el exocérvix de secreciones vaginales con una torunda seca.
- Bajo visión directa comprimir cuidadosamente el cérvix con las palas del especulo e introducir un hisopo en el canal endocervical con un suave movimiento de rotación.
- Hacer lo mismo con un segundo y tercer hisopo.

Nota: Para el caso de diagnóstico de *Chlamydia* y de *Mycoplasma* se debe de tener un medio de transporte específico, ya que estas bacterias son intracelulares obligadas.

Exudado uretral

La muestra ha de recogerse preferentemente antes de la primera micción de la mañana. Si esto es imposible, esperar al menos una hora tras la última micción para recogerla. En algunos casos puede ser rentable realizar la investigación de patógenos de transmisión sexual en la orina del primer chorro (Castro C., 2011).

Material:

- Hisopos finos de alginato de calcio o Dacrón con medio de transporte Amies.
- Asa bacteriológica.
- Portaobjetos.
- Torundas o gasas para limpieza.
- Solución salina fisiológica.

Toma de muestra:

- Realizar limpieza del glande con la torunda.
- Se le pide al paciente que retraiga el prepucio durante toda la toma de muestra.
- Si existe un exudado franco, recoger una gota con asa bacteriológica y colocar en portaobjetos (con una gota de solución salina fisiológica). Si no hay corrimiento franco, se puede obtener exprimiendo la uretra desde la raíz del pene.
- Cuando no se obtenga exudado, se introducirá un hisopo suavemente con un movimiento de rotación hasta penetrar unos 2 cm en la uretra. Repetir con un segundo hisopo para examen en fresco.

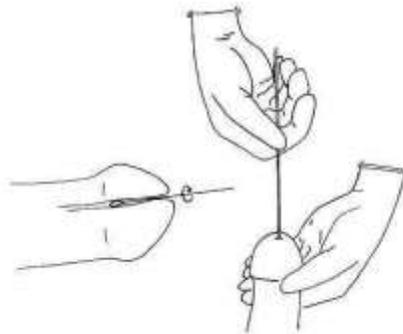
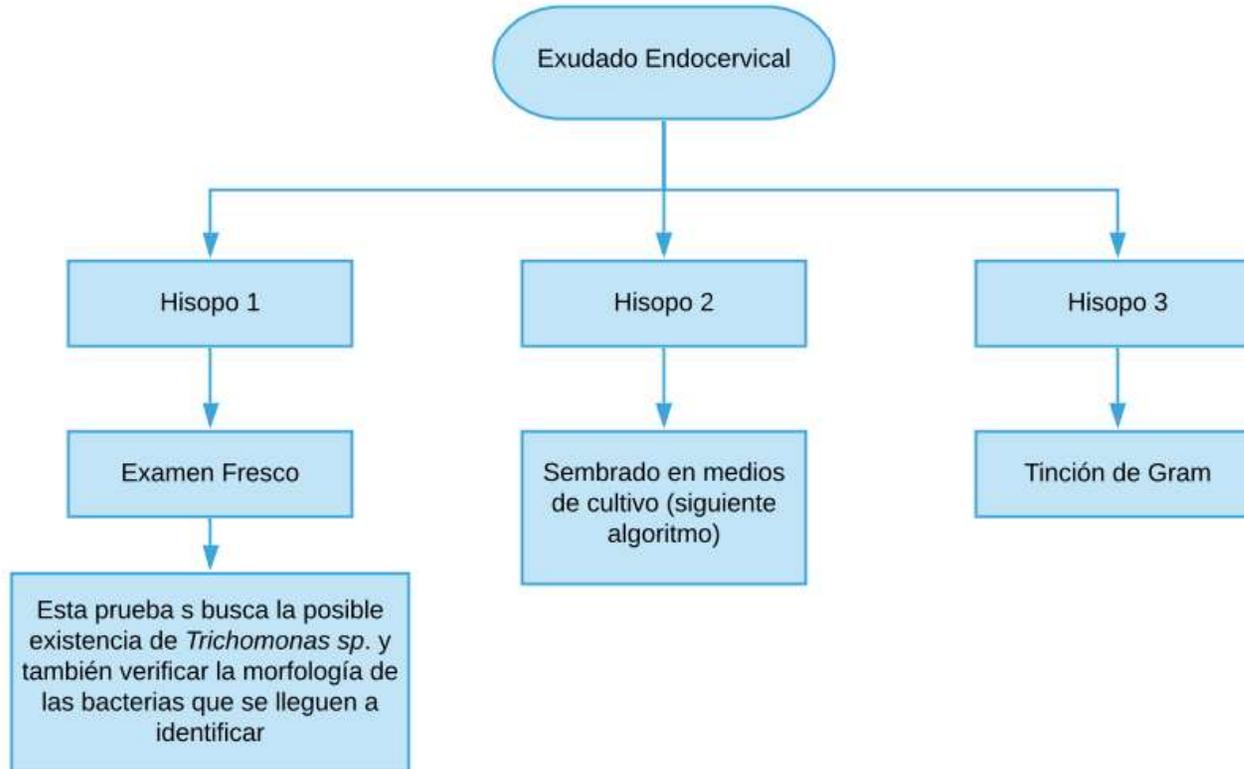
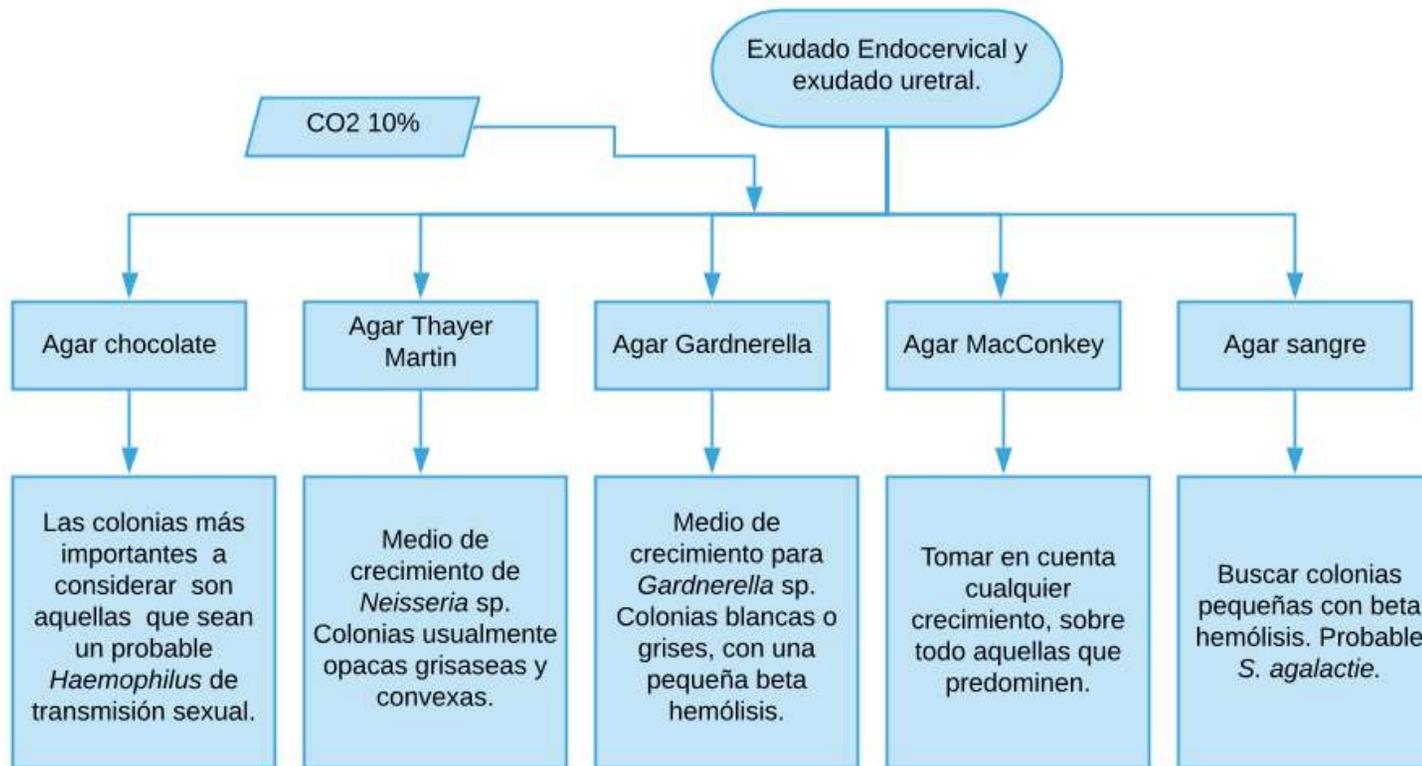


Figura 9. Exudado Uretral. Obtenido de:

https://www.ecured.cu/Cultivo_de_secreci%C3%B3n_uretral

4.2. Algoritmo diagnóstico:





Referencias.

1. Brooks, G., Carrol, K., Butel, J., Morse, S., Mietzner, T., (2013). *Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill
2. Castro, C., (2011). PNT Manual de toma de muestra. *Unidad Clínica de enfermedades infecciosas y microbiología*. Hospital Universitario Virgen de Valme. España Recuperado de: <https://bit.ly/39YHHJn>
3. Martini F. Timmons M. Tallitsch R., (2009). *Anatomía Humana*. España. Pearson.
4. Murray, P., Rosenthal K., Pfaller, M., (2013). *Microbiología Médica*. Elsevier.
5. Reiriz J. (2015). *Sistema Reproductor Femenino*. Consultado el 27 de Abril del 2020. Recuperado de: <https://bit.ly/3LIWTHv>
6. Reiriz J. (2015). *Sistema Reproductor Masculino*. Consultado el 27 de Abril del 2020. Recuperado de: <https://bit.ly/3MRfAKr>
7. Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill
8. Secretaria de Salud. (2002). *Organos Reproductivos y Salud Reproductiva*. Consultado el 27 de Abril de 2020. Recuperado de: <https://bit.ly/3Gj5tvD>
9. Tortora G., Derrickson B., (2006). *Principios de Anatomía y Fisiología*. Ed. Medica Panamericana

5. Infecciones asociadas a piel

El sistema tegumentario está compuesto por la piel, el cabello, las uñas, glándulas sudoríparas, sebáceas y mamarias y los receptores sensitivos. Este sistema ayuda a mantener la temperatura corporal constante, protege al organismo actuando como barrera primaria contra agresiones físicas, químicas y microbiológicas, proporciona información sensitiva del medio circundante, ayuda a mantener la termorregulación e impide la pérdida de líquidos por evaporación. Aunque su localización lo hace más vulnerable a la lesiones, traumatismos y contaminantes ambientales, las cualidades protectoras de la piel la protegen de estos daños (Martini F., 2009; Tortora G., 2006).

La piel cubre la superficie externa del cuerpo y es el órgano más grande tanto en superficie como en peso. La porción superficial, más delgada, está compuesta por tejido epitelial, y se denomina epidermis. La parte profunda y más gruesa de tejido conectivo es la dermis. La epidermis es avascular, mientras que la dermis está vascularizada, por lo cual un corte en la epidermis no produce sangrado, pero uno en la dermis sí lo hace. Debajo de la dermis está el tejido subcutáneo, que no forma parte de la piel. Esta capa también se llama hipodermis y está constituida por los tejidos areolar y adiposo. El tejido subcutáneo almacena grasa y contiene vasos sanguíneos grandes que irrigan la piel. Esta región (y en ocasiones la dermis) también contiene terminaciones nerviosas denominadas corpúsculos de Pacini (lamelares) que son sensibles a la presión (Tortora G., 2006).

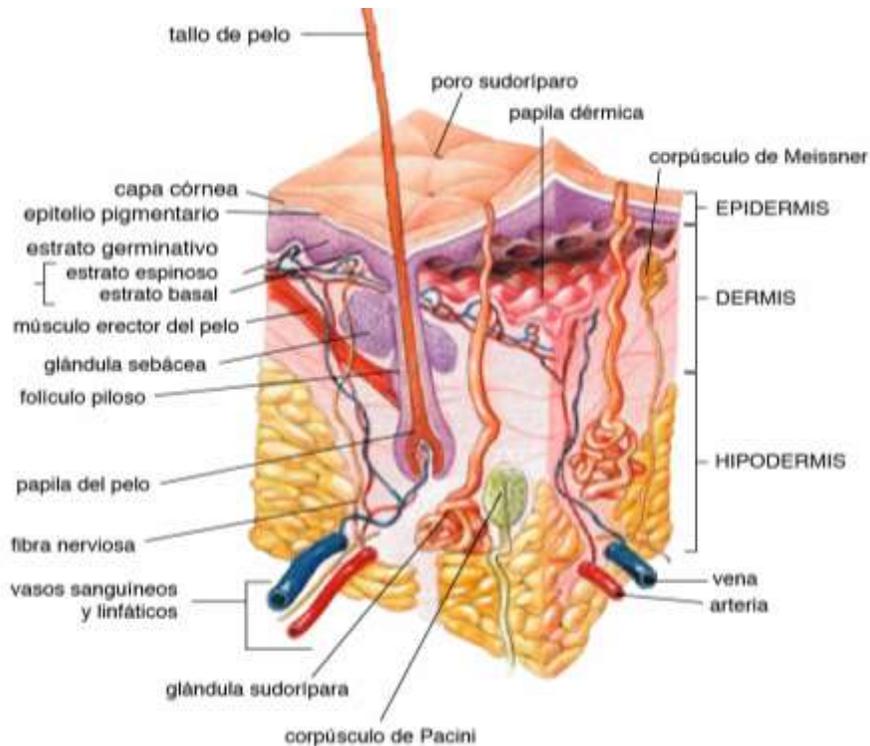


Figura 10. Principales componentes de la piel. Obtenido de:

https://es.wikipedia.org/wiki/Sistema_integumentario#/media/Archivo:Skin_es.png

La primera línea de defensa innata de la piel está conformada de la parte celular y de la parte humoral. Los péptidos antimicrobianos son parte de la inmunidad innata humoral. Los péptidos antimicrobianos son, predominantemente, pequeños péptidos catiónicos que inhiben el crecimiento de los microorganismos y tienen una acción citotóxica directa sobre bacterias, hongos y virus. Modifican la respuesta inflamatoria local y activan mecanismos de reacción inmunitaria adaptativa. Las defensinas y las catelicidinas son las principales familias de péptidos antimicrobianos de la piel. Algunos péptidos antimicrobianos son producidos constitutivamente, mientras que otros son inducidos por citocinas proinflamatorias y productos microbianos exógenos como el lipopolisacárido bacteriano (LPS), la peptidoglicano, las lipoproteínas bacterianas dsRNA y la flagelina, entre otros (Castrillón L., 2007; Castrillón L., 2008).

Las células que reaccionan inespecíficamente contra ciertos agresores son queratinocitos, melanocitos, células NK y células de Langerhans. Estas última es la representante del sistema de células dendríticas en la epidermis y en otros epitelios estratificados. Allí se encarga de atrapar antígenos, procesarlos y transportarlos a los

órganos linfoides secundarios, con el fin presentarlos sobre moléculas de MHC-II y de estimular a los linfocitos T para proliferar, diferenciarse y formar células de memoria. Los queratinocitos por su parte, actúan como iniciadores de la inflamación gracias a la liberación de diferentes citocinas y de factores proinflamatorios. Estos factores facilitan el reclutamiento de linfocitos T a la piel infectada (Castrillón L., 2007; Sarmiento L., 2002).

Aunque un gran número de microorganismos están en contacto con la superficie cutánea, este ambiente relativamente hostil no es favorable para la supervivencia de la mayoría de ellos. Los microorganismos que se encuentran con mayor frecuencia en la superficie cutánea son bacterias Gram positivas (p. ej., *Staphylococcus* coagulasa-negativo y, con menos frecuencia, *S. aureus*, *Corynebacterium* y *Cutibacterium acnes*). *Clostridiodes perfringens* se aísla en la piel de aproximadamente el 20 % de las personas sanas, y los hongos *Candida* y *Malassezia* se localizan en superficies cutáneas húmedas. *Staphylococcus epidermidis* secreta sustancias con capacidad microbicida, ayudando a mantener la superficie libre de microorganismos patógenos. Por su parte *Propionibacterium acnes* usa los lípidos de la piel para generar ácidos grasos de cadena corta que también pueden evitar amenazas microbianas. Los bacilos Gram negativos, con la excepción de *Acinetobacter* generalmente no se cultivan de la piel humana (Murray P. 2013).

Tabla 5.1. Microorganismos más comúnmente encontrados en la piel. Adaptado de Murray P. Rosenthal K. (2013).

Bacterias	Hongos
<i>Acinetobacter</i>	<i>Candida</i>
<i>Aerococcus</i>	<i>Malassezia</i>
<i>Bacillus</i>	
<i>Clostridium</i>	
<i>Corynebacterium</i>	
<i>Micrococcus</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	
<i>Propionibacterium</i>	
<i>Staphylococcus</i>	
<i>Streptococcus</i>	

Las infecciones de piel y partes blandas constituyen un motivo de consulta frecuente y originan gran parte de las prescripciones de antibióticos en la práctica médica diaria. Una alteración en la piel favorece el desarrollo de infección. Ésta puede ser local o diseminarse por vía sanguínea (bacteriemia) o vasos linfáticos (linfangitis). Igualmente, la afección de la piel puede venir en sentido contrario, desde una bacteriemia o viremia desde un punto remoto (por ejemplo, faringe) con siembra en la piel, y las consecuentes lesiones/exantema características (por ejemplo, varicela) (Secretaría de Salud, HGM.).

Las heridas que pueden sufrir infección son de origen quirúrgico, traumático o fisiológico. Las heridas traumáticas comprenden diversos daños como cortaduras profundas, fracturas expuestas, necrosis por congelamiento y quemaduras térmicas.

Los orígenes de infecciones incluyen:

- a. Microbiota normal del propio paciente.
- b. Material de individuos infectados o portadores que pueden entrar en contacto con heridas a través de fómites, manos o a través del aire.
- c. Patógenos del ambiente que pueden contaminar las heridas a través de la tierra, ropa y otros materiales extraños.

Varios factores contribuyen a la probabilidad de que la herida se infecte. La dosis contaminante de microorganismos y su virulencia pueden ser factores críticos; la posibilidad de infección se incrementa de manera progresiva con la dosis contaminante. Las condiciones físicas y fisiológicas de la herida también influyen en la probabilidad de infección (Ryan K., 2011).

El mayor número de infecciones asociadas a piel son asociadas a microorganismos de la microbiota que está presente, aunque la presencia de infecciones causadas por bacterias Gram negativas oportunistas ha incrementado, sobre todo en pacientes inmunocomprometidos. Los cuadros clínicos más comunes son:

Tabla 5.2. Causas principales de infecciones cutáneas y heridas. Adaptado de Ryan K., Ray G. (2011).

Síndrome	Bacteria	Hongo	Otro
Impétigo	<i>Streptococcus</i> grupo A <i>Staphylococcus aureus</i>		
Foliculitis	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>	
Acné	<i>Propionibacterium acnes</i>		
Furúnculos	<i>Staphylococcus aureus</i>		
Celulitis	<i>Streptococcus</i> grupo A <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Haemophilus influenzae</i>		
Intertrigo	<i>Staphylococcus aureus</i> Enterobacterias	<i>Candida albicans</i>	
Ulceras crónicas	<i>Treponema pallidum</i> <i>Haemophilus ducreyi</i> <i>Corynebacterium diphtheriae</i> <i>Bacillus anthracis</i> <i>Nocardia</i> <i>Mycobacterium</i>	<i>Sporothrix schenckii</i>	Herpesvirus
Heridas			
Traumatismos	<i>Clostridium</i> Enterobacterias <i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
Quirúrgicas (limpias)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> grupo A Enterobacterias		
Quirúrgicas (sucias)	<i>Staphylococcus aureus</i> Enterobacterias Anaerobios		
Quemaduras	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Enterobacterias	<i>Candida albicans</i>	
Mordeduras de animales	<i>Pasteurella multocida</i>		

5.1 Toma de muestra: Heridas superficiales y abscesos abierto/Abscesos cerrados/Biopsias/Quemaduras

Heridas superficiales y abscesos abiertos

En el caso de ser heridas superficiales secas o costrosas, solo se tomarán en cuenta las que presenten exudado. Las muestras tomadas por hisopo, solo se tomaran en cuenta en casos muy excepcionales Para muestras líquidas se debe de tener de 1 a 10 mL (Castro C., 2011).

Material:

- Solución salina fisiológica estéril.
- Jeringa y agujas estériles.
- Hisopos con medio de transporte Stuart-Amies.

Toma de muestra:

- Lavar con suero fisiológico estéril cuidadosamente la superficie de la herida para retirar la microbiota colonizante.
- Recoger el pus mediante jeringa y aguja, aspirando preferentemente de las zonas más profundas.
- Cuando la muestra sea insuficiente, agregar solución fisiológica y aspirarlo nuevamente en la jeringa.
- Cuando no sea posible obtener la muestra con jeringa, se tendrá que hacer un frotis con el hisopo en las partes que tengas pus o que se vean afectadas.

Abscesos cerrados

Material

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70 %.
- Povidona yodada al 10 %.
- Jeringa y aguja estéril.
- Medio de transporte para anaerobios.

Toma de muestra:

- Realizar asepsia de la zona a puncionar con alcohol al 70 %, de forma concéntrica comenzando por el centro, abarcando una zona de 10 cm.
- Repetir la operación con povidona yodada. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, se utilizara alcohol 70 % dos veces consecutivas.
- Dejar secar al menos 1 minuto para que el antiséptico ejerza su acción.
- Realizar una punción aspiración del absceso con jeringa y aguja, la muestra más útil es la obtenida contra la pared del absceso y puncionando en el lado superior para evitar la fistulización espontanea.
- En caso de buscar anaerobios, pasar la muestra al medio de transporte para anaerobios.

Biopsias

Las muestras de tejido deben ser tomadas por personal médico capacitado, ya que muchas de estas pertenecen a cirugías. Las muestras se deben de meter en un contenedor estéril de boca ancha, y transportarlo lo antes posible al laboratorio, esto es importante para la recuperación de anaerobios. En el sembrado de la muestra se debe de realizar un macerado de la muestra para optimizar la recuperación del microorganismo patógeno (Castro C., 2011).

Quemaduras

Los mejores resultados se obtienen cuando se tiene parte del tejido afectado, aunque esto es muy doloroso para el paciente.

Material:

- Tubos estériles con tapón.
- Hisopo estéril.
- Tubo con 2 mL de solución fisiológica y tira de papel filtro estéril de 2 cm de superficie.

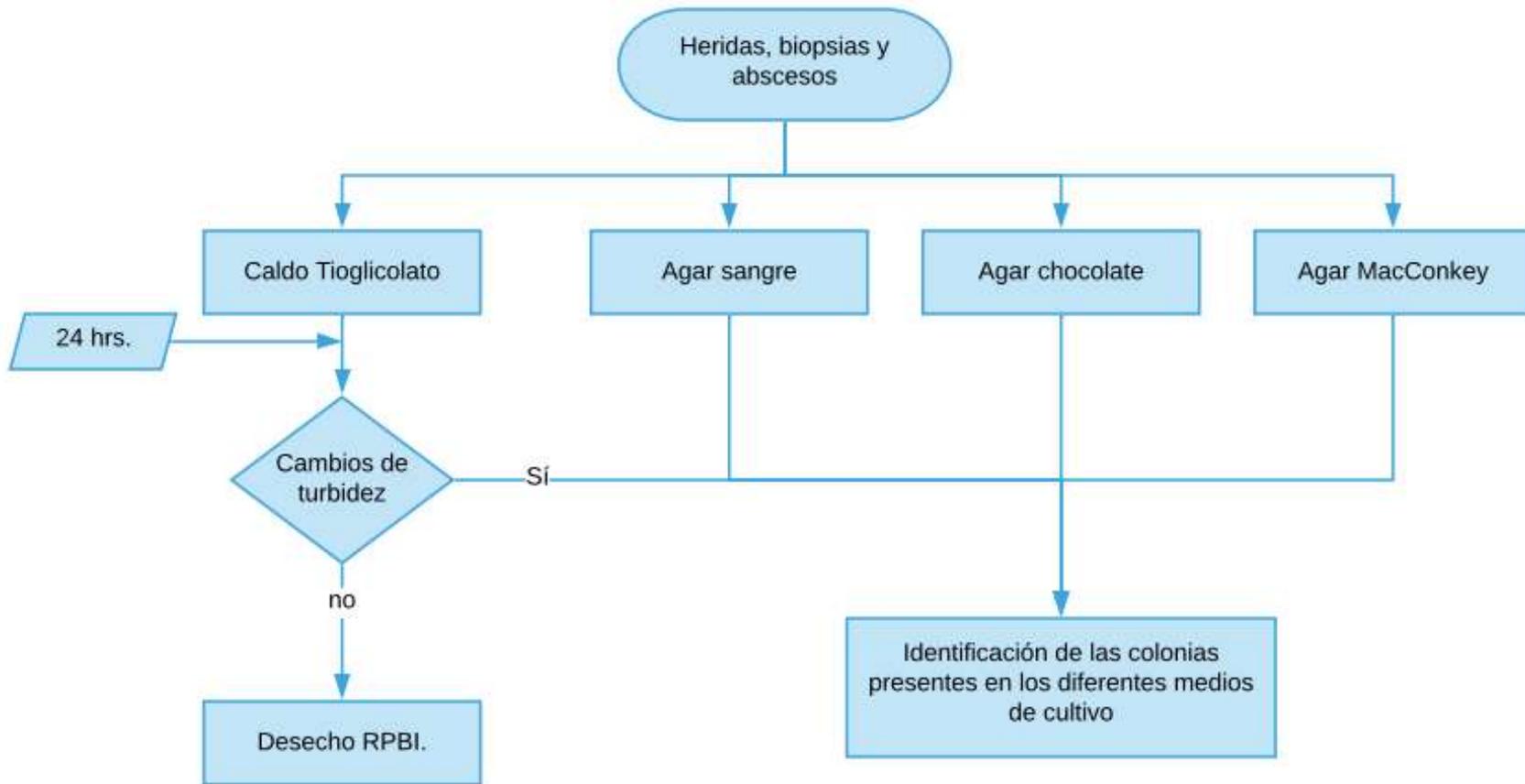
Toma de muestra:

- Obtener fragmentos de tejidos con mal aspecto o bien impregnar el papel de filtro estéril en el exudado de la quemadura. La biopsia se introduce en tubo estéril y el papel en el tubo con suero fisiológico.
- La muestra puede obtenerse también con hisopo estéril.
- La ventaja del papel impregnado, es la posibilidad de cuantificar la flora de colonización.



Figura 11. Toma de muestra de absceso abierto. Obtenido de:
https://www.hhha.cl/transparencia/heridas/toma_cultivo.pdf

5.2. Algoritmo diagnóstico:



Referencias.

- Castrillón, L., Palma, A., Padilla, C., (2007). Péptidos antimicrobianos: antibióticos naturales de la piel. *Dermatología Reviste Mexicana*. 51:57-67. Disponible en: <https://bit.ly/3GiDGLU>
- Castrillón, L., Palma, A., Padilla, C., (2008). La función inmunológica de la piel. *Dermatología Revista Mexicana*. 52(5):211-24. Disponible en: <https://bit.ly/3wKWz72>
- Castro, C., (2011). PNT Manual de toma de muestra. *Unidad Clínica de enfermedades infecciosas y microbiología*. Hospital Universitario Virgen de Valme. España Recuperado de: <https://bit.ly/3yZxMxn>
- Martini F. Timmons M. Tallitsch R., (2009). *Anatomía Humana*. España. Pearson.
- Murray, P., Rosenthal K., Pfaller, M., (2013). *Microbiología Médica*. Elsevier.
- Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill.
- Sarmiento, L. Peña, S. (2002). La célula de Langerhans. *Biomedica*, 22(4), 462-465. Disponible en: <https://bit.ly/3LNdMkC>
- Secretaria de Salud. Hospital General de México. *Infecciones de Tejidos Blandos*. Recuperado de: <https://bit.ly/3PIIJut>
- Tortora G., Derrickson B., (2006). *Principios de Anatomía y Fisiología*. México. Ed. Medica Panamericana

6. Aparato cardiovascular: Bacteriemia, sepsis e infecciones asociadas a catéter vascular

El cuerpo humano se encuentra en constante comunicación química con el medio ambiente externo. Los nutrientes se absorben a través del endotelio del tubo digestivo, los gases difunden a través del delicado epitelio de los pulmones y los productos de desecho son excretados por las heces, orina, saliva, bilis, sudor y otras secreciones exocrinas. Estos intercambios químicos se producen en localizaciones u órganos especializados, porque todas las partes del cuerpo están unidas por el aparato cardiovascular (Martini F., 2009).

El aparato cardiovascular está formado por tres componentes principales, que ayudan a la comunicación de todos los extremos del cuerpo. Estos componentes son:

- Corazón: Músculo impulsor que lleva a cabo funciones endocrinas y sensoriales que ayudan a regular las variables cardiovasculares como el volumen sanguíneo y la presión arterial.
- Vasos sanguíneos: Órganos efectores y sensoriales que regulan la presión arterial y la distribución de la sangre a las diferentes partes del cuerpo; así como el intercambio químico y gaseoso entre la sangre y el líquido intersticial, el cual se produce a través de las paredes de los capilares.
- Sangre: Tejido conjuntivo especializado que distribuye nutrientes, oxígeno, y hormonas a cada una de las células del cuerpo humano; transporta los residuos metabólicos hacia los riñones para su excreción, y transporta células especializadas que defienden los tejidos periféricos de infecciones y enfermedades (Martini F., 2009; Stanfield C., 2011).

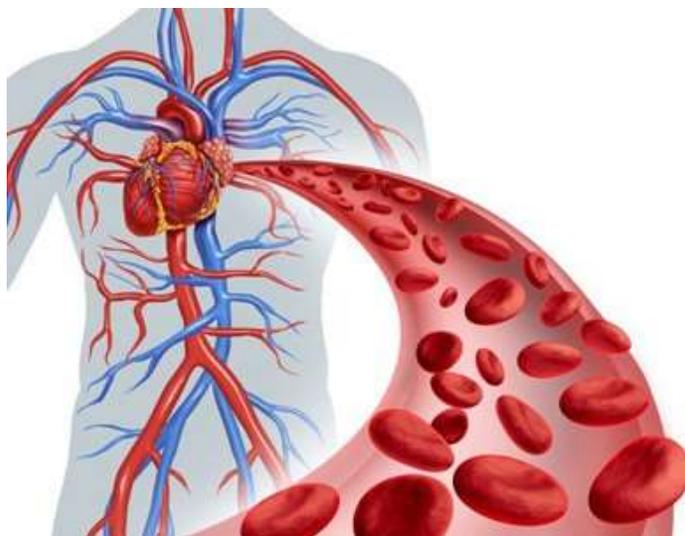


Figura 12. Partes principales del aparato cardiovascular. Obtenido de:
<https://tucuerpohumano.com/c-sistema-circulatorio/vasos-sanguineos/>

Con frecuencia se encuentra la presencia de microorganismos en sangre ya sea como parte de la evolución natural de un proceso infeccioso, o como proceso de una infección grave y descontrolada. Según el agente que se encuentre presente en el torrente sanguíneo, el proceso se describe como viremia, bacteriemia, fungemia y parasitemia.

La bacteriemia simplemente implica la presencia de bacterias en la sangre, independientemente de su magnitud, persistencia o respuesta que provoca en el huésped. Se encuentran tres tipos de patrones presentes en la bacteriemia. El primero es la bacteriemia transitoria, la que ocurre luego de la manipulación de tejidos infectados (abscesos, forúnculos, celulitis), instrumentación sobre superficies mucosas infectadas (extracción dentaria, cistoscopia, cateterización uretral) y cirugía de sitios contaminados; la bacteriemia intermitente, donde las bacterias aparecen y desaparecen del torrente sanguíneo, debido a abscesos intraabdominales o viscerales no drenados, osteomielitis, artritis, meningitis, neumonía; y la bacteriemia continua, es la característica principal de la endocarditis bacteriana, infecciones endovasculares o catéteres vasculares. Las bacteriemias no tratadas adecuadamente, pueden desarrollar endocarditis infecciosas (Macedo M., 2006).

La endocarditis infecciosa (EI) es una enfermedad inflamatoria, exudativa y proliferativa del endocardio, donde la mayor parte de las infecciones ocurren en válvulas

cardiacas naturales o protésicas, pero también se pueden desarrollar en defectos del tabique, cortocircuitos, o en la pared del endocardio, producida por gran variedad de microorganismos. Las lesiones más frecuentes son las vegetaciones que se forman y crecen a través de la colonización por bacterias y agregados de fibrina y plaquetas, el denominado trombo fibrinoplaquetario. En la gran mayoría de los casos, estos fenómenos se originan a partir de pequeñas lesiones del endotelio causadas por alteraciones hemodinámicas o presencia de material extraño intracavitario (prótesis, etc.). Otro fenómeno que contribuye al síndrome de endocarditis infecciosa es el desarrollo de complejos inmunitarios circulantes de antígenos microbianos y anticuerpos. La endocarditis infecciosa a menudo se ha clasificado por la progresión de la enfermedad no tratada. La endocarditis de evolución aguda se observa habitualmente con gérmenes virulentos (*S. aureus*, Gram negativos), es frecuente en pacientes inmunodeprimidos y es muchas veces un efecto secundario de una sepsis intrahospitalaria con alta mortalidad, adquiriendo las características de una endocarditis nosocomial. La endocarditis subaguda progresa a la muerte en semanas o meses con febrícula, diaforesis nocturna, pérdida de peso y síntomas generales inespecíficos. Este tipo de endocarditis generalmente está dada por *Streptococcus viridans*, *Streptococcus bovis*, y por el grupo de bacterias que componen HACEK (H- *Haemophilus* spp.; A- *Aggregatibacter* spp.; C- *Cardiobacterium* spp.; E- *Eikenella corrodens*; K- *Kingella* spp.), y es un proceso lento, con signos y síntomas que simulan variadas patologías, retrasándose significativamente el diagnóstico (Horacio J., 2008; Ryan K., 2011; Stanfield C., 2011).

La sepsis representa un conjunto de manifestaciones sistémicas causadas por la respuesta inmune que ofrece el huésped a la infección, la cual está destinada, en un principio, a favorecer su defensa. El síndrome septicémico incluye la evidencia de alteración de la perfusión de órganos; estos pueden incluir reducción en la producción de orina, cambios en el estado mental, acidosis sistémica e hipoxemia. Si el proceso permanece descontrolado, hay progresión subsiguiente al choque séptico (aparición de hipotensión); choque séptico resistente al tratamiento (hipotensión que no responde al tratamiento estándar con líquidos y fármacos) y falla orgánica múltiple, lo que incluye órganos importantes como riñones, pulmones e hígado y coagulación intravascular

diseminada. La mortalidad es excesivamente elevada cuando los pacientes desarrollan choque séptico resistente al tratamiento o falla orgánica múltiple (Fariñas A., 2012; Ryan K., 2011).

Tabla 6.1. Terminología usada en los procesos relacionados con el síndrome séptico. Adaptado de Fariñas, Dáger (2012).

Termino	Definición
Infección	Respuesta del huésped a la presencia o invasión, por un microorganismo patógeno, de un tejido normalmente estéril.
Bacteriemia	Presencia de bacterias viables en la sangre.
Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica de origen multifuncional (SRIS)	Se caracteriza por dos o más de los hallazgos siguientes. <ul style="list-style-type: none"> • Fiebre o hipotermia • Taquicardia persistente • Taquipnea persistente (Estos cambios representan una alteración aguda de los parámetros normales, en ausencia de otras causas conocidas para estos trastornos). <ul style="list-style-type: none"> • Leucocitosis, leucopenia o bandemia (Más de un determinado por ciento de leucocitos jóvenes o inmaduros, según la edad).
Sepsis	SRIS debido a una infección.
Sepsis severa	Sepsis con hipovolemia y/o hipoperfusión tisular. Acidosis láctica, oliguria, hipoxemia, pulsos distales débiles, pobre llenado capilar, frialdad distal, alteración neurológica aguda e hipotensión arterial. Estas anomalías se revierten rápidamente con la carga de fluidos parenterales (<1 hora).
Shock séptico	Sepsis severa que no responde rápidamente a la reposición de volumen requiere del uso de drogas vasoactivas o inotrópicas.
Síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS)	Es un fallo progresivo de tres o más sistemas orgánicos básicos, que mantienen entre sí una gran interdependencia. Las alteraciones en los mismos ocurren de forma aguda y coincidente en el tiempo, descartándose la afectación de aparatos o sistemas con enfermedad previa. La disfunción en estos casos es de tal magnitud que la homeostasis no es posible sin la actuación terapéutica. Los sistemas tomados en consideración son ocho. Respiratorio, circulatorio, digestivo, hepático, renal, hemolinfopoyético, endocrinometabólico y nervioso

Los mecanismos que participan en el desarrollo de choque séptico pueden producirse con endotoxinas de lipopolisacárido de la pared celular de bacterias Gram negativo. Los eventos que ocurren son complejos e incluyen:

- La liberación de sustancias vasoactivas como histamina, serotonina, noradrenalina y cininas plasmáticas, que pueden causar hipotensión arterial directamente y facilitar las anomalías de la coagulación.
- Trastornos en la regulación de la temperatura, que pueden ser ocasionadas por efectos directos sobre el sistema nervioso central o, en el caso de una respuesta febril temprana, mediada por IL-1 y TNF- α liberado por los macrófagos.
- Activación del complemento y liberación de otras citocinas inflamatorias por parte de los macrófagos (p. ej., IL-2, IL-6, IL-8 e IFN- γ).
- Efectos directos sobre la función de las células del endotelio vascular y su integridad.
- Depresión de la contractilidad del musculo cardiaco por acción de TNF- α , del factor de depresión miocárdica y de otros factores séricos no tan bien definidos.
- Alteración de la vía de anticoagulación de la proteína C, lo que da origen a coagulación intravascular diseminada.

Las alteraciones resultantes en el flujo sanguíneo y en la permeabilidad capilar ocasionan disfunción orgánica progresiva (Ryan K., 2011).

Existen algunos biomarcadores que son de gran importancia que ayudan al diagnóstico de sepsis. Algunos de los más conocidos son la procalcitonina, la proteína C reactiva, la IL-6, y la región media de la proadrenomedulina. Idealmente, estas moléculas deberían permitir desescalar o incluso interrumpir en algunos casos el tratamiento antimicrobiano, contribuir a establecer la gravedad del paciente y permitir monitorizar su evolución (Guna M., 2019).

6.1 Infecciones asociadas a catéter intravascular

Los catéteres intravasculares son dispositivos plásticos que permiten acceder al compartimiento intravascular a nivel central. Varían en su diseño y estructura según se utilicen en forma temporal (días) o permanente (semanas, meses) así como también en

el material con que son fabricados. El uso de estos dispositivos ha sido de gran utilidad clínica ya que permiten un acceso rápido y seguro al torrente sanguíneo, pudiendo ser utilizados para la administración de fluidos endovenosos, medicamentos, productos sanguíneos, nutrición parenteral total, monitoreo del estado hemodinámico y para hemodiálisis. Sin embargo, no están exentos de riesgos habiéndose descrito complicaciones mecánicas e infecciosas.

Según la localización de los catéteres pueden dividirse en dos:

- Catéter venoso central (CVC): Es el dispositivo intravascular más ampliamente usado. Se inserta en forma percutánea, a través de un acceso venoso central (vena subclavia, yugular o femoral). Los CVCs son frecuentemente utilizados en unidades de cuidados intensivos con variados objetivos: infusión de fármacos, monitoreo hemodinámico, plasmaféresis, nutrición parenteral total, etc.
- Catéter central periféricamente instalado (CCPI): Es un dispositivo de silicona biocompatible, cuya inserción es periférica, pero la ubicación de su extremo distal es central (vena cava superior o subclavia). Se ha utilizado ampliamente en neonatología, ya que permite un acceso central rápido y seguro por vía periférica, la administración de todo tipo de soluciones, mayor comodidad y confort al paciente y registra una baja incidencia de complicaciones. Se han desarrollado también CCPI para larga duración. Los CCPI son una alternativa a los catéteres venosos centrales convencionales y no representan un mayor riesgo de bacteriemia (García P., 2003).

El diagnóstico de las infecciones relacionadas a catéter se basa inicialmente en la sospecha clínica ante signos locales o generales de infección, pero los síntomas clínicos son muchas veces inespecíficos, por lo que se necesita la utilización de técnicas microbiológicas para tener un diagnóstico de certeza. Estas infecciones pueden ser provocadas por la migración de microorganismos cutáneos desde el sitio de inserción, la contaminación de las conexiones del catéter, lo que favorece a su vez la colonización endoluminal, y por contaminación de los fluidos en infusión, aunque este último mecanismo es muy infrecuente. El catéter puede a su vez ser colonizado en forma secundaria por bacteriemias. De esta manera, la piel y la conexión son las principales

fuentes de la colonización del catéter, predominando los agentes cutáneos en los catéteres de corta duración y los adquiridos por contaminación de la conexión en los de larga duración. La adherencia y colonización de los microorganismos al catéter con formación de una matriz biológica, representa uno de los eventos iniciales que conducen posteriormente a la septicemia relacionada al catéter (Aldea C., 2018).

6.2. Hemocultivo

El hemocultivo sigue siendo actualmente el principal método diagnóstico de la bacteriemia, aunque su valor práctico se ve perjudicado por el retraso en la obtención de los resultados y afectando en pacientes con un tratamiento de antibiótico previo, o en el caso de infección por hongos o bacterias de crecimiento lento y exigente. Un factor que se debe tener en cuenta es la escasa cantidad de microorganismos presentes en la sangre durante un episodio de bacteriemia, que puede oscilar entre 10 UFC/mL y 10^4 UFC/mL, llegando a ser inferior a 0.1 UFC/mL en algunos casos.

La sensibilidad de los hemocultivos está en gran medida relacionada, además de con el tipo de microorganismo, con el volumen tomado de muestra, el momento de la extracción y la ausencia de tratamiento de antibióticos previo. El volumen promedio en muestras de pacientes adultos debe de ser entre 10 y 20 mL en cada frasco (aerobios y anaerobios), y en el caso de lactantes o niños se debe de obtener entre 1 y 5 mL, aunque pueden cultivarse volúmenes incluso más pequeños porque en algunos lactantes con bacteriemia se encuentran cifras de más de 1000 bacterias/mL. Si el volumen es adecuado, rara vez es necesario tener más de 2 o 3 cultivos para obtener un resultado positivo. El mejor momento para obtener muestras para series de 2 o 3 hemocultivos depende del patrón de bacteriemia de la infección subyacente y de la urgencia clínica. La bacteriemia continua de la endocarditis infecciosa suele detectarse con rapidez, y el momento no es decisivo. La bacteriemia intermitente constituye un reto mayor porque los picos febriles por lo general ocurren después y no durante la bacteriemia (Fernández E., 2003; Guna M., 2019).

El 85-90 % de los hemocultivos son positivos en las primeras 48 horas después de tomada la muestra, salvo el caso de una fungemia o de una bacteriemia causada por una

bacteria de crecimiento lento. En general los frascos se mantienen 5 días en incubación antes de darse con un resultado negativo.

En la mayor parte de hospitales en México donde se toman muestras para hemocultivos, se utilizan sistemas automatizados de monitorización continua. Uno de los más usados es el sistema BacT/Alert® de Biomerieux. Este sistema detecta el aumento y nivel total de CO₂ producido por el crecimiento microbiano utilizando un sensor colorimétrico interno pegado al fondo de los frascos. A medida que cambia el color del sensor, la cantidad de luz reflejada se incrementa y es cuantificada como un aumento del voltaje. Las señales se analizan en un ordenador por medio de un algoritmo que utiliza tres criterios como evidencia de crecimiento. La lectura se realiza cada 10 minutos. Aunque no es el único sistema que existe, este es uno de los más utilizados (Anexo 7) (Fernández E., 2003).

6.3. Toma de muestra: Hemocultivo/Punta de catéter

Hemocultivo periférico

La extracción de hemocultivos está indicada, asimismo, en niños pequeños o ancianos con disminución súbita de la vitalidad, ya que en estas poblaciones pueden no presentarse los signos y síntomas típicos de la bacteriemia.

La asepsia tanto de la zona de piel de toma de muestra, como de la boquilla de los frascos de hemocultivos, se debe de realizar con clorhexidina alcohólica (Gluconato de clorhexidina 2 %, alcohol isopropílico 70 %). Esta toma de muestra solo debe de ser por un médico experto (Castro C., 2011).

Material:

- Jeringa de 10 mL o Aguja tipo mariposa o scalp.
- Solución aséptica de clorhexidina alcohólica al 2 %.
- Alcohol 70 %.
- Frasco de hemocultivos para aerobios.
- Frasco de hemocultivo para anaerobios.
- Frasco de hemocultivo pediátrico (En caso que el paciente así lo necesite).
- Guantes estériles.

Toma de muestra:

- Colocarse los guantes estériles manteniendo la técnica aséptica.
- Realizar asepsia del tapón de goma de los frascos de hemocultivo con clorhexidina al 2 %.
- Identificar la zona de venopunción y realizar asepsia con alcohol al 70 %, y posteriormente con la solución de clorhexidina. Dejar secar sin soplar.
- Cambiarse los guantes manteniendo técnica aséptica.
- Si la extracción se realiza con jeringa, introducir cambiando de aguja: primero 10 mL de sangre en el frasco de anaerobios y a continuación los 10 mL restantes en el frasco de aerobios.
- Si se usa "palometa" introducir primero 10 mL de sangre en el frasco de aerobios y a continuación los 10 mL restantes en el frasco de anaerobios. No debe ponerse algodón u otro material no estéril sobre la aguja en el momento de sacarla de la vena.
- Mezclar suavemente los frascos utilizando la técnica de inversión.

Hemocultivo central

La aspiración de la muestra se debe de hacer lentamente para evitar la hemólisis de la muestra y/o el colapso del catéter o del vaso. La presencia de burbujas en la sangre durante la aspiración indica que se está aplicando demasiada presión (Castro C., 2011).

Material:

- Jeringa de 10 mL.
- Solución aséptica de clorhexidina alcohólica.
- Alcohol 70 %.
- Frasco de hemocultivos para aerobios.
- Frasco de hemocultivo para anaerobios.
- Frasco de hemocultivo pediátrico (En caso que el paciente así lo necesite).
- Guantes estériles.

Toma de muestra:

- Colocarse los guantes manteniendo la técnica aséptica.
- Desinfectar la llave del catéter con alcohol al 70 % y posteriormente con clorhexidina al 2 %. Dejar secar.
- Realizar asepsia del tapón de goma de los frascos de hemocultivo con clorhexidina al 2 %. Dejar secar.
- Cambiar guantes manteniendo la técnica aséptica.
- Quitar el tapón del catéter y conectar la jeringa.
- Colocar la aguja a la jeringa e inyectar la sangre en el frasco de hemocultivo.
- Invertir la botella varias veces para mezclar.
- Limpiar de nueva cuenta la entrada catéter con gasas impregnadas con clorhexidina alcohólica al 2 %. Dejar secar y colocar el tapón del catéter.



Figura 13. Frasco de hemocultivo para infante.

Punta de catéter

La muestra debe de ser tomada por un médico experto. Se debe obtener el segmento distal del catéter intravascular donde se incluyan todas las luces de salida (aproximadamente de 3 a 5 cm) en pacientes con sospecha de infección sistémica. Este segmento debe enviarse al laboratorio de Microbiología en un frasco o tubo estéril. La muestra debe ir acompañada de un volante o petición electrónica donde se detalle el tipo de catéter y la localización anatómica.

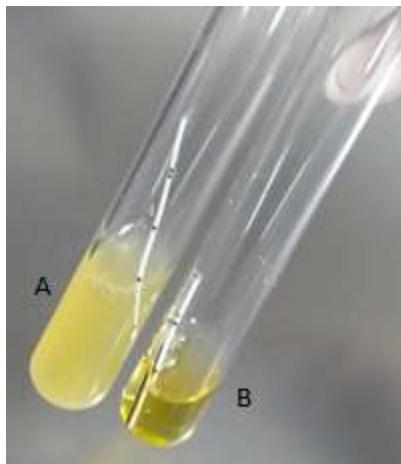


Figura 14. Punta de Catéter en caldo nutritivo. A) Punta con colonización. B) Punta sin colonización.



Figura 15. Análisis de Punta de Catéter por Técnica de Maki. Obtenida de:

<https://www.hrrio.cl/documentos/eLearningIIH/tecnicos/Toma%20de%20muestras%20microbiologicas.pdf>

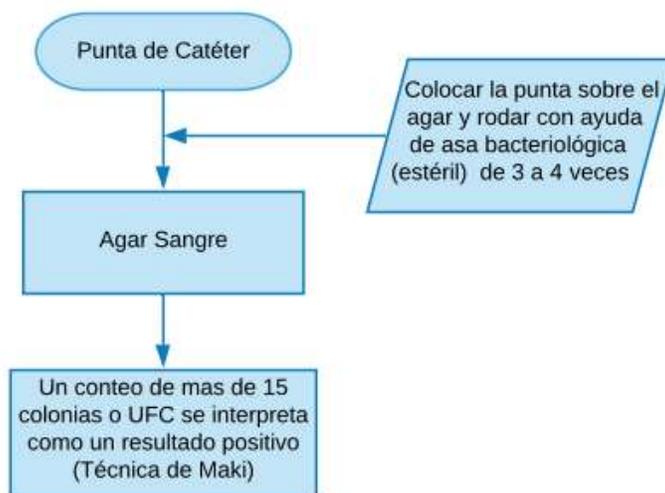
6.4. Algoritmo Diagnóstico:

Punta de Catéter

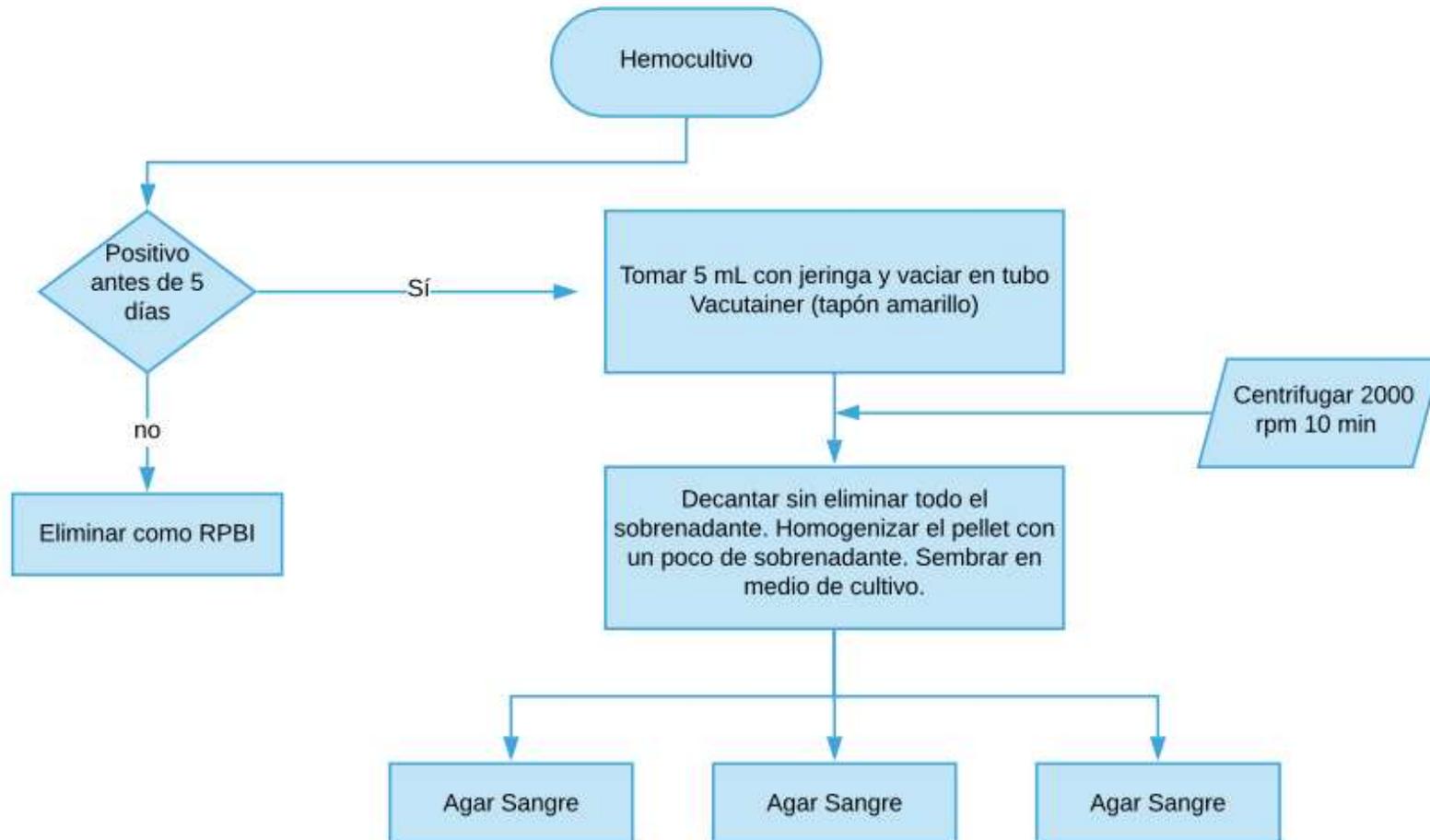
Nota: Solo se darán como positivas aquellas muestras que presenten más de 15 colonias con la misma morfología.

Técnica de Maki

La técnica consiste en rodar tres o cuatro veces sobre la superficie de una placa de agar sangre, con la ayuda de unas pinzas estériles, el segmento intravascular del catéter (3-5 cm del extremo distal). Cuando en el cultivo crecen más de 15 unidades formadoras de colonias (UFC) por placa, se considera que el catéter está colonizado. El criterio de positividad (mayor a 15 UFC) fue elegido porque la mayoría de los pacientes con recuentos inferiores no presentaban datos sugestivos de infección, mientras que todos los casos que cursaban con bacteriemia tuvieron recuentos superiores a 15 UFC y con frecuencia las colonias fueron incontables. La especificidad de ésta técnica fue del 76 %. Este método, por su sencillez ha sido aceptado por la mayoría de los laboratorios de microbiología y es la técnica de referencia. Sin embargo, tiene algunas limitaciones, ya que la mayoría de los catéteres utilizados en estos estudios fueron catéteres periféricos y por otra parte es imposible calcular la sensibilidad de la técnica ya que las definiciones de IRC, de bacteriemia relacionada con catéter (BRC) y de fungemia relacionada con catéter (FRC) exigen un cultivo positivo de la punta del catéter.



Hemocultivo



Nota: En los hospitales donde se procesan hemocultivos, estos se trabajan en equipos automatizados, los cuales incuban los frascos a una temperatura de 35 ± 2 °C. Las muestras se incuban por 5 días esperando que el equipo nos indique un resultado positivo, el cual nos indica un crecimiento bacteriano; por lo tanto de no presentar un resultado de crecimiento bacteriano, se deberán reportar como un resultado negativo o sin crecimiento bacteriano.

Referencias.

- Aldea, C., Gracia, I., Guembe, M., Martínez, J., (2018). Diagnostico Microbiológico de las infecciones asociadas a los catéteres intravasculares. Este documento ha sido elaborado por la *SEIMC* (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) y su contenido puede encontrarse en la página web: www.seimc.org
- Castro, C., (2011). PNT Manual de toma de muestra. *Unidad Clínica de enfermedades infecciosas y microbiología*. Hospital Universitario Virgen de Valme. España. Disponible en: <https://bit.ly/3LNTVBC>
- Fariñas, A., Dáger, A., (2012). Sepsis y trastornos relacionados. *MEDISAN*, 16(6),932-948 .Disponible en: <https://bit.ly/39RXrOa>
- Fernández, E., Planes, A., Rodríguez, M., (2003). Hemocultivos. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Disponible en: <https://bit.ly/3NF7vbJ>
- García, P., Paya, E., Olivares, R., Cotera, A., Rodríguez, J., Sanz, M., (2003). Diagnóstico de las infecciones asociadas a catéteres vasculares centrales. *Revista Chilena de Infectología*. 20 (1): 41-50. Disponible en: <https://bit.ly/3m2XuK1>
- Guna, M. Nieves, E. Mercedes, A. Rodríguez, J. (2019). Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 37(5), 335-340. Disponible en: <https://bit.ly/3lHZ7MO>
- Horacio, J. (2008). Endocarditis Infecciosa. Una enfermedad cambiante. *MEDICINA*. 68: 164-174. Disponible en: <https://bit.ly/3lKy1ET>
- Macedo, M., Algorta, G., Vola, M., Pardo, L., (2006) Bacteriemias y sepsis. Endocarditis. *Temas de bacteriología y Virología Médica*. 197-211. Disponible en: <https://bit.ly/3NB5PA5>
- Martini, F., Timmons, M., Tallitsch, R., (2009). *Anatomía Humana*. España. Pearson.
- Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill
- Stanfield C., (2011). *Principios de Fisiología Humana*. España. Pearson.

- Vallés, F., Anguita, M., Escribano, P., Pérez, F., Pousibet H., Tornos, P., Vilacosta, M., (2000) Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en endocarditis. *Revista Española de Cardiología*. 10(53): 1384-1396. Disponible en: <https://bit.ly/3yXXum0>

7. Líquido Cefalorraquídeo y otros Líquidos Serosos

El sistema nervioso abarca todo el tejido nervioso del cuerpo. Este se divide en dos partes: el Sistema Nervioso Central (SNC), que consta del encéfalo y la médula espinal; y el Sistema Nervioso Periférico que incluye todo el tejido nervioso exterior al SNC, llevando información sensitiva y conduciendo las órdenes motoras hacia los tejidos y sistemas periféricos. El SNC está rodeado por una cubierta ósea rígida y es muy vulnerable a los efectos de la inflamación y edema. Un mecanismo de defensa especializado del SNC es la barrera hematoencefálica, que reduce el paso de agentes infecciosos y posibles metabolitos tóxicos hacia el líquido cefalorraquídeo (LCR) y tejidos así como para regular la tasa de transporte de proteínas plasmáticas, glucosa y electrolitos. Cuando se desarrolla afección del SNC, esta barrera también impone dificultades para el control; algunos fármacos antimicrobianos y factores inmunitarios del hospedador, por ejemplo las inmunoglobulinas y complemento, no pasan con facilidad desde la sangre al sitio de infección, como ocurre con otros tejidos. Dentro del encéfalo se encuentran los ventrículos, cavidades en las cuales el LCR es producido de manera activa, principalmente por estructuras especializadas denominadas plexos coroideos. Se reabsorbe principalmente por el sistema venoso mayor en las meninges (Martini F., 2009; Ryan K., 2011).

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (humano)

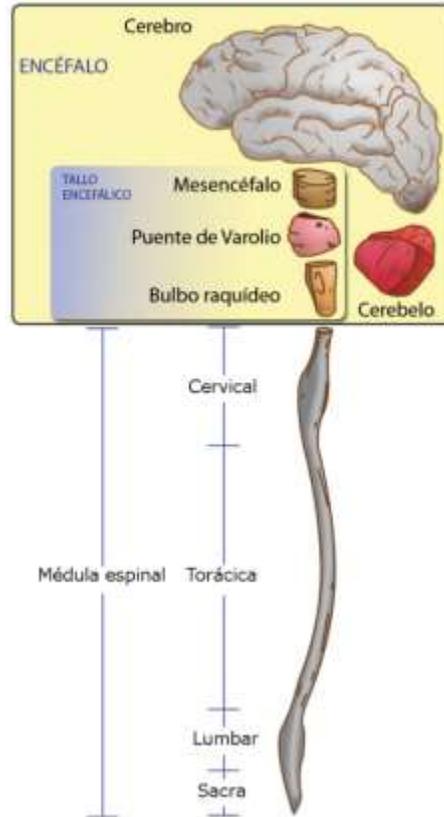


Figura 16. Principales componentes del Sistema Nervoso Central (SNC). Obtenido de:

https://es.wikipedia.org/wiki/Sistema_nervioso_central

El LCR es la principal muestra usada en el diagnóstico de infecciones asociadas al SNC, por lo que es importante conocer las características de este líquido en condiciones normales y en caso de que exista una anomalía, ya sea por infección o por alguna otra etiología. Las características del LCR se describen en la siguiente tabla:

Tabla 7.1. Signos típicos encontrados en LCR en algunas enfermedades del SNC
Adaptado de Brooks, Carroll (2014).

Diagnóstico	Células (por μ L)	Glucosa (mg/100mL)	Proteínas (mg/100mL)
Normal	0-5 linfocitos	45-85	15-45
Meningitis purulenta (bacteriana)	200 a 20 000 PMN	Nivel bajo <45	Nivel alto >50
Meningitis granulomatosa (micobacterias u hongos)	100 a 1000 predominantes linfocitos	Nivel bajo <45	Nivel alto >50
Meningitis aséptica, viral o meningoencefalitis	100 a 1000 predominantes linfocitos	Normal	Moderadamente alto >50
Meningitis por espiroquetas (Sífilis, Leptospirosis)	25 a 2000 predominantes linfocitos	Normal o nivel bajo	Nivel alto >50

*El color normal del LCR es transparente o ligeramente amarillo.

La mayor parte de las infecciones del SNC parece ser consecuencia de diseminación hematogena; por ejemplo, la bacteriemia o viremia ocasionadas por infección de tejidos en sitios distantes al SNC pueden ocasionar penetración de la barrera hematoencefálica. El diagnóstico de esta entidad se basa fundamentalmente en las manifestaciones clínicas, los hallazgos al examen físico, las alteraciones humorales, la comprobación microbiológica y el estudio de imágenes. La tríada clásica consistente en fiebre, alteración del nivel de conciencia y rigidez de nuca, aunque en ocasiones aparece de forma incompleta, es más frecuente encontrar la tríada completa en las meningitis neumocócicas. Adicionalmente pueden aparecer náuseas, vómitos, mialgias, fotofobia, papiledema y exantema. En algunos casos, un foco infeccioso contiguo o distante podría no ser necesario para producir la infección del SNC. Si existe un defecto anatómico en las estructuras que rodean el SNC, los agentes infecciosos pueden lograr el acceso con facilidad a sitios vulnerables y establecerse. Tales defectos pueden ser inducidos por situaciones traumáticas o quirúrgicas, o bien, como consecuencia de malformaciones congénitas (Figueiras B., 2011; Macías B., 2015; Ryan K., 2011).

Las infecciones del SNC se manifiestan con características propias según la forma clínica que adopte y los agentes causales que la producen, ya sea como una meningitis, encefalitis, meningoencefalitis (ME) o absceso cerebral. Existe gran variedad de agentes

etiológicos que causan la enfermedad, presentándose en todas las edades y en ocasiones presentando patrones en los síntomas específicos para cada agente.

Tabla 7.2. Agentes causales de infección en el SNC. Adaptado de Ryan & Ray. (2011).

Agente causal	Principal grupo de edad afectado	Comentarios
Infecciones asociadas a bacterias		
<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Klebsiella</i> .	Recién nacidos (< 1 mes de nacido)	Los estreptococos del grupo B son los más comúnmente encontrados en esta población.
<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>	Lactantes y niños	Principalmente se desarrollan en personas que no están vacunadas o son inmunodeficientes.
<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> ,	Adultos	Principalmente se da en personas inmunodeficientes.
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas</i> . Bacterias Gram negativas anaerobias	Niños y adultos	Microorganismos asociados a meningitis o abscesos intracraneales relacionados con traumatismos, neurocirugía o cuerpos extraños intracraneales
Estreptococos microaerofilicos o anaerobios, bacterias anaerobias Gram negativas (a menudo mezcla de microbiota aerobia y anaerobia del aparato respiratorio superior)	Todas las edades	Absceso intracraneal no relacionado con traumatismo o cirugía.
<i>Leptospira</i> . <i>Treponema pallidum</i> . <i>Borrelia burgdorferi</i>	Adultos	Principalmente se da en personas que están en un estado de inmunodeficiencia.
Infecciones asociadas a virus		
Enterovirus	Lactantes y niños	Principalmente se da en verano y otoño
Parotiditis	Niños	Principalmente en invierno y primavera

Virus del herpes simple	Tipo I: Principalmente en adultos Tipo II: Niños y adultos jóvenes.	Ataca los lóbulos frontal y temporal, causando cambios de personalidad, deterioro cognitivo, afasia, convulsiones, y debilidad focal
Arbovirus	Todas las edades	Produce diferentes tipos de encefalitis (E. equina occidental; E. de San Luis; E. de California; E. del Nilo Occidental)
Rabia	Todas las edades	La principal causa de infección es la mordedura de animales infectados por este virus.
Sarampión	Lactantes y niños	Principalmente se da en niñas
Varicela zoster	Lactantes y niños.	La infección en sistema nervioso por este virus se puede presentar de diversas formas como neuritis, encefalitis, mielitis, ventriculitis y meningitis ¹
Coriomeningitis linfocítica	Adultos y niños	Se da por contacto con orina y otros desechos de roedores. Produce meningitis aséptica, encefalitis y meningoencefalitis.
Virus de Epstein-Barr	Niños y adultos jóvenes.	Puede provocar una encefalitis aguda diseminada y afectar varias zonas del SNC.
Otros (Mixovirus. HIV, Citomegalovirus, etc.)	Todas las edades	Principalmente se da en personas que están en un estado de inmunodeficiencia.
Infecciones asociadas a hongos		
<i>Cryptococcus neoformans.</i> <i>Coccidioides immitis</i> <i>Histoplasma capsulatum.</i> <i>Candida</i> <i>Aspergillus</i>	Todas las edades	Principalmente se da en personas que están en un estado de inmunodeficiencia.

Ante la sospecha clínica de una infección en SNC se debe tener un especial cuidado en pacientes con evidencia de elevación de la presión intracraneal; además de realizar una serie de pruebas complementarias antes de la punción lumbar.

Tabla 7.3. Pruebas diagnósticas complementarias. Adaptado de Ryan & Ray (2011).

Pruebas diagnósticas	Especificaciones
Anamnesis	Antecedentes, duración del cuadro, clínica previa, etc.
Exploración física.	Estabilidad hemodinámica, focos primarios o secundarios de infección (piel, neumonía endocarditis, etc.) Focalidad neurológica Signos meníngicos (Kernig y Brudzinski)
Imagen Radiografía de tórax. Tomografía computarizada (TC) craneal.	Es recomendable que la TC se haga antes de la punción lumbar.
Pruebas de laboratorio en sangre. Biometría Hemática (BH)	Leucocitos, neutrófilos, eosinófilos, plaquetas
Coagulación	TP, TTPa, TT
Bioquímica Microbiología	Glucosa, Procalcitonina, Proteína C reactiva. Hemocultivo
Pruebas de laboratorio en LCR Recuento celular	Leucocitos
Bioquímica	Glucosa, Proteínas.
Microbiología.	Gram de LCR. Cultivo, Determinación de antígenos

1.1 Líquidos serosos

Los líquidos serosos agrupan a los fluidos pericárdico, ascítico, pleural y el sinovial. Este último no todos los autores lo integran dentro de este contexto, pero para fines de diagnóstico bacteriológico es importante mencionarlo. Estos fluidos se componen de un ultrafiltrado de plasma, en un proceso continuo de formación y reabsorción de fluidos que tiene lugar en todas las cavidades corporales. Estas cavidades están delimitadas por una

membrana serosa parietal y una visceral, que están constituidas por una capa de tejido conjuntivo con numerosos capilares, vasos linfáticos y una capa superficial de células mesoteliales. Su formación es similar a la del líquido extravascular en cualquier otra parte del organismo, y en ella intervienen la presión hidrostática, la presión coloidosmótica y la permeabilidad capilar. En condiciones normales, hay una pequeña cantidad de líquido en cada una de estas cavidades corporales que permite el movimiento de las vísceras en cada uno de estos espacios potenciales. Cuando se alteran los mecanismos fisiológicos responsables de la formación o absorción del líquido seroso se produce un aumento excesivo del mismo. De este modo el líquido se acumula cuando aumenta la permeabilidad capilar, cuando aumenta la presión hidrostática, cuando disminuye la presión coloidosmótica, o cuando se obstruye el drenaje linfático (Merino A., 2016; Quesada R., 2018).

Clásicamente, según su contenido proteico, los líquidos serosos se diferencian en trasudados y exudados, esta distinción es fundamental para su clasificación.

Los trasudados son líquidos no inflamatorios que se originan por alteración de factores sistémicos que afectan a la formación o reabsorción del líquido (presión hidrostática o coloidosmótica). Los exudados son líquidos inflamatorios cuya formación depende de un aumento de la permeabilidad capilar debido a alteraciones que implican directamente a estructuras de la superficie de determinadas cavidades corporales (Merino A., 2016).

7.1.1. Líquido pleural

En condiciones normales, el espacio pleural contiene de 1 a 10 mL de fluido. Se considera patológico un volumen de líquido pleural que pueda ser detectado radiológicamente (aproximadamente 100 mL). El derrame pleural se define como la acumulación patológica de líquido en el espacio pleural y es el resultado de un desequilibrio entre la formación y la reabsorción de líquido a este nivel. La mayoría de las veces se produce por enfermedad pleural o pulmonar, pero es una manifestación frecuente de enfermedades sistémicas. La obtención del espécimen para su estudio se realiza por toracocentesis. Una vez obtenido, se debe separar de forma inmediata en diferentes tubos para el recuento celular, estudio bioquímico, microbiológico y anatomopatológico, siendo obligado que la alícuota destinada al estudio microbiológico se recoja en un recipiente estéril. Para la

medición del pH la muestra debe ser mantenida en condiciones anaeróbicas y llegar al laboratorio en la misma jeringa de extracción (Merino A., 2016).

Un derrame pleural (DP) paraneumónico (DPP) es aquel que se asocia a una neumonía bacteriana, un absceso pulmonar o a bronquiectasias infectadas. También hablamos de infección pleural o de derrame pleural complicado (DPC) cuando no se observa enfermedad parenquimatosa acompañante. En la evolución del DPP existen 3 fases. En la primera (exudativa), la formación del líquido pleural es una consecuencia de la inflamación localizada y de la activación del sistema inmune. Los neutrófilos activados pueden provocar una lesión endotelial que ocasionaría un aumento de la permeabilidad capilar con la consiguiente aparición del derrame pleural. El daño pleural puede conducir al comienzo de la segunda fase (fibrinopurulenta), con la activación de los componentes proinflamatorios y profibróticos y el inicio de la cascada de la coagulación. Por tanto, la respuesta inflamatoria local se amplifica por la presencia de diversas citocinas, que estimulan la quimiotaxis de neutrófilos y fibroblastos. Además, la permeabilidad de la membrana puede permitir el paso de las bacterias al espacio pleural. En las últimas etapas de esta fase es posible observar un líquido pleural con apariencia de empiema debido a la presencia de productos de degradación celular y restos bacterianos. Durante este periodo existe también una disminución de la fibrinólisis, con el consiguiente aumento de la formación de fibrina en el espacio pleural. Este proceso puede progresar a la última fase (organizativa), en la que se constituye una capa de fibrosis sobre ambas superficies pleurales debido al aumento de la infiltración fibroblástica, lo que puede provocar que el manejo de estos pacientes sea extremadamente difícil sin tener que recurrir a una intervención quirúrgica, y también generando una acumulación de bacterias en este espacio. En muchos casos los gérmenes responsables de un DPP requieren de microbiología molecular para identificarlos (Ferreiro L., 2015; Quesada R., 2018).

Un cultivo positivo de líquido pleural es diagnóstico de infección pleural, pero esto solamente sucede en el 58 % de los casos y aumenta al 74 % si se utiliza microbiología molecular. Se asume que la infección pleural se produce como consecuencia de la migración de las bacterias que hay en el parénquima pulmonar, por lo que suelen denominarse derrame pleural paraneumónico complicado (DPPC), interpretando que la

etiología bacteriana de todas las infecciones pleurales es la misma que la que causa la neumonía (Ferreiro L., 2015).

7.1.2. Líquido ascítico

El peritoneo es una capa lisa formada por células mesoteliales, con una superficie similar a la superficie cutánea (1.7 m²). Reviste la cavidad abdominal y se dobla sobre sí mismo para cubrir las vísceras abdominales. En condiciones normales contiene menos de 50 mL de líquido: estéril, amarillo claro, con las siguientes características:

- Densidad inferior a 1016; proteínas inferiores a 25 gr/L (principalmente albúmina) y células inferiores a 250 células/mm³, mayoritariamente macrófagos y linfocitos, algunos eosinófilos y células mesoteliales.

El peritoneo se comporta como una barrera pasiva, semipermeable a la difusión de agua y la mayoría de solutos. El líquido peritoneal se produce por ultrafiltración del plasma hacia la cavidad peritoneal. Cuando excede de 25 mL y además aumenta progresivamente se denomina ascitis, que se define como la acumulación de líquido en la cavidad abdominal y es una complicación muy frecuente en los pacientes con cirrosis hepática avanzada. En pacientes cirróticos, su aparición complica el cuadro clínico, alterando la probabilidad de supervivencia. La obtención de la muestra para su estudio se realiza por paracentesis abdominal, y las condiciones de recogida y transporte son las anteriormente citadas para el líquido pleural, siendo las pruebas diagnósticas más importantes el recuento de neutrófilos, y el cultivo bacteriológico del mismo (Merino A., 2016).

Se denomina peritonitis bacteriana espontánea (PBE) a la infección del líquido ascítico (LA) en ausencia de foco infeccioso intraperitoneal, o de los tejidos adyacentes, que ocurre en presencia de cirrosis o fallo hepático fulminante. Su prevalencia se halla en torno a un 10-30 % de los pacientes cirróticos con ascitis no seleccionados que ingresan en un hospital.

Las manifestaciones clínicas de la PBE son muy variables, las más características son el dolor abdominal, fiebre, escalofríos y cambios en el estado mental que pueden llegar a

encefalopatía hepática, donde puede expresarse desde formas leves, hasta muy graves, incluso llegando a shock séptico.

Las infecciones espontaneas de líquido ascítico son resultado de sobrecrecimiento de un microorganismo en el intestino, y el paso de éste hacia los ganglios linfáticos mesentéricos, causando en ocasiones bacteriemia. La microbiota más común en los cultivos de líquido ascítico está constituida por bacterias Gram negativos de origen intestinal, siendo el microorganismo más importante *Escherichia coli*, seguido de cocos Gram positivos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium/faecalis*) y otros microorganismos Gram negativos. La infección espontanea, regularmente es por un solo microorganismo, mientras que la peritonitis quirúrgica es causada por varios microorganismos (Astencio G., 2010; Núñez O., 2010).

7.1.3. Líquido pericárdico

El pericardio es un saco fibroso que rodea completamente al corazón, separándolo de los órganos y estructuras vecinos. El pericardio está formado por dos capas, una visceral (también llamada epicardio) unida estrechamente a la superficie del corazón, y una parietal separada de la anterior por un estrecho espacio capilar que contiene entre 15 y 50 mL de líquido pericárdico. La obtención del espécimen para su estudio se realiza por pericardiocentesis, con aspiración del líquido mediante una jeringa heparinizada y separación inmediata en diferentes tubos, tal como se ha descrito previamente para el líquido pleural, siempre que el volumen del derrame lo permita.

El interés por las pericardiopatías viene exclusiva y fundamentalmente justificado por el severo compromiso hemodinámico de algunos cuadros pericárdicos (taconamiento cardíaco, heridas pericárdicas, etc.), y de forma secundaria, los problemas de diagnóstico diferencial que estas pericardiopatías producen como infarto agudo de miocardio (IAM), tromboembolismo pulmonar (TEP), insuficiencia cardíaca crónica (ICC), etc. (Merino A., 2016).

La pericarditis aguda de etiología infecciosa puede dividirse en tres categorías fundamentalmente¹: pericarditis vírica, pericarditis tuberculosa y pericarditis purulenta.

El diagnóstico de la pericarditis vírica requiere un estudio analítico diagnóstico integral del líquido o tejido pericárdico que englobe análisis histológico, citológico, inmunohistológico y molecular. La identificación de ácidos nucleicos víricos en biopsias y líquido pericárdico a través de PCR cuantitativa confirma el diagnóstico.

El diagnóstico definitivo de pericarditis tuberculosa se fundamenta en la detección del bacilo tuberculoso en el líquido pericárdico o en una sección histológica del pericardio, en cultivo o por PCR. Se define como diagnóstico probable a la demostración de tuberculosis en un enfermo con pericarditis de causa desconocida, la presencia de un exudado pericárdico linfocítico con elevación de interferón gamma no estimulado, una respuesta apropiada a la quimioterapia antituberculosa en una zona endémica o concentraciones elevadas de adenosindesaminasa (ADA) o lisozima (Martín A., 2017).

La pericarditis purulenta se manifiesta como una enfermedad grave febril. La sospecha de pericarditis purulenta es indicación de pericardiocentesis urgente. Es característica la presencia de un cociente glucosa pericárdica/sérica bajo y un recuento de leucocitos en líquido pericárdico alto con una proporción importante de neutrófilos. Adicionalmente el líquido pericárdico obtenido debe ser enviado para estudio microbiológico (bacteriano, fúngico y tuberculoso) y se deben extraer hemocultivos y toma de otras muestras biológicas en función de la sospecha clínica (Martín A., 2017; Merino A., 2016).

7.1.4. Líquido sinovial

La sinovial es una membrana localizada entre la cápsula fibrosa articular y la cavidad articular, recibe gran aporte vascular y su cara articular está cubierta por un epitelio cuboideo que no tiene membrana basal. Esta membrana está destinada a la producción de líquido sinovial, cuya función es lubricar el cartílago y nutrir los condrocitos. Sus funciones son: disminuir el rozamiento a través de la lubricación de la articulación, amortiguar los golpes y aportar oxígeno y nutrientes, además de extraer el dióxido de carbono y los desechos metabólicos de los condrocitos en el cartílago articular (debe recordarse que el cartílago es un tejido avascular, de manera que no tiene vasos sanguíneos para realizar esta función.) El líquido sinovial también contiene células fagocíticas que extraen los microorganismos y los restos de detritos producidos por el desgaste normal de la articulación.

La estructura de la membrana sinovial facilita el asentamiento de un microorganismo en el curso de una bacteriemia, especialmente en pacientes con una artropatía crónica (artrosis, artritis reumatoide o artritis microcristalina). Algunos microorganismos producen toxinas capaces de lesionar el cartílago y atraen leucocitos polimorfonucleares que liberan enzimas y potencian el daño sobre el cartílago articular (García S., 2014; Martini F., 2009).

Las artritis sépticas se pueden clasificar según la forma de presentación clínica en agudas (menos de dos semanas), o crónicas (dos semanas o más) y en función del número de articulaciones afectadas en monoarticulares, oligoarticulares o poliarticulares. Entre las artritis sépticas de evolución aguda, la etiología más frecuente, tanto si se trata de una forma monoarticular como de una forma poliarticular, es *Staphylococcus aureus*. En las formas crónicas, destaca *Mycobacterium tuberculosis* y otras micobacterias atípicas, particularmente en pacientes inmunodeprimidos.

Ante un paciente con signos de artritis aguda es necesario descartar la artritis séptica, incluso en ausencia de fiebre, ya que este signo está ausente en más del 50 % de los casos. La localización más habitual de la artritis séptica es la rodilla, seguida de la cadera y en hasta un 22 % de los casos pueden ser oligo o poliarticulares. Es de gran interés obtener líquido sinovial para un estudio bioquímico, una tinción de Gram y un cultivo antes de iniciar un tratamiento antibiótico. La muestra debe inocularse en un tubo con anticoagulante para las determinaciones bioquímicas, en un tubo estéril para la tinción de Gram y cultivo y además se recomienda inocular líquido sinovial en frascos de hemocultivo aerobio y anaerobio por que han demostrado un mayor rendimiento que el cultivo convencional (García S., 2014).

7.2. Toma de muestra: Líquido cefalorraquídeo/Líquido pleural/Líquido ascítico/Líquido pericárdico/Líquido sinovial

Líquido Cefalorraquídeo

Esta muestra debe de ser tomada por un médico experto. Una vez tomada la muestra se debe de enviar al laboratorio, pues bacterias sensibles como *S. pneumoniae* pueden lisarse. De no ser posible trabajar con la muestra la primera hora después de tomar la muestra, se debe de mantener en incubación a temperatura de 35-37 °C. El primer tubo se manda a bioquímica, el segundo a microbiología, y el tercero a estudio de células; aunque el líquido más turbio o sanguinolento, será el utilizado en microbiología.

Material:

- Jeringas 5-10 mL.
- Solución anestésica (lidocaína).
- Gasas estériles.
- Antiséptico (solución de povidona yodada).
- Etanol 70 %.
- Trócares para punción lumbar (18-22 G).
- Paños estériles.
- Tubos cónicos estériles de rosca.
- Guantes estériles.
- Apósito estéril.

Toma de muestra:

- Colocarse guantes estériles y tratar de mantenerlos limpios, cambiar si es necesario.
- Se desinfecta con alcohol al 70 % una zona de uso 10 cm de diámetro en el área elegida, la aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia.
- Realizar la misma operación que en el paso anterior con la povidona yodada, y dejar secar durante 1 minuto.
- Cubrir la zona con paños estériles (zona estéril).

- Con ayuda de una jeringa de 5 mL aplicar de manera subcutánea el anestésico. También se puede aplicar de manera tópica en forma de crema.
- Introducir el trócar en la línea media, entre las apófisis espinosas de L3-L4 o L4-L5, ligeramente inclinado hacia arriba, progresando de manera continua hasta entrar en el espacio subaracnoideo.
- Retirar el fiador o estilete, comprobando que sale líquido cefalorraquídeo. Dejar salir libremente el líquido recogiendo en tres tubos de tapón de rosca. Colocar el fiador o estilete.
- Retirar el trócar con el fiador puesto, presionando la zona con una gasa estéril durante 3-5 minutos.
- Cubrir la zona de punción con apósito estéril.
- Colocar al paciente en decúbito supino, sin almohada, durante dos horas aproximadamente.



Figura 17. Líquido cefalorraquídeo.

Líquido pleural

Esta muestra debe de ser tomada por un médico experto. No se debe de tomar la muestra si el paciente presenta deficiencia de plaquetas, o alteraciones importantes de coagulación. Antes de realizar la toma de muestra se debe de realizar una ecografía pulmonar.

Material:

- Jeringas de 10 mL, 20 mL, o 50 mL, según sea el volumen a drenar.
- Jeringa de 5 mL para aplicación de anestésico.
- Solución anestésica (lidocaína).
- Gasas estériles.
- Antiséptico (solución de povidona yodada).
- Etanol 70 %.
- Paños estériles.
- Agujas calibre 22, 18, 15 de 6 cm de largo.
- Llave de tres pasos.
- Recipiente estéril para muestras (frasco de boca ancha o tubos para muestra sanguínea).
- Guantes estériles.

Toma de muestra:

- Realizar lavado de manos y colocarse guantes. Cambiar si es necesario.
- Se desinfecta con alcohol al 70 % una zona de uso 30 cm de diámetro en el área elegida, la aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia.
- Realizar la misma operación que en el paso anterior con la povidona yodada, y dejar secar durante 1 minuto. Colocar paño, delimitando zona estéril.
- Utilizar el primer o segundo espacio intercostal por debajo del nivel, en la línea axilar media-posterior o a nivel subescapular, pero no más abajo del octavo espacio intercostal (riesgo de lesionar vísceras intraabdominales), y nunca por debajo del borde inferior de la costilla, por riesgo de lesión del paquete vasculonervioso intercostal.
- Con ayuda de una jeringa de 5 mL aplicar anestésico de manera muscular y subcutánea, de manera que se haga una sola punción.
- Conectar la llave de tres pasos a la jeringa y a la aguja.
- Introducir la el dispositivo de jeringa con llave de tres pasos hasta la pleura. Frecuentemente se siente un pequeño chasquido o falta de resistencia.

- Aspirar para confirmar la presencia de líquido o aire.
- Una vez llena la jeringa, con ayuda de la llave de tres pasos, depositar la muestra en un recipiente estéril, para su análisis.
- Obtener el máximo volumen posible.
- Retirar la aguja, evitando lastimar el tejido. Colocar apósito estéril, o de ser necesario, dar un par de puntadas en el lugar de punción.

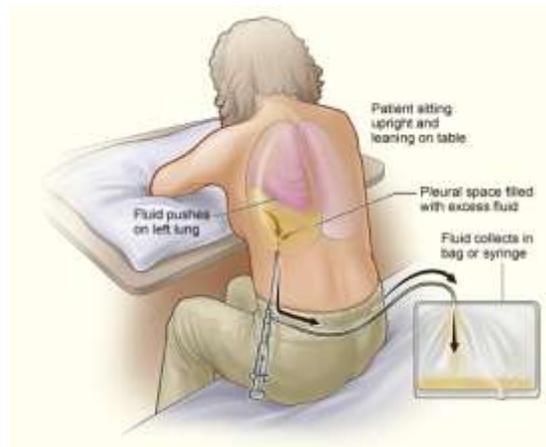


Figura 18. Toracocentesis.

Obtenida de: <https://es.wikipedia.org/wiki/Toracocentesis>

Líquido ascítico

Esta muestra debe de ser tomada por un médico experto. Esta muestra se debe de tomar en caso de existir una peritonitis bacteriana, o algún trastorno que provoque la acumulación de líquido ascítico.

Material:

- Jeringas de 20 mL, o 50 mL, según sea el volumen a drenar.
- Jeringa de 5 mL para aplicación de anestésico.
- Solución anestésica (lidocaína).
- Gasas estériles.
- Antiséptico (solución de povidona yodada).
- Etanol 70 %.
- Paños estériles.
- Bisturí del número 11.

- Angiocatéter de 16-18 G.
- Cánula para suero.
- Ecógrafo doppler.
- Recipiente estéril para muestras (frasco de boca ancha o tubos para muestra sanguínea).
- Guantes estériles.

Toma de muestra:

- Colocar al paciente en posición decúbito supino. De ser necesario se debe de afeitar la zona donde se tomara la muestra.
- Realizar lavado de manos y colocarse guantes. Cambiar si es necesario.
- Localizar la zona de toma. El punto de unión situado en el tercio externo y los dos tercios internos de una línea imaginaria entre la espina ilíaca anterosuperior y el ombligo, será el lugar adecuado de toma. Generalmente se usa el lado izquierdo.
- Se desinfecta con alcohol al 70 % una zona de uso 30 cm de diámetro en zona de punción, la aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia.
- Realizar la misma operación que en el paso anterior con la povidona yodada, y dejar secar durante 1 minuto. Colocar paño, delimitando zona estéril.
- Infiltrar anestésico con ayuda de una jeringa.
- Realizar una incisión de 4 mm en la zona de toma con el bisturí.
- Introducir catéter, avanzando lentamente hasta lograr la penetración de la cavidad peritoneal. Una vez que se introduce a la cavidad peritoneal, se debe retirar el fiador o aguja.
- Obtener muestra conectando la jeringa al catéter.
- De ser muy alto el volumen, se debe de conectar la cánula hasta drenar todo el líquido posible.
- Retirar lentamente el catéter, poner apósito estéril, y de ser necesario, dar una o dos puntadas en el sitio de incisión.



Figura 19. Paracentesis,

Obtenido de: <https://en.wikipedia.org/wiki/Paracentesis>

Líquido pericárdico

Esta muestra debe ser tomada por un médico experto. La muestra debe de ser tomada en la unidad de cuidados intensivos. Se debe de tomar la muestra en caso de derrame pericárdico, taponamiento cardiaco. No realizar si el paciente presenta trastornos severos en su hemostasia.

Material:

- Jeringas de 10 mL, 20 mL, o 50 mL, según sea el volumen a drenar.
- Jeringa de 5 mL para aplicación de anestésico.
- Solución anestésica (lidocaína).
- Gasas estériles.
- Antiséptico (solución de povidona yodada).
- Etanol 70 %.
- Paños estériles.
- Trocar para pericardiocentesis, calibre 18 x 9 cm.
- Llave de tres pasos.
- Ecógrafo doppler.
- Recipiente estéril para muestras (frasco de boca ancha o tubos para muestra sanguínea).

- Guantes estériles.

Toma de muestra:

- Colocar al paciente en posición decúbito supino con elevación de la cabeza y el tórax con un ángulo de 30° con respecto al plano horizontal.
- Realizar lavado de manos y colocarse guantes. Cambiar si es necesario.
- Colocar el ecógrafo con una vista hacia el pericardio.
- Localizar el sitio de punción en punto situado en el ángulo formado por la séptima costilla y el apéndice xifoides del esternón.
- Se desinfecta con alcohol al 70 % una zona de uso 30 cm de diámetro en el torax, la aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia.
- Realizar la misma operación que en el paso anterior con la povidona yodada, y dejar secar durante 1 minuto. Colocar paño, delimitando zona estéril.
- Infiltrar anestesia, por planos hasta llegar al pericardio.
- Puncionar el sitio elegido con trocar o aguja en ángulo de 30° en dirección al hombro izquierdo. Se recomienda seguir el paso de la aguja o catéter con el ecógrafo. Al puncionar el pericardio, se puede sentir un pequeño chasquido.
- Colocar llave de tres pasos a jeringa, y conectar al trocar. Aspirar suavemente el líquido. Una vez llena la jeringa, abrir la llave de tres pasos para depositar la muestra obtenida recipiente estéril para muestras.
- Aspirar nuevamente hasta obtener el mayor volumen de líquido.
- Quitar el trocar, y colocar el apósito estéril. Dejar al paciente en posición decúbito supino.

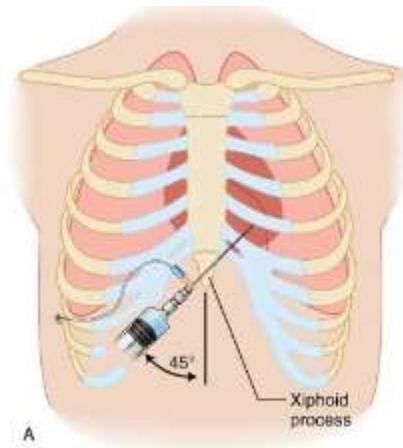


Figura 20. Pericardiocentesis.

Obtenido de: <http://www.homomedicus.com/que-es-la-pericardiocentesis/>

Líquido sinovial

Esta muestra debe de ser tomada por un médico experto. La artrocentesis diagnóstica debe de ser obligatoria para el diagnóstico de artritis séptica. El lugar de toma de muestra será la articulación afectada, por lo que la posición del paciente dependerá de ello.

Material:

- Jeringas de 1 mL, 5 mL, o 10 mL.
- Jeringa de 1 mL para aplicación de anestésico.
- Solución anestésica (lidocaína).
- Gasas estériles.
- Antiséptico (solución de povidona yodada).
- Etanol 70 %.
- Paños estériles.
- Aguja 21, 18 G.
- 3 Tubos para muestra sanguínea, dos adicionados con heparina.
- Guantes estériles.

Toma de muestra:

- Realizar lavado de manos y colocarse guantes. Cambiar si es necesario.
- Se desinfecta con alcohol al 70 % una zona de uso 15 cm de diámetro en el área elegida, la aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia.
- Realizar la misma operación que en el paso anterior con la povidona yodada, y dejar secar durante 1 minuto. Colocar paño, delimitando zona estéril.
- Colocar al paciente en una posición cómoda.
- Infiltrar anestesia con ayuda de una jeringa.
- Colocar la aguja a la jeringa. Introducir en el mismo sitio donde se colocó la anestesia, hasta sentir un poco de resistencia. Verificar si se obtiene líquido.
- Obtener entre 1 y 10 mL de líquido. Si la articulación está sana, probablemente no se obtenga líquido.
- Depositar la muestra en los tres tubos, para su posterior análisis.

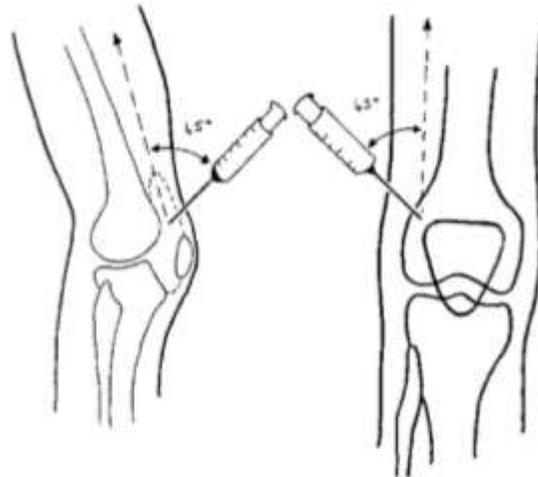
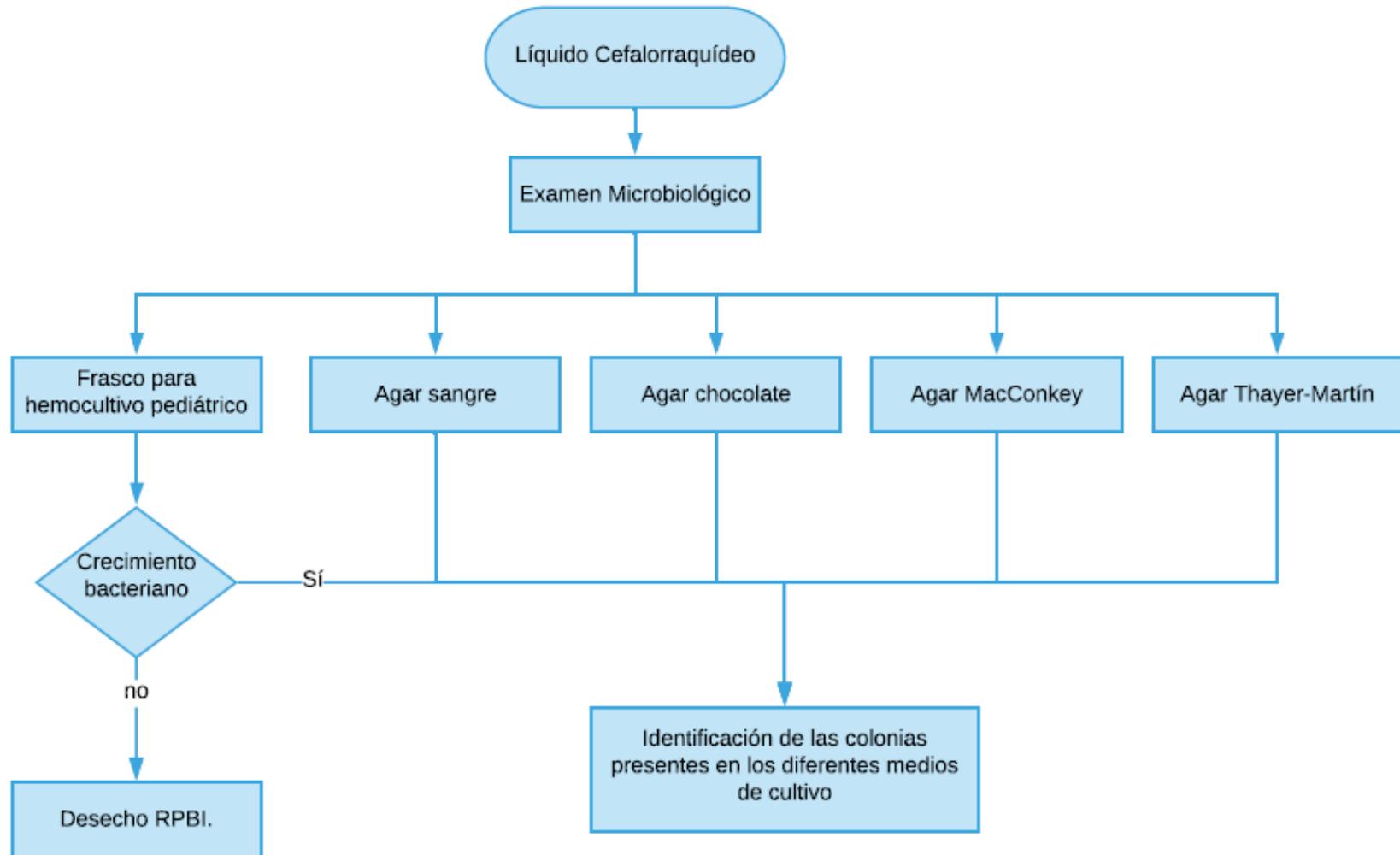


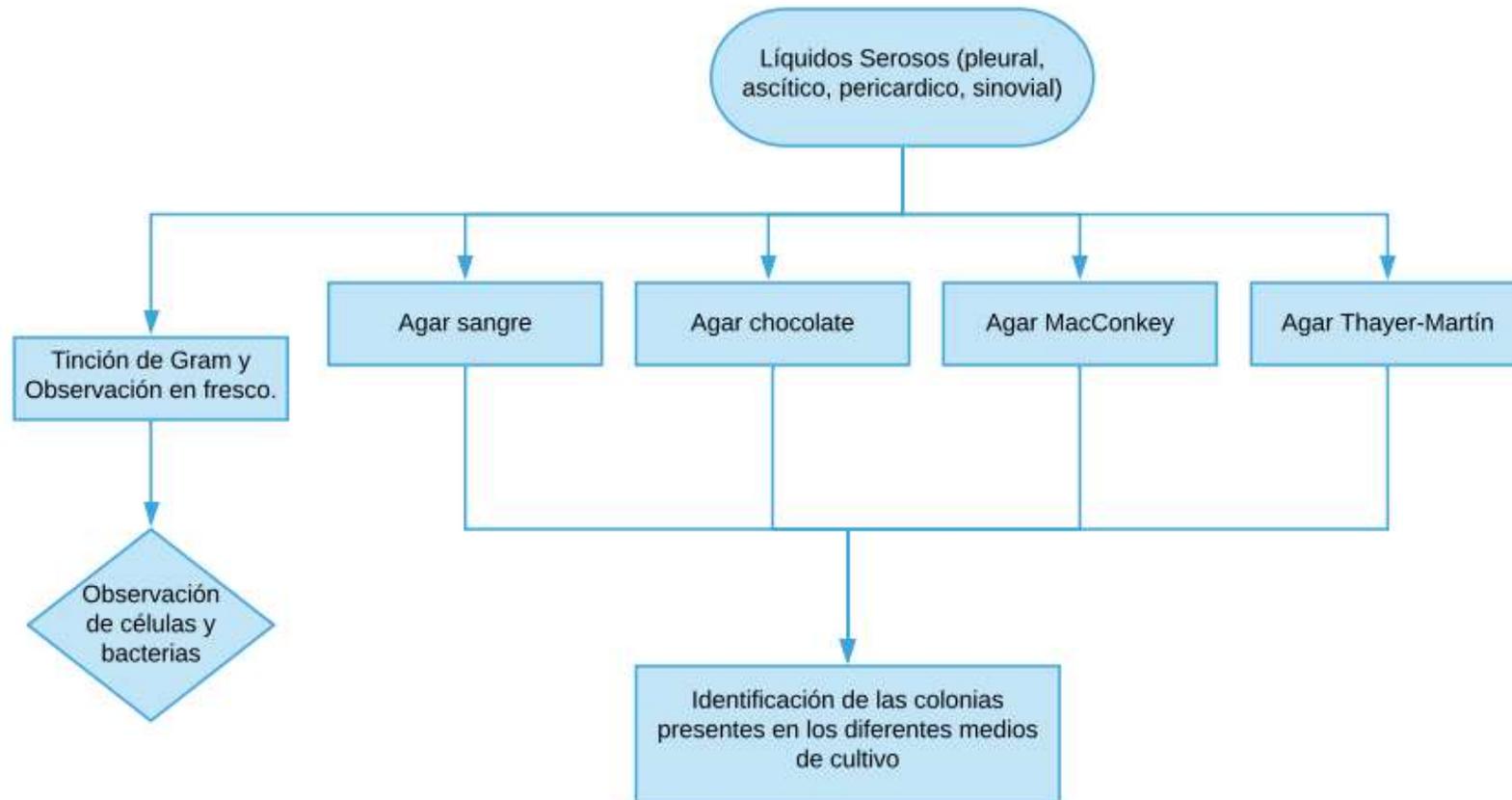
Figura 21. Toma de muestra de Líquido Sinovial.

Obtenido de: <http://www.docencia-traumatologia.uc.cl/puncion-articular-de-rodilla/>

7.3. Algoritmo Diagnóstico:



Para el caso de Líquido Ceforraquídeo es necesario realizar una tinción de Gram y una Tinción de Cápsula (tinta china).



Referencias

- Astencio, G., Espinosa, F., Sainz, S., Castro, K., Pomares, Y., (2010). Peritonitis bacteriana espontanea en el paciente con cirrosis hepática. *Revista Cubana de Medicina*. Disponible en: <https://bit.ly/3z0ylav>
- Ferreiro, L., San José, M., Valdés, L., (2015). Manejo del derrame pleural paraneumónico en adultos. *Archivos de Bronconeumología*. 51(12):637–646. Disponible en: <https://bit.ly/3lQqa8B>
- Figueiras, B., Romero, Á., López, R., Borroto, S., Nieto, R. (2011). Caracterización de pacientes con infecciones del sistema nervioso central. *MediSur*. Disponible en: <https://bit.ly/3GI3Ltl>
- García, S., Monegalb A., Boschc, J., Sorianod, A. (2014). Protocolo de diagnóstico y tratamiento de la artritis séptica sobre una articulación nativa. *Medicine*. Obtenido de: <https://bit.ly/3sWpkLu>
- Macías, B., Segado, A., Calderón, M., Pérez, M.C., (2015). Protocolo diagnóstico del paciente con sospecha de infección en el Sistema Nervioso Central. Tratamiento empírico. *Medicine*. Obtenido de: <https://bit.ly/3wOTTUK>
- Martín, A. Díaz, E. Martín A. Sánchez, P. (2017). Protocolo diagnóstico y tratamiento de las afectaciones pericárdicas de etiología infecciosa. *Medicine*. Obtenido de: <https://bit.ly/3wKgXUy>
- Martini, F., Timmons, M., Tallitsch, R., (2009). *Anatomía Humana*. España. Pearson.
- Merino, A., Marín, J., (2016). Citología y Bioquímica de los líquidos serosos. *Educación continuada en el Laboratorio Clínico*. 28: 112- 135. Disponible en: <https://bit.ly/3MO5f2b>
- Núñez, O., Merino, B., Díaz, A., Matilla, A., Clemente, G., (2010). Optimización del cultivo de líquido ascítico en el contexto clínico de la peritonitis bacteriana espontánea. *Gastroenterología y Hepatología*. Obtenido de: <https://bit.ly/3wS4r5k>
- Quesada, R., Pozo, S., Martínez, J., (2018). Derrames pleurales trasudados y exudados: clasificación. *Revista Cubana de Reumatología*. 20(3):e038. Disponible en: <https://bit.ly/3MJerol>

- Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill
- Valle, A., Carrillo, M., (2017). Infecciones del Sistema Nervioso Central, parte 1: Meningitis, Encefalitis y Absceso cerebral. *Revista Mexicana de Neurociencias*.
Obtenido de: <https://bit.ly/3ND3VPo>

8. Infecciones de Oftálmicas y Óticas

8.1. Infecciones oftálmicas

Los ojos son órganos complejos del sistema óptico, que reúnen información del entorno y el cerebro la interpreta para formar una imagen de lo que ocurre dentro del campo de visión.

La capa protectora externa del globo ocular, llamada esclerótica o lo blanco del ojo por donde no pasa la luz, se modifica en su porción anterior para formar la córnea transparente, a través de la cual el rayo luminoso penetra en el ojo. El borde externo de la córnea está contiguo a la conjuntiva, una membrana mucosa transparente que cubre la esclerótica. Dentro de la esclerótica se encuentra la coroides, capa vascularizada que provee oxígeno y nutrientes a las estructuras del ojo. La retina reviste los dos tercios posteriores de la coroides y es el tejido nervioso que contiene las células receptoras (Barret K., 2013).

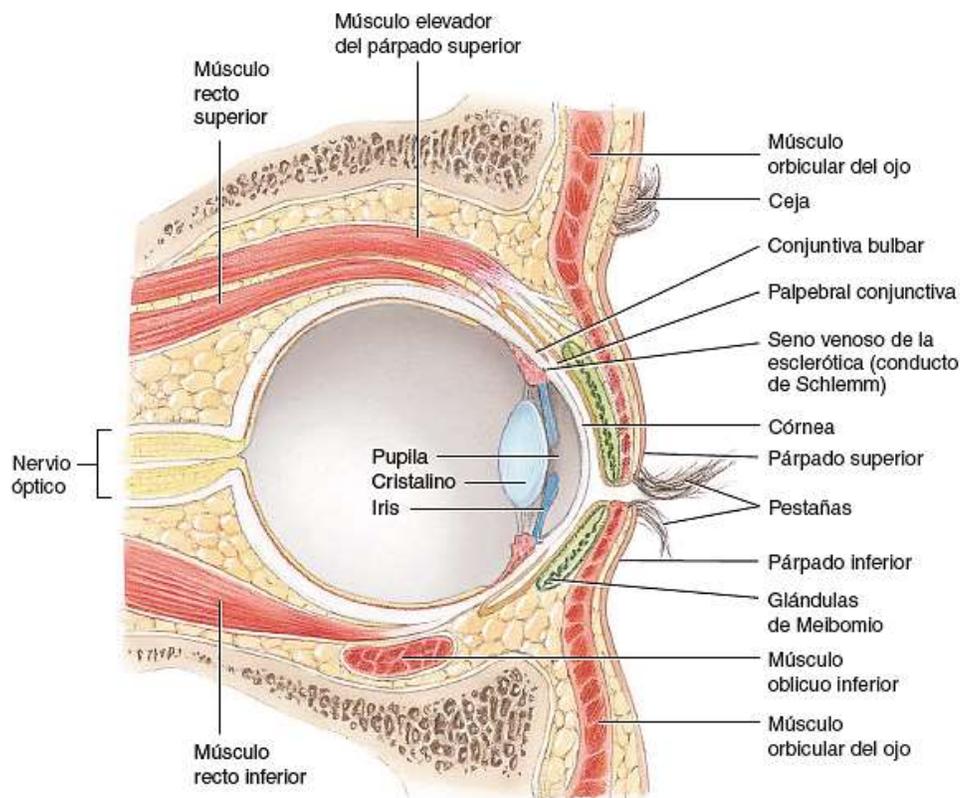


Figura 22. Anatomía interna del ojo. Obtenido de Tortora, (2006)

El cristalino es una estructura transparente sostenida por el ligamento suspensor del cristalino (zónula). La zónula se adhiere al cuerpo ciliar. Este último contiene fibras musculares circulares y longitudinales que se adhieren cerca de la unión corneoesclerótica. Por delante del cristalino, se encuentra el iris pigmentado y opaco, el cual corresponde a la porción del ojo que tiene color. El iris, el cuerpo ciliar y la coroides reciben el nombre colectivo de úvea. El iris contiene fibras musculares circulares que contraen a la pupila y fibras radiales que la dilatan. El humor acuoso es un líquido transparente, sin proteínas que nutre a la córnea y el cristalino; aquél es producido en el cuerpo ciliar por difusión y transporte activo desde el plasma. La cámara posterior es un espacio angosto lleno de líquido, entre el iris, la zónula y el cristalino. La cámara del vítreo es el espacio que media entre el cristalino y la retina y está ocupado por un material de aspecto gelatinoso, transparente, conocido como humor vítreo. El ojo está perfectamente protegido de lesiones, gracias a las paredes óseas de la órbita. La córnea es humedecida y su transparencia se conserva gracias a las lágrimas que provienen de la glándula lagrimal. El parpadeo hace que la córnea esté húmeda (Barret K., 2013).

El principal mecanismo de defensa del ojo son las lágrimas y la conjuntiva, al igual que la limpieza mecánica que ocurre con el parpadeo. Las lágrimas contienen IgA secretora y lisozimas, en tanto que la conjuntiva posee numerosos linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos y células cebadas que pueden responder con rapidez a la infección mediante inflamación y producción de anticuerpos y citocinas. La parte interna del ojo se encuentra protegida de la invasión externa principalmente por una barrera física interpuesta por la esclerótica y córnea. Si éstas se ven afectadas, la infección se vuelve una posibilidad (Ryan K., 2011).

La patogénesis de las infecciones oculares está determinada por múltiples causas: la virulencia intrínseca del microorganismo, la respuesta natural del huésped y la estructura anatómica, fisiológica y bioquímica del ojo. Los microorganismos presentes habitualmente en la conjuntiva o en zonas periorbitales pueden ser el origen de infecciones oculares, especialmente si se alteran los sistemas defensivos por la presencia de lentes de contacto, operaciones quirúrgicas, inyecciones intraoculares u otras técnicas invasivas. Los microorganismos que producen infecciones oculares

también pueden ser exógenos y llegar al ojo por las manos, fómites o heridas traumáticas (Ryan K., 2011).

Las infecciones oftálmicas más comunes son:

- La blefaritis es una inflamación difusa del margen del párpado asociado a irritación ocular. Puede adquirir la forma de inflamación localizada en el borde externo (orzuelo) o una reacción granulomatosa a la infección con obstrucción de la glándula sebácea del párpado (chalazión).
- La dacriocistitis o inflamación del saco lacrimal representa la infección más frecuente del sistema lacrimal. Por lo común es consecuencia de la obstrucción parcial o completa del saco o del conducto nasolagrimal, donde las bacterias quedan atrapadas e inician un proceso infeccioso agudo o crónico.
- La conjuntivitis se define como la inflamación de la conjuntiva, membrana mucosa que recubre la superficie palpebral interna y la parte anterior del globo ocular. puede extenderse hasta afectar los párpados, córnea (queratitis) o esclerótica (epiescleritis).
- La queratitis es una inflamación de la córnea que puede o no tener origen infeccioso. Según la porción de la córnea afectada puede clasificarse en epitelial, cuando afecta a la capa más superficial, y del estroma o endotelial cuando afecta a las siguientes capas más profundas. La queratitis infecciosa puede amenazar la visión y requiere un diagnóstico rápido. Ciertos microorganismos pueden producir perforación de la córnea y provocar una endoftalmitis que puede ocasionar pérdida de visión o incluso del ojo.
- La oftalmía neonatal es una conjuntivitis o queratoconjuntivitis que ocurre en recién nacidos, Los ojos del bebé se contaminan, por lo general, con el agente infeccioso durante el paso a través del conducto del parto.
- La endoftalmitis es la inflamación de la cavidad vítrea y de los componentes retiniano y uveal del ojo. Según la causa de la inflamación puede ser de dos tipos: infecciosa o no infecciosa. La endoftalmitis infecciosa se define como la infección del humor vítreo y/o del humor acuoso por bacterias u hongos. Las infecciones intraoculares por virus o parásitos usualmente se consideran como tipos de uveítis.

- La uveítis consiste en la inflamación del aparato uveal, lo que incluye iris, cuerpos ciliares y coroides. La mayor parte de las inflamaciones del iris y cuerpo ciliar (iridociclitis) no son de origen infeccioso, pero se ha implicado a algunos microorganismos. La afección de tipo infecciosa más común del aparato uveal es la coriorretinitis, en la cual se observa infiltrado inflamatorio en la retina; esta infección puede ocasionar destrucción de la coroides e inflamación del nervio óptico (neuritis óptica) que puede extenderse hacia el humor vítreo para dar origen a endoftalmitis (Díaz M., 2019; Esteva E., 2006; Hernández P., 2003; Ryan K., 2011).

Tabla 8.1. Principales causas infecciosas de enfermedades oculares. Adaptado de Ryan & Ray (2011).

Enfermedad	Bacteria	Virus	Hongo	Parásito
Blefaritis	<i>Staphylococcus aureus</i>			
Dacriocistitis	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i>			
Conjuntivitis, queratitis, queratoconjuntivitis	<i>S. pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>H. aegyptius</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>S. aureus</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Neisseria meningitidis</i>	Adenovirus, herpes simple, virus del sarampión, varicela zoster	Hongos del genero <i>Fusarium</i> y <i>Aspergillus</i>	<i>Acanthamoeba</i> (queratitis)
Oftalmia neonatal	<i>N. gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i>	Herpes simple		
Endoftalmitis	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , Otros microorganismos Gram negativos		Hongos del genero <i>Candida</i> y <i>Aspergillus</i>	
Iridociclitis	<i>Treponema pallidum</i>	Herpes simple, varicela zoster		
Coriorretinitis	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Citomegalovirus, herpes simple, varicela zoster	<i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Coccidioides immitis</i> , <i>Candida</i>	<i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Toxocara canis</i>

El contagio del ojo por patógenos microbianos depende del contacto directo y, en gran parte, de las condiciones de salubridad e higiene del paciente, así como del contacto con personas o animales portadores de microorganismos.

En las infecciones bacterianas externas del ojo, los diagnósticos etiológicos por lo común pueden establecerse con base en la tinción de Gram y cultivo de material superficial o, en el caso de infecciones por virus, por cultivo de tejidos. Los raspados conjuntivales obtenidos en casos de sospecha de infección por *C. trachomatis* pueden prepararse para estudios de inmunofluorescencia o examen citológico y para cultivo apropiado. La infección de sitios internos del ojo implica un problema más difícil. En algunos casos, como en la endoftalmitis aguda, puede ser necesario extraer el humor acuoso infectado para la realización de estudios microbiológicos. Las infecciones que afectan el aparato uveal pueden requerir métodos indirectos para el diagnóstico, como pruebas serológicas en busca de toxoplasmosis y micosis profunda, hemocultivos para demostrar la presencia de enfermedad diseminada (Hernández P., 2003; Ryan K., 2011)

8.2. Infecciones óticas

El sistema auditivo es el responsable de la audición, y el aparato vestibular, es el responsable del equilibrio. Aunque el estímulo involucrado varíe, en estos dos sistemas sensoriales dependen las células ciliadas para detectar el líquido dentro de las cavidades del oído, lo que causa un potencial receptor y libera un transmisor que se comunica con una neurona aferente.

El oído se puede dividir en tres partes: oído externo, oído medio y oído interno. Los oídos externo y medio son cavidades rellenas de aire, mientras que el oído interno está lleno de líquido (Barret k., 2013; Stanfield C., 2011).

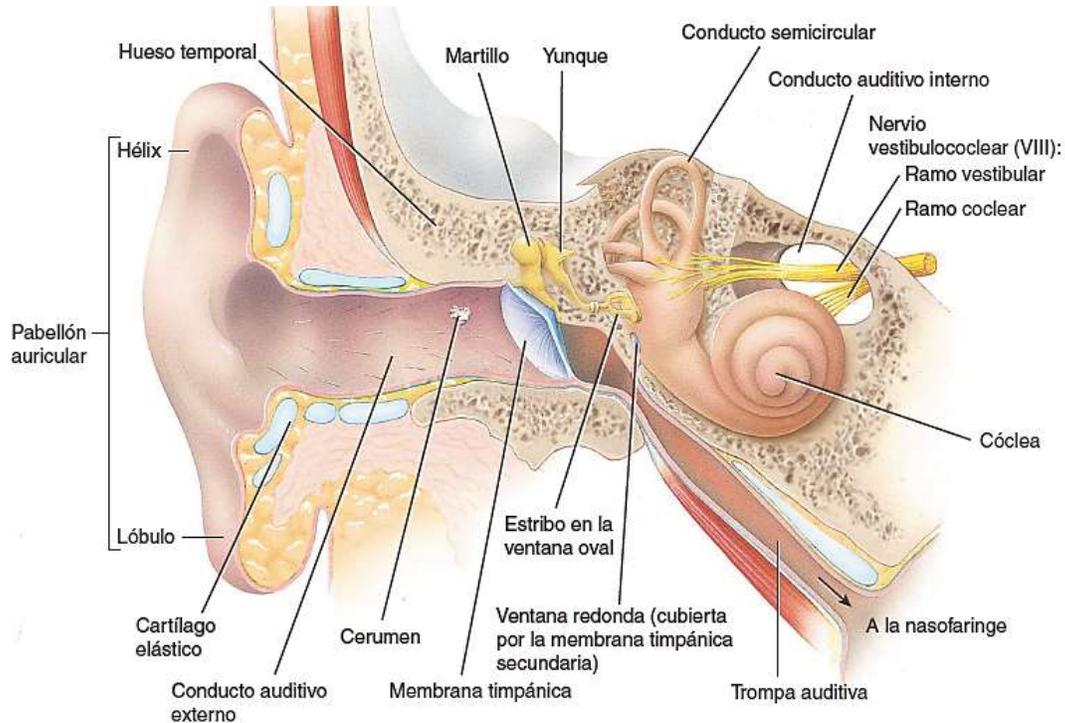


Figura 23. Anatomía interna del oído. Obtenido de Tortora, (2006)

El oído externo incluye el pabellón auricular y el conducto auditivo externo, o conducto auditivo. La función principal del oído externo consiste en reunir las ondas sonoras y conducir las hacia la membrana timpánica o tímpano, que separa el oído externo y medio.

La función del oído medio consiste en amplificar las ondas de sonido para preparar la transmisión de las ondas desde el aire a un entorno líquido. Dentro del oído medio se encuentran tres huesecillos denominados martillo, yunque y estribo. Los tres huesecillos se extienden desde la membrana timpánica a una fina membrana denominada ventana oval, que es una conexión entre los oídos medio e interno. La trompa de Eustaquio conecta el oído medio con la faringe, o garganta, ayudando a mantener la presión normal en el oído medio. La trompa realiza tres funciones: ventilación, protección y eliminación de secreciones a través de transporte mucociliar. Las infecciones virales de vías respiratorias altas o los trastornos alérgicos pueden causar inflamación y edema de la trompa de Eustaquio o de su orificio, lo que puede afectar las funciones de la trompa, de las cuales la más importante es la ventilación (Barret K., 2013; Ryan K., 2011; Stanfield C., 2011).

El oído interno contiene estructuras asociadas tanto a la audición como al equilibrio. La cóclea es una estructura en forma de espiral que contiene las células receptoras de la audición. El nervio que contiene los aferentes para la audición y el equilibrio, el nervio craneal VIII, es el nervio vestibulococlear (Stanfield C., 2011).

La mayor parte de las infecciones del oído afectan el conducto auditivo externo (otitis externa) o la porción media del oído (otitis media). También puede presentarse en forma de apófisis mastoides (mastoiditis) y el oído interno (laberintitis) (Larach F., 2016; Ryan K., 2011).

La otitis externa es una inflamación que compromete la piel del conducto auditivo externo, con secreción purulenta; generalmente de causa infecciosa que puede alcanzar estructuras adyacentes. En un 90 % de los casos tiene una etiología bacteriana y se denomina otitis externa difusa u oído del nadador. La causa más común de infección es el exceso de humedad atrapado en el conducto auditivo externo proveniente de duchas, natación, baños en piscina o termas con aguas contaminadas y climas húmedos. La otitis externa es una infección polimicrobiana. Los agentes etiológicos más frecuentemente aislados son *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* (Larach F., 2016; Ryan K., 2011).

Es la otitis media aguda (OMA) una de las infecciones adquiridas en la comunidad más frecuentes en la infancia. La otitis media se clasifica de manera arbitraria en aguda, crónica o serosa (secretora). El proceso infeccioso normalmente se inicia a partir de la obstrucción al drenaje del oído medio a través de las trompas de Eustaquio, provocado por una infección respiratoria de vías altas (habitualmente catarral). La obstrucción del drenaje natural del oído medio facilita el acúmulo de las secreciones producidas por la cubierta mucosa del oído medio, excelente medio de cultivo para una infección o coinfección por virus y bacterias que habitualmente colonizan la vía aérea superior. Son comunes manifestaciones como fiebre, irritabilidad y dolor agudo. En algunos casos, la membrana timpánica sufre inflamación aguda con aparición de ampollas en su superficie externa (miringitis). Si se trata de manera inadecuada, la infección puede progresar a abarcar estructuras adyacentes como las células de aire mastoides (mastoiditis) o puede producir perforación con drenaje espontáneo a través de la membrana timpánica. Las

secuelas de la enfermedad aguda, supurativa, incluyen extensión hacia el sistema nervioso central (SNC) y septicemia. La otitis media crónica suele ser consecuencia de infecciones agudas que no se resolvieron de manera adecuada, ya sea por un tratamiento inadecuado en la fase aguda o por factores del hospedador que perpetúan el proceso inflamatorio.

La otitis media generalmente se debe a una infección bacteriana. Los patógenos bacterianos pueden aislarse frecuentemente de los derrames purulentos, serosos y mucoides independientemente de la presencia o ausencia de inflamación de la membrana timpánica o de síntomas clínicos. Para demostrar la etiología son necesarios cultivos o técnicas de detección de ácidos nucleicos (PCR) a partir de aspirados obtenidos por punción del oído medio, y tienen menos valor los realizados de muestras obtenidas de conducto auditivo externo tras perforación espontánea. Entre las bacterias más comunes se encuentran *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* no tipables, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pyogenes* (García C., 2013; INP 2006).

Tabla 8.2. Principales causas infecciosas de enfermedades oculares. Adaptado de Ryan & Ray (2011).

Enfermedad	Causas comunes de la infección de oído
Otitis externa	Es común <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; en ocasiones se encuentran bacterias de la especie <i>Proteus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> ; las bacterias que se encuentran en la otitis media también pueden recuperarse si el proceso patológico es secundario a una infección del oído medio con perforación y drenaje a través de la membrana timpánica; en ocasiones participan hongos como los del género <i>Aspergillus</i>
Otitis media	
Menores de tres meses de edad	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , estreptococos del grupo B, <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> y bacterias entéricas Gram negativas
Mayores de tres meses de edad	<i>S. pneumoniae</i> y <i>Haemophilus influenzae</i> son los más comunes; otros incluyen <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> y <i>S. aureus</i>
Otitis media crónica	Flora mixta en 40 % de los casos cultivados. Microorganismos comunes incluyen <i>P. aeruginosa</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Proteus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> y microorganismos anaerobios Gram positivos y Gram negativos
Otitis media serosa	Igual que la otitis media crónica; sin embargo, la mayor parte de los derrames son estériles, con relativamente pocas células inflamatorias de etapa aguda

El diagnóstico se establece con base en la exploración clínica. Debe realizarse timpanometría en casos de probable otitis media para detectar la presencia de líquido en el oído medio y para valorar la función de la membrana timpánica. En la otitis media, el método diagnóstico más preciso es la aspiración cuidadosa con una aguja estéril a través de la membrana timpánica después de la descontaminación del conducto auditivo externo. La tinción de Gram y el cultivo del líquido aspirado por tal método son muy fiables; sin embargo, este procedimiento por lo general se reserva para casos en los cuales los posibles agentes causales son extremadamente variados, como en lactantes pequeños cuando la respuesta clínica al tratamiento antimicrobiano habitual ha sido inadecuada (García C., 2013).

8.3. Toma de muestra: Exudado conjuntival/Raspado corneal/Lente de contacto/Timpanocentesis/Exudado de oído externo

Exudado conjuntival

Esta muestra debe de ser tomada por un médico experto. Estas muestras tienden a ser de manera unilateral, aunque se pide que se tome de ambos sacos conjuntivales por separado.

Material:

- Torundas estériles.
- Hisopos estériles.
- Medio de transporte Amies.
- Solución de etanol 70 %.

Toma de muestra:

- Se debe de realizar asepsia con solución de etanol, sin tocar los bordes del saco conjuntival, solo por fuera del parpado.
- Con un hisopo mojado en suero fisiológico frotar sobre la conjuntiva inferior y de afuera hacia adentro.
- Colocar hisopo en medio de conservación.

Raspado corneal

Esta muestra debe de ser tomada por un médico experto (Oftalmólogo).

Material:

- Anestésico tópico.
- Hisopos de Dracrón o de Alginato de calcio.
- Portaobjetos limpio.
- Medios de cultivo (Agar sangre, Agar chocolate, Agar MacConkey, Agar soya tripticaseína, Agar BHI).

Toma de muestra:

- Colocar anestésico tópico en zona de toma.
- Realizar raspados múltiples con hisopos, de modo que se obtenga una muestra considerable.
- Realizar la siembra en los medios de cultivo.
- De no ser posible la inmediata siembra, colocar en medios de transporte Amies.

Lente de contacto

El lente de contacto con sospecha de infección se mandara al laboratorio junto al líquido de conservación y limpieza. No se requiere toma de muestra por parte médica.



Figura 24. Exudado conjuntival.

Obtenido de: <https://docplayer.es/80388860-Laboratorio-2-infecciones-respiratorias.html>

Timpanocentesis

Esta muestra debe de ser tomada por un médico experto (Otorrinolaringólogo). Se utiliza para casos de otitis media que no responde al tratamiento con antibiótico. También es usada cuando se tiene una pérdida de audición por parte del paciente.

Material:

- Torundas con solución antiséptica (Povidona yodada).
- Hisopos.
- Catéter o jeringa para aspiración de la muestra.
- Medio de transporte.
- Frasco para anaerobios.
- Otoscopio estéril.

Toma de muestra:

- Lavado de manos y colocación de guantes.
- Con el hisopo, tomar una parte del exudado del conducto auditivo.
- Limpiar el pabellón auditivo con las torundas.
- Puncionar el tímpano con otoscopio estéril.
- Introducir el catéter o la jeringa, aspirando lo más que se pueda de la muestra.
- Depositar parte de la muestra en el frasco para anaerobios, y lo demás mandarlo al laboratorio para su análisis inmediato.

Exudado de oído externo

En la mayoría de los casos las muestras carecen de fiabilidad, ya que se puede confundir el agente causal de la infección, con la microbiota de la piel.

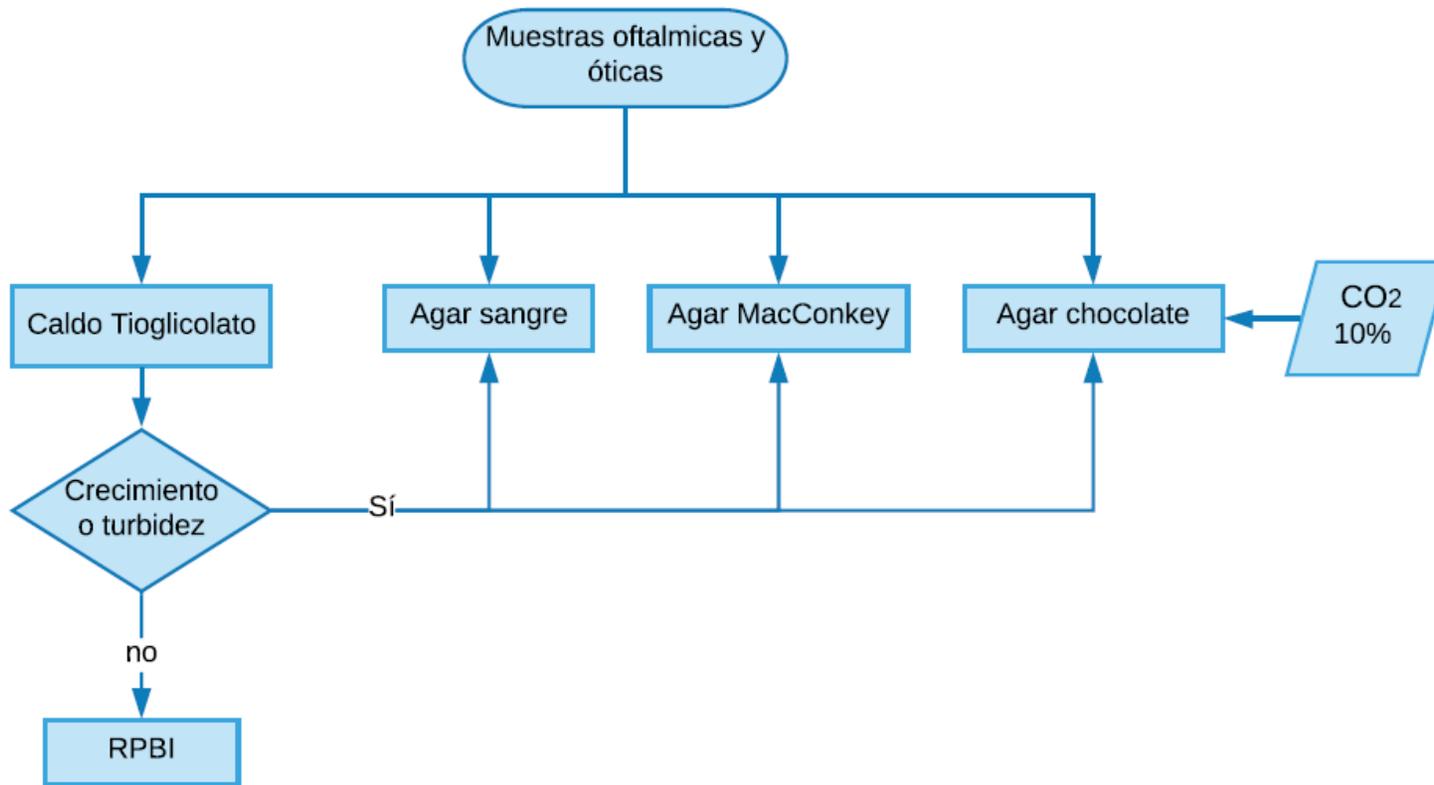
Material:

- Hisopos estériles.
- Medio de transporte Amies o Stuart.

Toma de muestra:

- Limpiar posibles restos de pus o secreciones con un hisopo humedecido con SSF, y desechar como RPBI.
- Con un hisopo nuevo, frotar sobre las paredes del conducto auditivo.
- Colocar hisopo en el medio de transporte.

8.4. Algoritmo Diagnóstico:



Referencias.

- Barret. K., Barman, S., Boitano, S., Brooks, H., (2013). *Ganong. Fisiología Médica*. Mc Graw Hill
- Díaz, M., García, F., Perales, I., Pescador, P., (2019). Diagnóstico microbiológico de las infecciones oculares. *Procedimiento en Microbiología Clínica*. Este documento ha sido elaborado por la SEIMC (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) y su contenido puede encontrarse en la página web www.seimc.org
- Esteva, E. (2006). Infecciones Oculares, Tipos, tratamiento y consejo farmacéutico. *Offarm*. Disponible en: <https://bit.ly/38iUiq8>
- García, C. (2013). Otitis media aguda. *Revista en Pediatría de Atención primaria*. (22):49-59. Disponible en: <https://bit.ly/3MRSeV7>
- Hernández, P. Quintero, G. (2003). Etiología bacteriana de infecciones oculares externas. *Nova*. Versión On-line. Disponible en: <https://bit.ly/3LMgBSP>
- Instituto Nacional de Pediatría. (2006). Otitis media aguda. *Acta Pediátrica de México*, (27), S14-S21. ISSN: 0186-2391. Disponible en: <https://bit.ly/3sXe69R>
- Larach, F. Astorquiza, C. (2016). Otitis externa: Diagnóstico y manejo práctico. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 27(6) 898-904. Disponible en: <https://bit.ly/3PHzIAE>
- Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill
- Stanfield. C., (2011). *Principios de Fisiología Humana*. España. Pearson.

9. Mycobacterium.

El género *Mycobacterium* está formado por bacilos aerobios inmóviles y no esporulados. En algunos casos, estos bacilos forman filamentos ramificados; sin embargo, estos pueden romperse con facilidad. La pared celular es rica en lípidos, lo que hace que su superficie sea hidrofóbica y confiere a las micobacterias resistencia frente a muchos desinfectantes y frente a las tinciones habituales de laboratorio. Esta pared celular es la responsable de muchas de las propiedades características de las bacterias, como su ácido-alcohol resistencia, crecimiento, resistencia a detergentes, resistencia a los antibióticos y antigenicidad.

La estructura básica de la pared celular es similar a las bacterias Gram positivas, no obstante, la estructura de la pared celular de las micobacterias es notablemente más compleja. En la membrana plasmática se anclan proteínas, manósido de fosfatidilinositol y lipoarabinomanano (LAM). El LAM es análogo en sentido estructural y funcional al lipopolisacarido de las bacterias Gram negativas. A lo largo de las capas de la pared celular se intercalan proteínas transportadoras y porinas, que constituyen antígenos importantes a nivel biológico ya que estimulan la respuesta inmunitaria celular del paciente. Las micobacterias son una causa muy importante de morbilidad y mortalidad, especialmente en los países con recursos sanitarios limitados (Murray P., 2013; Ryan K., 2011).

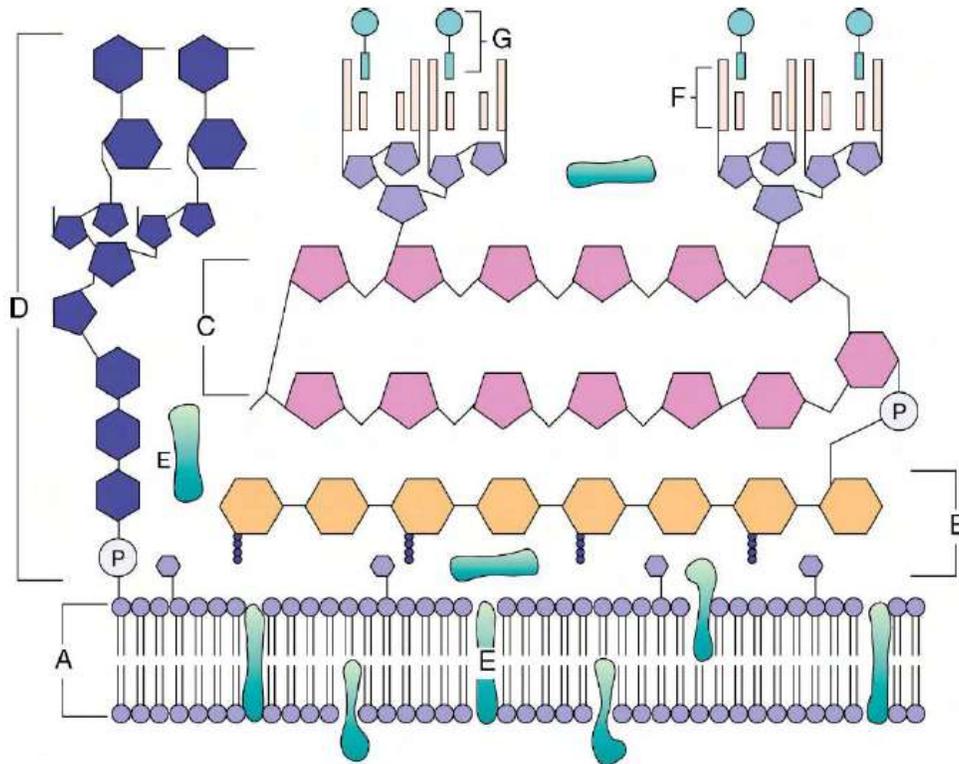


Figura 25. Estructura de la pared bacteriana de *Mycobacterium*. Consta de (A) membrana plásmica, (B) peptidoglucano, (C) arabinogalactano, (D) lipoarabinomano con cabeza de manosa, (E) proteínas asociadas a la membrana plasmática y a la pared celular, (F) ácidos micólicos y (G) moléculas de glucolípidos de superficie asociados a los ácidos micólicos.

Obtenido de: Murray, (2013).

Las micobacterias crecen más lentamente que la mayoría de las bacterias patógenas de los humanos debido a su superficie celular hidrofóbica, lo cual provoca que se aglomeren y limita la permeabilidad de los nutrientes dentro de la célula. Los requerimientos nutricionales varían entre las especies y abarcan desde la capacidad de algunos no patógenos para multiplicarse en los empaques de los grifos de agua hasta el parasitismo intracelular estricto de *M. leprae*, que no crece en medios artificiales o cultivos celulares.

Las micobacterias incluyen un amplio rango de especies patógenas para los humanos y animales. Algunas, como *M. tuberculosis*, afectan en forma exclusiva a los humanos en condiciones naturales. Otras, como *M. intracellulare*, pueden infectar a diversos hospedadores, incluyendo seres humanos. La mayoría de las especies no patógenas están distribuidas de manera amplia en el ambiente. En general, las enfermedades

provocadas por micobacterias se desarrollan con lentitud, siguen un curso crónico y producen una respuesta granulomatosa (Murray P. 2013; Ryan K. 2011).

Las micobacterias no producen exotoxinas o endotoxinas clásicas. Se cree que la patología es resultado de dos respuestas relacionadas del hospedador. La primera, una reacción de hipersensibilidad de tipo retardado (DTH) a las proteínas de la micobacteria, provoca la destrucción de macrófagos no activados que contienen organismos en estado de multiplicación. Se le detecta mediante inyecciones intradérmicas de proteínas purificadas de las micobacterias. El segundo proceso, la inmunidad mediada por células activa los macrófagos, permitiendo que destruyan a las micobacterias contenidas dentro de su citoplasma (Murray P. 2013; Ryan K. 2011).

Tabla 9.1. *Micobacterias de principal importancia clínica. Adaptado de Ryan K., Ray G. (2011)*

Especie	Reservorio	Virulencia para los humanos	Enfermedad causada	Transmisión de persona a persona	Producción de pigmento
<i>M. tuberculosis</i>	Humanos	+++	Tuberculosis	Si	-
<i>M. bovis</i>	Animales	+++	Tuberculosis	Rara	-
Bacilo Calmette-Guérin	Cultivo artificial	±	Lesión local	Muy rara	-
<i>M. kansasii</i>	Ambiental	+	Similar a tuberculosis	No	Fotocromógeno
<i>M. scrofulaceum</i>	Ambiental	+	Generalmente linfadenitis	No	Escotocromógeno
<i>M. avium-intracelulare</i>	Ambiental aves	+	Similar a tuberculosis	No	±
<i>M. fortuitum</i>	Ambiental	±	Absceso local	No	±
<i>M. marinum</i>	Agua; peces	±	Granuloma cutáneo	No	Fotocromógeno
<i>M. ulcerans</i>	Ambiental tropical	+	Ulceración cutánea grave	No	-
<i>M. leprae</i>	Humanos	+++	Lepra	Si	Sin crecimiento

9.1. Tuberculosis pulmonar

La tuberculosis es una de las enfermedades infectocontagiosas más letales y antiguas que afecta al ser humano y que posee una amplia distribución en el mundo, produciendo cada año la muerte de alrededor de 1.5 millones de personas. En la actualidad la tuberculosis constituye una enfermedad reemergente como consecuencia de la aparición de cepas multirresistentes a los fármacos tradicionalmente empleados en el tratamiento de la enfermedad (Borrero R., 2011).

El complejo bacteriano *Mycobacterium tuberculosis* es el causante de la tuberculosis pulmonar en humanos, el cual está conformado en primer lugar por *M. tuberculosis* (el bacilo de Koch), seguido de *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. caprae*, *M. pinnipedii* y *M. canettii*.

M. tuberculosis es un patógeno intracelular cuyo éxito depende de evitar los mecanismos de destrucción de los fagocitos profesionales. La tuberculosis se transmite predominantemente vía emisiones orales y nasales expelidas por el enfermo. Al parecer las gotas más pequeñas, las cuales solo contienen 1 a 3 bacilos tuberculosos, son inhaladas, teniendo fácil paso por las vías respiratorias, quedando en los alveolos respiratorios periféricos altos con más frecuencia, que son aquellos que están bien ventilados. Además, la cantidad de bacilos inhalados, la virulencia de la cepa y, sobre todo, las condiciones defensivas del individuo, determinarán si la bacteria será controlada, o bien, en un lapso de uno o varios años provocará las clásicas lesiones tisulares de la tuberculosis: necrosis caseosa y licuefacción del tejido afectado, con la formación de cavernas que permiten el acceso al árbol bronquial y la diseminación local del microorganismo (Garza R., 2017).

En estos lóbulos, los receptores del complemento (CR1, CR3, CR4) de los macrófagos alveolares los reconocen y fagocitan. Esto inicia una respuesta en dos frentes con el macrófago, que puede resolverse en días o que puede durar décadas. El primer frente se encuentra en los mecanismos digestivos de fagolisosoma del macrófago. En este proceso, la micobacteria puede interferir con la acidificación del fagosoma, que provoca que las enzimas lisosómicas sean menos eficientes. Esto permite que las micobacterias se multipliquen libremente en el macrófago inactivo. El segundo proceso es la activación

de la respuesta inmunitaria TH1, donde los macrófagos y células dendríticas liberan citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α), atrayendo al sitio linfocitos T (respuesta TH1) y células inflamatorias, que generaran una Hipersensibilidad del tipo tardío (tipo IV). Los linfocitos T activados tienen la función de activador de macrófagos a través de la liberación de IFN- γ , apoyado del CD40L. Durante el periodo de multiplicación bacteriano, las micobacterias pueden generar cantidades de proteínas, que superan los umbrales requeridos para activar también una respuesta de Hipersensibilidad del tipo tardío (DTH).

La mezcla de las respuestas DTH e inmunitaria TH1 se manifiesta en una estructura microscópica llamada granuloma, que está compuesta por linfocitos, macrófagos, células epitelioides (macrófagos activados), fibroblastos y células gigantes multinucleadas, todas en un patrón organizado. A medida que crece el granuloma, la naturaleza destructiva del componente de hipersensibilidad conduce por lo general a necrosis en el centro de la lesión, a lo que se denomina “necrosis caseosa” (Garza R., 2017; Ryan K., 2011; Van Crevel R., 2002).

Las infecciones primarias se manejan bien una vez que la respuesta inmunitaria detiene el crecimiento intracelular de la micobacteria. Cesa la multiplicación bacteriana, las lesiones por fibrosis sanan y los microorganismos parecen morir lentamente, aunque no siempre es así. Las micobacterias al verse enfrentados con la privación de oxígeno y nutrientes, entran en un estado de inactividad prolongada en lugar de morir. Estos organismos en el pulmón y en otros sitios duermen esperando la reactivación incluso años (Ryan K., 2011; Van Crevel R., 2002).

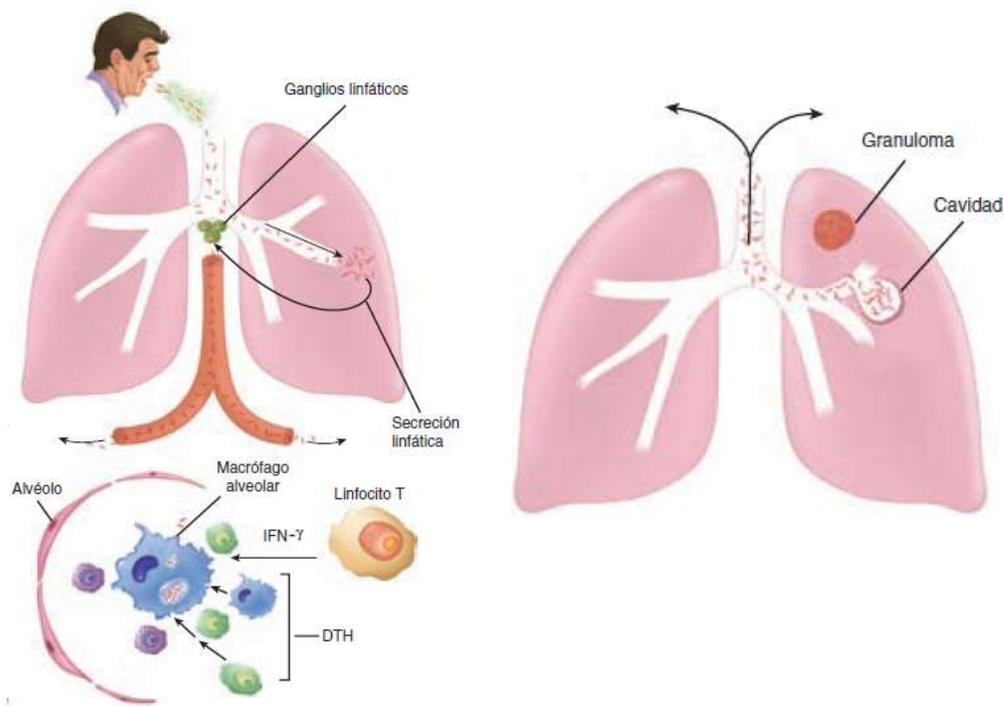


Figura 26. *Tuberculosis primaria. Obtenido de Ryan & Ray.*

La tuberculosis primaria es asintomática o se manifiesta solo por fiebre y malestar general. Las radiografías quizá muestren las infiltraciones en las zonas medias del pulmón e inflamación de los ganglios linfáticos en el área alrededor del hilio. Cuando los ganglios linfáticos se vuelven fibrosos y a veces se calcifican, producen una imagen clínica característica (complejo de Ghon) en las radiografías. En cerca de 5 % de los pacientes, la enfermedad primaria no se controla y se convierte en el tipo de tuberculosis reactivada o se disemina a muchos otros órganos. Esto último puede ser resultado de un tubérculo necrótico dentro de un vaso sanguíneo pequeño. Aproximadamente 10 % de las personas que se recuperan de una infección primaria desarrollan enfermedad clínica en algún momento durante su vida. En países occidentales, la reactivación de lesiones ocurre con más frecuencia después de los 50 años y es más común en hombres. La reactivación se asocia con un periodo de inmunosupresión precipitado por desnutrición, alcoholismo, diabetes, vejez y un cambio notable en la vida del individuo.

La tos es el síntoma universal de la tuberculosis. De inicio es seca, pero a medida que progresa la enfermedad se produce esputo que incluso puede mezclarse después con sangre (hemoptisis). La fiebre, malestar general, fatiga, sudoración y pérdida de peso

progresan a medida que avanza la enfermedad. En un sentido radiográfico, los infiltrados que aparecen en los vértices del pulmón se juntan para formar cavidades con destrucción progresiva del tejido pulmonar (Ryan K., 2011).

9.2. Toma de muestra: Esputo/ Esputo inducido/ Aspirado bronquial

Para la muestra de esputo se debe de tener cuidado, ya que el paciente tiene que tener un enjuague con agua estéril, o solución salina fisiológica estéril.

Esputo

Para que una muestra para el estudio de *M. tuberculosis* en esputo sea considerada como optima debe de cumplir con los criterios de Murray y Washington y presentar características mucoides o purulentas. Estos criterios se basan en contabilizar las células presentes en una muestra fijada y teñida por la técnica de Gram. Los criterios se describen a continuación.

Tabla 9.2. Criterios de Murray y Washington

Grupo	Número de células por campo de menor aumento		Realizar Cultivo
	Células epiteliales escamosas	Linfocitos polimorfonucleares	
1	25	10	NO
2	25	10-25	NO
3	25	25	NO
4	10 – 25	25	NO
5	<10	25	SÍ

Material:

- Frasco de boca ancha.

Debe obtenerse un esputo fresco, correspondiente a la primera expectoración de la mañana, tras haber realizado el paciente un cuidadoso enjuague de la boca y gárgaras a ser posible con suero fisiológico estéril o agua destilada estéril. En pacientes que no expectoran con facilidad puede resultar útil colocarlos en una postura cómoda, tendidos boca abajo y con los hombros y la cabeza más bajos que el resto del cuerpo, durante 10

minutos, de modo que las secreciones se vayan acumulando hacia la laringe y puedan salir en un golpe de tos.

Espujo inducido

Material:

- Frasco de boca ancha.
- Nebulizador.
- Solución salina fisiológica.

Toma de muestra:

- Haga que el paciente se enjuague la boca con agua.
- Con ayuda de un nebulizador, haga que el paciente inhale 25 mL de solución salina estéril al 3-10 %.
- Recoja el espujo inducido en un envase estéril.

Aspirado bronquial

El uso de la broncoscopia, permite obtener la muestra bajo visualización directa de la zona donde se localiza el proceso infeccioso.

Toma de muestra:

- Recogida de secreciones respiratorias a través de fibrobroncoscopio, introduciendo de 3 a 5 mL de suero fisiológico previo a la aspiración. Con menor grado de contaminación que el espujo.

Nota: Esta toma de muestra solo se debe de hacer por un médico experto.

Líquidos serosos

Para este caso se deben de tomar las muestras como refiere en el capítulo "Líquidos serosos" en la pág. 88 de este compendio.

9.3. Algoritmo Diagnostico:

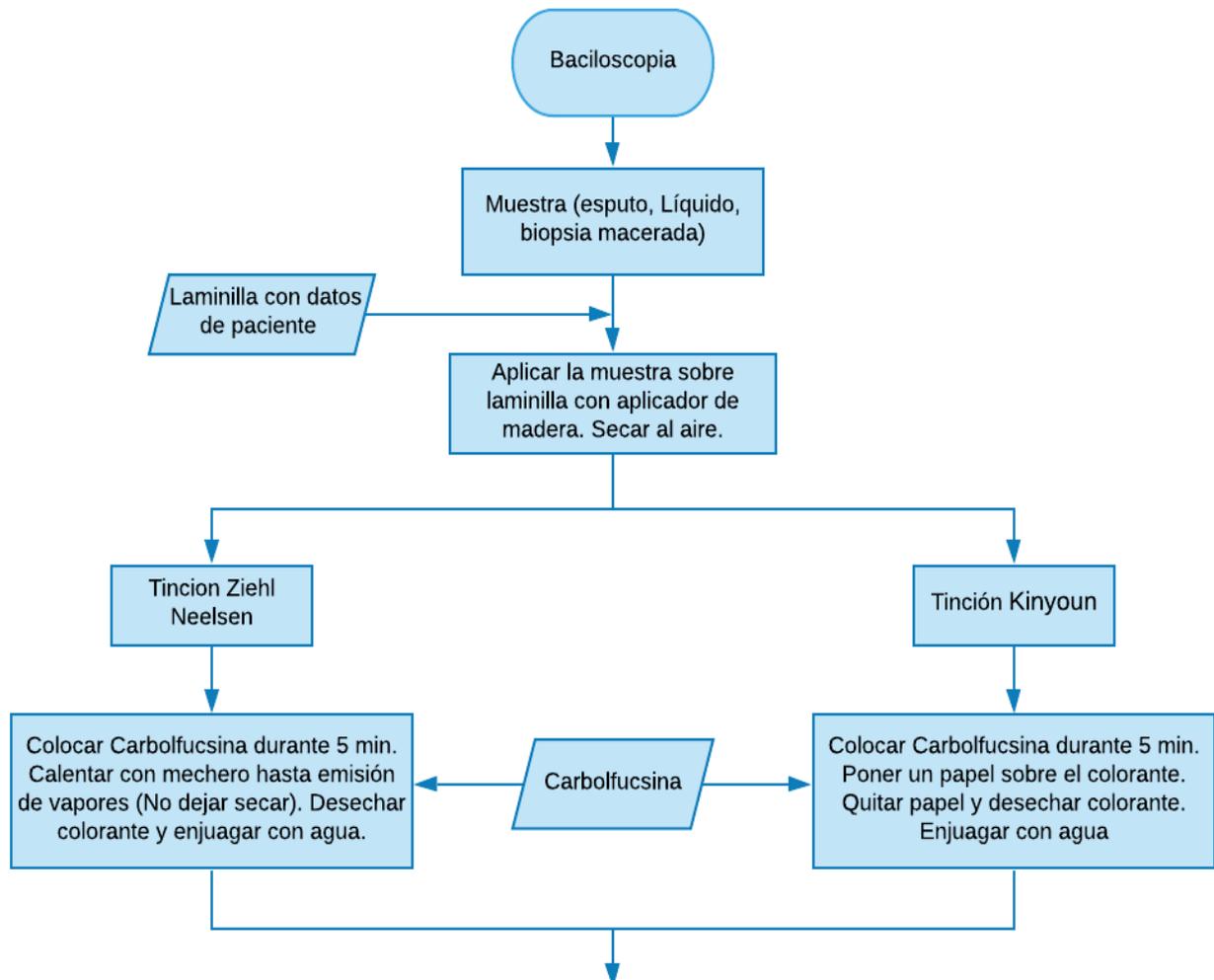
Para trabajar este tipo de microorganismos dentro del laboratorio se deben de tener varios puntos en consideración, los cuales se enlistan a continuación:

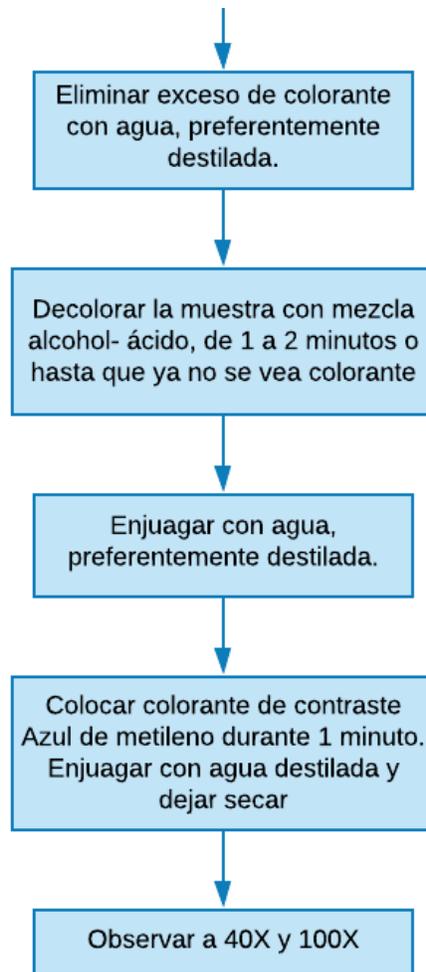
- El laboratorio debe de tener un área especializada para el procesamiento de estas muestras, el cual debe de ser un lugar cerrado para que no existan corrientes bruscas de aire, evitando la formación de aerosoles.
- Sobre la mesa de trabajo, se debe colocar papel absorbente impregnado de fenol al 5 %, y sobre esta el mechero tipo Bunsen.
- Colocar el Equipo de Protección Personal Adecuado. Para cada procesamiento de muestras es necesario una bata, mascarillas tipo N95 preferentemente, doble guante por cada mano, y protección ocular. NO salir del laboratorio mientras se están procesando las muestras.

Si la muestra es un líquido seroso primero debe centrifugarse a 3,000 rpm durante 10 minutos, para concentrar la concentración bacilar.

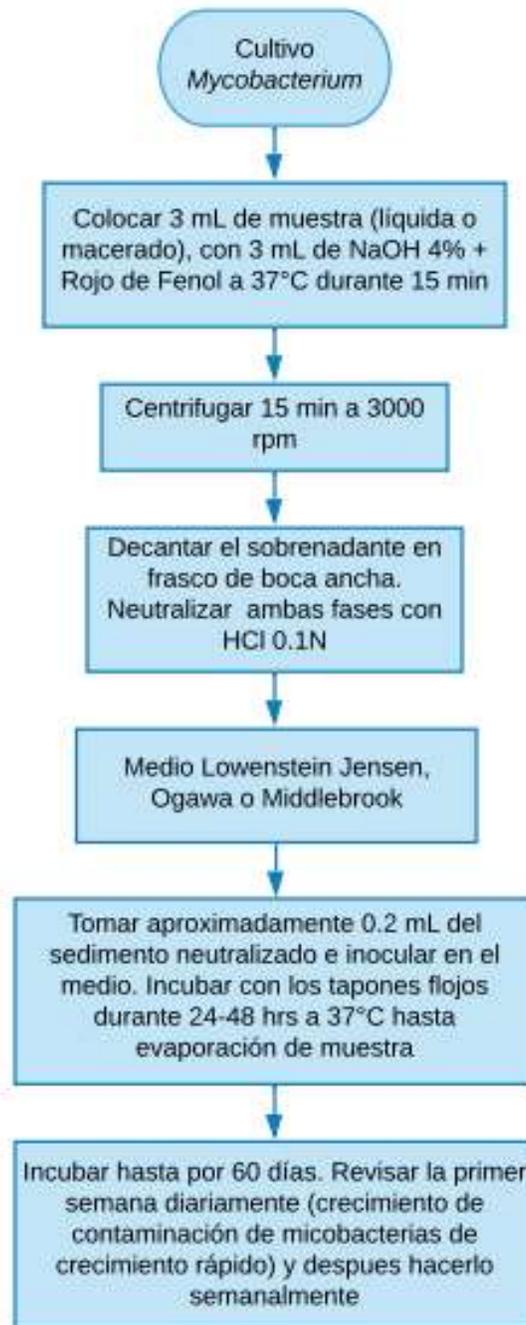
Todos los lineamientos para tratamiento, diagnóstico y seguimiento de pacientes con *M. tuberculosis* se establecen en la Norma Oficial Mexicana **NOM-006-SSA2-2013, Para la prevención y control de la tuberculosis.**

Campana de flujo laminar





Cultivo de *Mycobacterium*.



9.4. *Mycobacterium leprae*

Mycobacterium leprae es un bacilo acidorresistente que no se ha podido cultivar en medio artificial o cultivo tisular, pero que si se puede cultivar en algunos animales (ratones, armadillos). Debido a que su genoma contiene menos genes que codifican proteínas en comparación con los genes no codificantes y los pseudogenes, *M. leprae* es un patógeno intracelular, que depende de las células huésped para la supervivencia y la replicación.

M. leprae, una bacteria intracelular, invade las células de Schwann del sistema nervioso periférico. Se ha demostrado que la absorción este microorganismo es inducida por la unión a la lámina basal que se encuentra en los axones celulares.

La enfermedad ocurre en dos formas principales, con un espectro intermedio de enfermedad. En la forma tuberculoide se observan pocas *M. leprae* en las lesiones, que son granulomatosas con extensas células epiteliales, células gigantes e infiltración de linfocitos. En la lepra lepromatosa la respuesta celular es mínima y, en consecuencia, el crecimiento del microorganismo ocurre en forma relativamente libre de obstáculos. En un sentido histológico, las lesiones muestran densa infiltración con bacilos de la lepra y los organismos pueden alcanzar el torrente sanguíneo (Ryan K., 2011)

El modo exacto de transmisión es desconocido, Se ha especulado que el tracto respiratorio podría desempeñar un papel en la transmisión de *M. leprae*, ya que se identificó una gran cantidad (100 millones de células / día) de la bacteria en la mucosa nasal. También es posible la inoculación por traumatismo debida a lesiones cutáneas menores o tatuajes. El reservorio central lo representan los humanos infectados. Se ha informado de la transmisión de la enfermedad de madre a hijo durante el embarazo y, por lo tanto, los casos de pacientes con lepra que están embarazadas deben seguirse de cerca (Ryan K., 2011).

El método de diagnóstico para *M. leprae* se basa en el cuadro clínico y el hallazgo de bacilos ácido alcohol resistentes en muestras de biopsia.

Referencias.

1. Borrero, R., Álvarez, N., Reyes, F., Sarmiento, M., Acosta. A., (2011). Mycobacterium tuberculosis: factores de virulencia. *VacciMonitor*, 20(1), 34-38. ISSN: 1025-028X. Disponible en: <https://bit.ly/3MO5ASv>
2. Garza, R., Ávila, J., Perea, L., (2017). Tuberculosis pulmonar: la epidemia mundial continúa y la enseñanza de este tema resulta crucial y compleja. *Educación Química*. 28, 38-43. Disponible en: <https://bit.ly/3MRSvHD>
3. Murray, P., Rosenthal K., Pfaller, M., (2013). *Microbiología Médica*. Elsevier.
4. Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill
5. Van Crevel, R. Ottenhoff, T. Van der Meer, J., (2002)._Innate Immunity to Mycobacterium tuberculosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 15(2). 249-309. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/15/2/294.full>

10. *Helicobacter pylori*.

Helicobacter pylori fue descubierta en 1983 por los microbiólogos Warren y Marshall, cuando sugirieron que la gastritis y las úlceras pépticas eran enfermedades infecciosas. Constataron, además, que dichas bacterias se encontraban solamente en las muestras hísticas con signos de inflamación. Estos hallazgos dejaron perplejos a muchos investigadores, entre otras razones, porque era admitido que las bacterias eran destruidas en el medio ácido del estómago. (Lamoth W., 2008).

Los *Helicobacter* gástricos son los más estudiados, aunque solo ocupan un tercio de la totalidad del género. Los dos tercios restantes corresponden a los llamados *Helicobacter* enterohepáticos (HEH); y son llamados así porque predominantemente colonizan el intestino, el árbol biliar y el hígado de animales y seres humanos. Estos microorganismos son menos conocidos debido a que son difíciles de cultivar a partir de muestras de dichos tejidos y necesitan en la mayoría de los casos hibridación y secuenciación del DNA para su detección (Mateos B., 2013).

Helicobacter pylori es un bacilo delgado Gram negativo con forma curva o espiral y con flagelos polares, asemejándose a *Campylobacter*, con los cuales se le clasifico en un inicio. Todos los *Helicobacter* gástricos, incluido *H. pylori*, son muy móviles (movilidad en sacacorchos) gracias a los flagelos polares y producen gran cantidad de ureasa. El crecimiento de *H. pylori* y de otros *Helicobacter* necesita un medio complejo complementado con sangre, suero, carbón, almidón o yema de huevo, condiciones microaerófilas (oxígeno bajo y dióxido de carbono aumentado) y un intervalo de temperatura de 30-37 °C. Como resulta relativamente difícil aislar *Helicobacter* en cultivo e identificarlas mediante pruebas bioquímicas, la mayor parte de las enfermedades provocadas por *H. pylori* se confirman con técnicas distintas del cultivo (Murray P., 2013; Ryan K., 2011).

Helicobacter pylori se A fin de persistir en el medio ambiente agresivo estomacal, *H. pylori* utiliza varios mecanismos para adherirse a la mucosa gástrica y sobrevivir al medio ácido del estómago. Los *Helicobacter* con capacidad de movimiento activo pueden atravesar el moco gástrico y adherirse a las células epiteliales gástricas gracias a

múltiples proteínas de adhesión a la superficie. Las proteínas de superficie se pueden unir también a proteínas del hospedador y esto ayuda a las bacterias a evitar la detección inmunitaria.

La liberación de ureasa es otro de los mecanismos de patogenicidad expresados por *H. pylori*, ya que el ion amonio generado por la hidrólisis de la urea, neutraliza el ácido estomacal, lo que conduce a una disminución de las funciones defensivas del epitelio. La catalasa y superóxido dismutasa contribuyen a la protección del *H. pylori* frente a metabolitos tóxicos como el peróxido.

Es posible que las lesiones tisulares localizadas y la inflamación se deban a los efectos tóxicos de la ureasa o a la citocina vacuolizante A (*VacA*) transportada al interior de las células epiteliales gástricas por el sistema de secreción tipo III (inyección a través del flagelo). Dentro de la célula, la *VacA* provoca la vacuolización del compartimiento endosómico y tiene otros efectos, incluyendo la alteración de la función de los linfocitos T. Otro factor de virulencia importante de *H. pylori* es el gen asociado a la citotoxina (*CagA*), que se localiza en un islote de patogenicidad que contiene unos 30 genes aproximadamente. El sistema de secreción inyecta la proteína *CagA* al interior de la célula epitelial gástrica, donde desencadena múltiples reacciones enzimáticas, incluyendo aquellas que causan la reorganización del citoesqueleto de actina. Los genes *Cag* fosforribosiltransferasa (PAI) también inducen la producción de IL-8, que atrae a los neutrófilos. Se piensa que la liberación de proteasas y moléculas reactivas del oxígeno por los neutrófilos contribuye a la gastritis y las úlceras gástricas (Cervantes E., 2016).

Parecería lógico que décadas de inflamación y agresión por los factores de virulencia antes descritos pudieran ocasionar metaplasias y, a la larga, cáncer, pero se desconocen los mecanismos específicos de la carcinogénesis. Las cepas *Cag*⁺ se asocian con úlceras y adenocarcinomas de la porción inferior del estómago, pero también se asocian con una disminución en la incidencia de adenocarcinomas de la porción superior del estómago (cardias) y el esófago, lo que trae una controversia que aún no se ha podido explicar. Es posible que los linfomas gástricos representen una transformación neoplásica de las

clonas de linfocitos beta que proliferan en respuesta a la estimulación antigénica crónica (Lamoth W., 2008; Ryan K., 2011; Murray P., 2013).

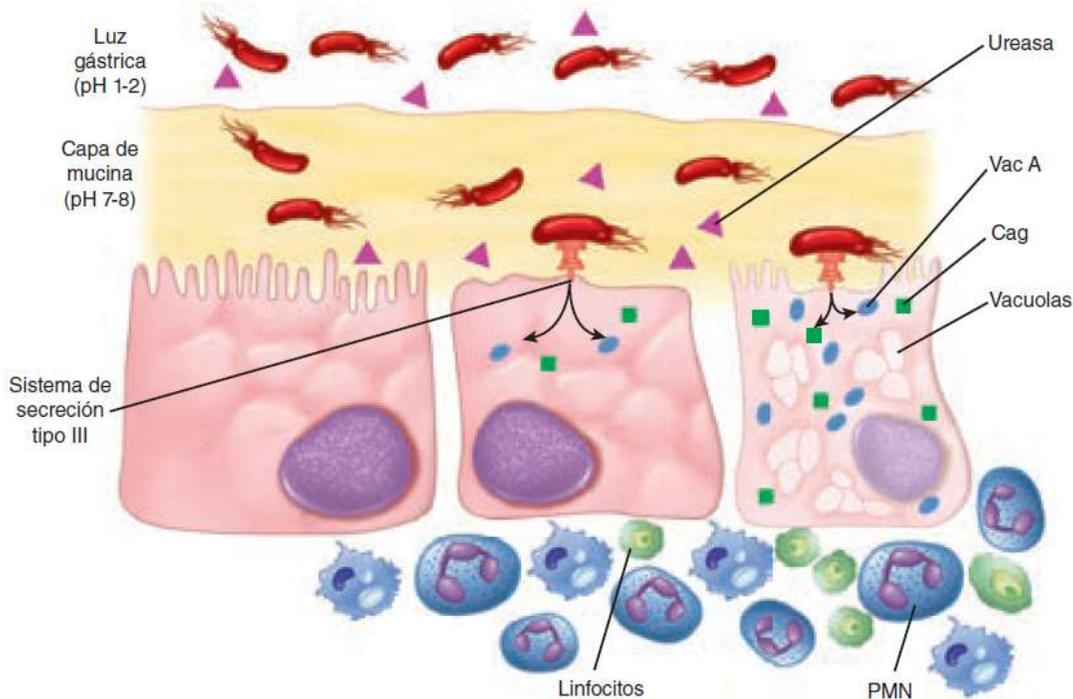


Figura 27. Infección por *Helicobacter* en la mucosa gástrica. Obtenido de: Ryan & Ray (2011).

Actualmente existen varios métodos para diagnosticar la presencia de *H. pylori*, pero es importante tener en cuenta que solo se debe de hacer en aquellas personas que presenten sintomatología específica, ya que en ciertas regiones existe una prevalencia hasta del 90 % de la población colonizada por esta bacteria. Existen dos tipos de diagnóstico: Los métodos invasivos, que requieren de realizar una endoscopia; y los métodos no invasivos, que no requieren de realizar una endoscopia (Ryan K., 2011).

Métodos invasivos

- Histología: El estudio histológico de la biopsia es un método sencillo que permite conocer las lesiones presentes en la mucosa, además de detectar la densidad de colonización en infecciones por *H. pylori*. Las tinciones que se utilizan son hematoxilina-eosina, Warthin-Starry con nitrato de plata, Giemsa, Gram, Ziehl Neelsen. Existen otras técnicas complementarias para el estudio histológico, como la inmunohistoquímica y la técnica de FISH (*fluorescent in situ hybridization*),

aunque requieren equipo más complejo, reactivos más complejos, haciéndolo más costoso.

- Prueba de Ureasa: Es una técnica cualitativa que determina la actividad de la enzima ureasa en una pequeña muestra de mucosa gástrica. Se considera como una técnica de elección para el diagnóstico inicial de la infección por *H. pylori* en pacientes que son sometidos a endoscopia.
- Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR): Técnica de amplificación de DNA, que usa como muestra biopsias gástricas. Actualmente se utiliza PCR en tiempo real, que permite la detección de cepas resistentes a los antibióticos. Para la técnica se utilizan diferentes iniciadores de secuencias (cebadores), amplificando los principales genes de virulencia específicos de *H. pylori* como *CagA* y *VacA* y el gen *glmM* que codifica para la fosfoglucosamina mutasa (actualmente el más usado para el diagnóstico de *H. pylori*).

Métodos no invasivos.

- Prueba del aliento: Prueba cualitativa que se basa en la actividad de la ureasa de *H. pylori* con urea marcada. Es el resultado de la ingestión de una suspensión de urea marcada con C^{13} o C^{14} , donde se lleva a cabo la hidrólisis de la urea y se forma anhídrido carbónico que se absorbe en los tejidos, se difunde a la sangre y es transportada a los pulmones; posteriormente, es exhalada a través del aliento.
- Serología: Las pruebas serológicas para el diagnóstico de *H. pylori* se basan en la detección de anticuerpos séricos de clase IgG o IgA contra antígenos específicos. Su principal problema radica en que no se puede diferenciar una infección activa de la exposición previa del microorganismo. Las principales pruebas de diagnóstico se basan en kits de ELISA, y algunos otros en inmunocromatografía. Los métodos basados en la técnica de Western Blot se utilizan para el estudio de la respuesta frente a antígenos específicos como *CagA* y *VacA*.
- Detección de anticuerpos en diferentes muestras: La eliminación de anticuerpos tipo IgG se pueden encontrar en orina, y en menos cantidad en saliva. Son muestras poco usadas debido a su baja sensibilidad y especificidad.

- Antígeno en heces: Método cualitativo que permite la detección directa del antígeno de *H. pylori* en muestras de heces. Se ha descrito como prueba válida para establecer el diagnóstico inicial y el seguimiento después del tratamiento, sobre todo en niños. Existen sistemas comerciales basados en las técnicas ELISA, y más recientemente inmunocromatografía. (Alarcón T., 2004; Cervantes E., 2016)

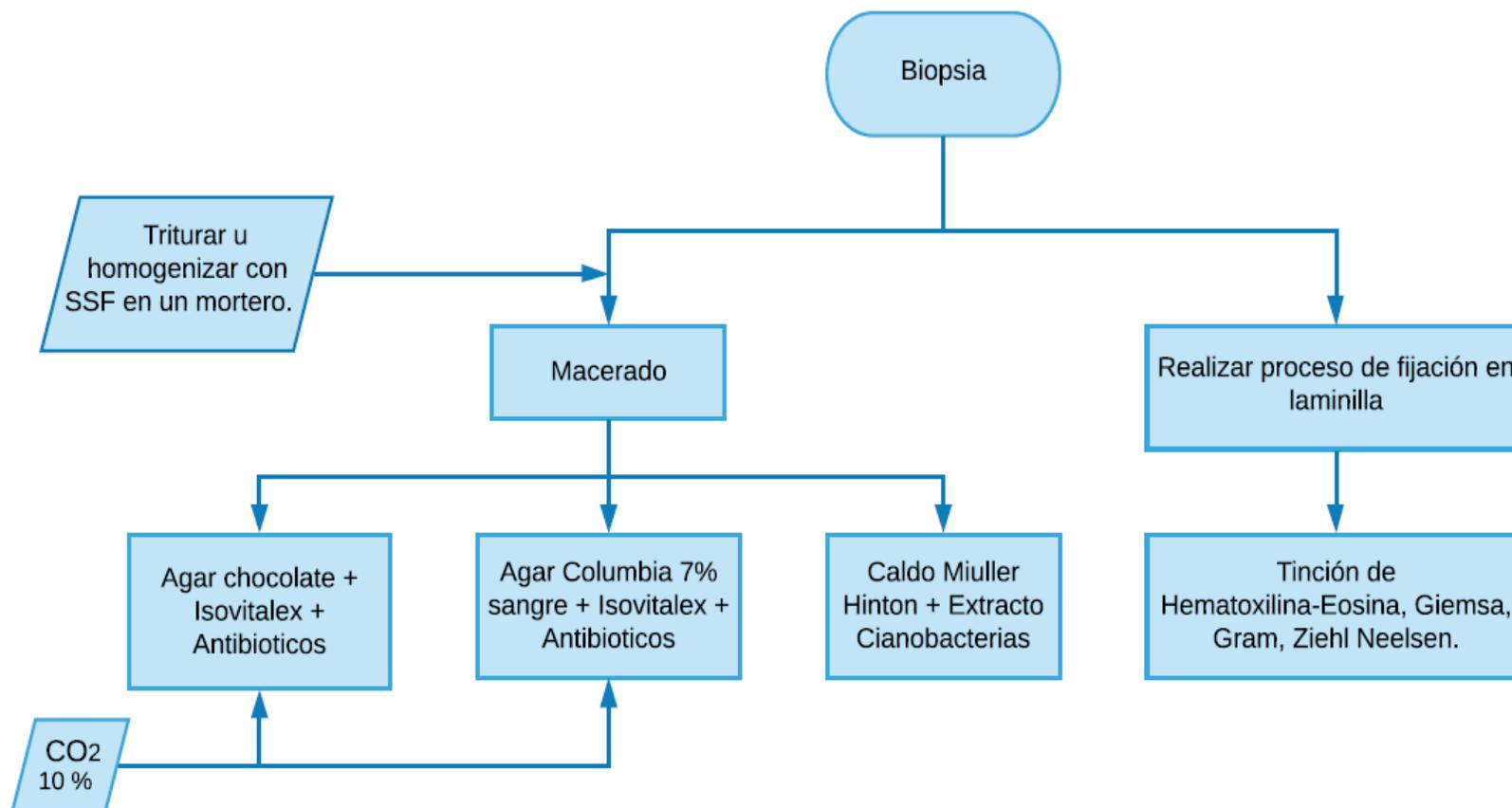
10.1. Toma de muestra: Biopsia

Biopsia

Las muestras de tejido deben ser tomadas por personal médico capacitado, ya que muchas de estas pertenecen a cirujías. Las muestras se deben de meter en un contenedor estéril de boca ancha, y transportarlo lo antes posible al laboratorio. En el sembrado de la muestra se debe de realizar un macerado de la muestra para optimizar la recuperación de *Helicobacter pylori*. El protocolo recomendado para la toma de biopsias en pacientes con gastritis crónica es el propuesto por el sistema Sídney. Se debe tener en cuenta que *H. pylori* se encuentra predominantemente en la parte antral del estómago, excepto en individuos tratados con inhibidores de la bomba de protones (IBP) y antihistamínicos anti-H₂, en los que se encuentran densidades más grandes en el cuerpo. Se deben tomar 5 biopsias de la siguiente manera: Dos muestras antrales a partir de las curvaturas mayor y menor 2 a 3 centímetros proximales al píloro, dos muestras del cuerpo a partir de las curvaturas mayor y menor 8 centímetros distales del cardias y una muestra a partir de la incisura angularis. Empleando este protocolo se puede detectar la bacteria en prácticamente todos los individuos infectados (Bayona M., 2013; Cervantes E., 2013).

Se recomienda que la biopsia se mantenga a 4 °C si se procesara en las primeras horas después de la toma de muestra, y que se congele a -70 °C en caso de demora. Se recomienda se transporte en solución salina fisiológica, o en medio de transporte.

10.2. Algoritmo diagnóstico:



Se utilizan medio de cultivo combinado con antibióticos tales como Vancomicina, Trimetoprim, Anfotericina B y cefsulodin, los cuales no inhiben el crecimiento de *Helicobacter pylori* en los medios de cultivo.

Referencias.

- Alarcón, T., Barquero, M., Domingo, D., López-Brea, M., Royo, G., (2004). Diagnóstico microbiológico de la infección por *Helicobacter pylori*. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. ISBN: 84-609-392-0. Disponible en: <https://bit.ly/39SGEKP>
- Bayona, M., (2013). Condiciones microbiológicas para el cultivo de *Helicobacter pylori*. *Asociaciones Colombianas de Gastroenterología*. 28 (2) 2013. Disponible en: <https://bit.ly/3z0JojY>
- Cervantes, E. (2016). Diagnóstico y tratamiento de infecciones causadas por *Helicobacter pylori*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*. 63 (4): 179-189 Disponible en: <https://bit.ly/3sXbCle>
- Lamoth, W., Serrano, Y., Peláez, M., Bustamante, Y., Lantigua, R., (2008). Helicobacter Pylori. Revisión Bibliográfica. *Revista Información Científica*, 59 (3). Disponible en: <https://bit.ly/3Ny9Fdi>
- Mateos, B., Pérez, J., Serrano, B., Casabona, S., Velasco, A., (2013). *Helicobacter* Enterohepáticos distintos de *Helicobacter pylori*. *Revista Española de Enfermedades Gástricas*. 477-485. Disponible en: <https://bit.ly/3yWmxWv>
- Murray, P., Rosenthal K., Pfaller, M., (2013). *Microbiología Médica*.
- Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill

11. Infecciones por Bacterias no Cultivables

Algunos microorganismos patógenos son difíciles o imposibles de cultivar y por esta razón no siempre es posible establecer la causa de la enfermedad que generan. El diagnóstico para este tipo de microorganismos se basa en el cuadro clínico que presente el paciente y la identificación del mismo por métodos serológicos o directos como PCR. La mayor parte de dichos microorganismos son intracelulares, o son microorganismos de metabolismo complejo, que requieren características específicas de crecimiento, por lo cual no es posible que crezcan en medios de cultivo bacteriano.

11.1. Espiroquetas

La morfología espiral de las espiroquetas es consecuencia de una pared celular flexible de peptidoglicanos alrededor de la cual se encuentran varias fibrillas axiles. La pared celular y las fibrillas axiles están completamente cubiertas por una membrana laminar externa similar a la membrana externa de otras bacterias Gram negativas. Muchas espiroquetas son difíciles de observar en la microscopia habitual en una tinción de Gram, ya que se tiñen mal o son demasiado delgadas. La microscopia de campo oscuro, las técnicas de inmunofluorescencia o técnicas de tinción especial pueden demostrar la presencia de estas espiroquetas.

Las principales enfermedades por espiroquetas son causadas por especies selectas de tres géneros que no se encuentran en la flora normal, *Treponema* (*T. pallidum*), *Leptospira* (*L. interrogans*) y *Borrelia* (*B. recurrentis*, *B. hermsii* y *B. burgdorferi*). La mayor parte de las infecciones por *Borrelia* y *Leptospira* son zoonosis transmitidas a partir de animales salvajes y domésticos. *T. pallidum* es un patógeno estricto de seres humanos que se transmite por contacto sexual (Ryan K., 2011).

11.1.1. *Treponema*

El género *Treponema* son microorganismos de pequeño diámetro y morfología helicoidal, que presentan un característico movimiento rotatorio y ondulado sobre su eje. Los cuatro treponemas patógenos causantes de enfermedades en el ser humano son: *T. pallidum* subespecie *pallidum* causante de la sífilis (en adelante *T. pallidum*), *T. pallidum*

subespecie *pertenue* responsable del pian, *T. pallidum* subespecie *endemicum* causante de la sífilis endémica y *T. carateum* agente etiológico del mal del pinto, son parásitos obligados del hombre. Cabe destacar que el agente con más relevancia médica es el causante de la sífilis, debido a que la forma de transmisión es por contacto sexual. Los otros treponemas son exclusivos de zonas tropicales o subtropicales (Hellín S., 2022; Martín C., 2006).

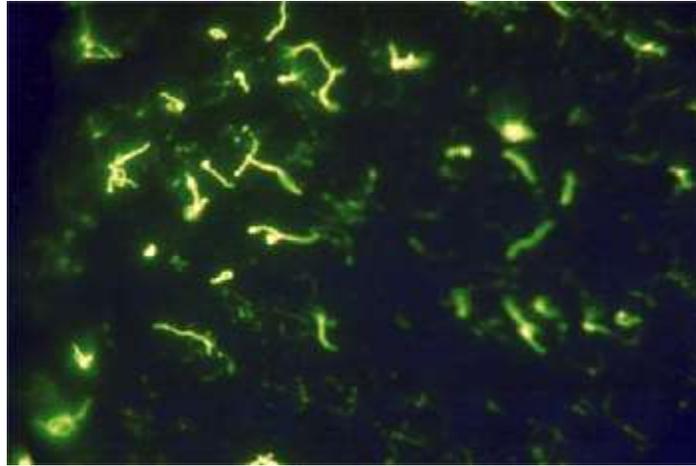


Figura 28. Identificación de *Treponema spp.*, por técnica de Inmunofluorescencia indirecta. Obtenido: <https://www.farestaie.com.ar/cd-interpretacion/te/bc/381.htm>

Treponema pallidum es un microorganismo de forma espiral que tiene movilidad debido a un mecanismo de giro alrededor de su eje longitudinal. El único hospedero natural conocido de *T. pallidum* es el ser humano; puede infectar a muchos mamíferos pero sólo presentan lesiones sífilíticas las personas, los primates superiores y algunos animales de laboratorio. Este microorganismo es causante de la enfermedad conocida como sífilis. La sífilis puede transmitirse por vía vertical, transfusional, accidental o sexual. *T. pallidum* es capaz de atravesar las mucosas a través de las microerosiones que se producen durante el contacto sexual y, en pocas horas, se disemina por vía linfática y sanguínea por todo el organismo; por lo tanto, la sífilis es una enfermedad sistémica desde el comienzo. La sangre de un paciente con sífilis inicial o en fase de incubación tiene capacidad infecciosa. El chancro típico es una lesión papular única que pronto se ulcera, es indolora, dura y con fondo de color rosa brillante que exuda escasamente. En ocasiones se presenta de manera de lesiones atípicas (chancros múltiples, úlceras blandas, úlceras purulentas, lesiones no ulceradas). La lesión primaria aparece en el punto de inoculación,

persiste habitualmente durante 2 a 6 semanas y se cura espontáneamente. Las manifestaciones generalizadas parenquimatosas, constitucionales y mucocutáneas de la sífilis secundaria aparecen habitualmente a las 6 a 8 semanas de la curación del chancro, En las palmas y las plantas de los pies, las lesiones pueden ser induradas (clavos sífilíticos); en las áreas pilosas, pequeñas lesiones afectan a los folículos (sífilides foliculares) ocasionando alopecia; en las áreas intertriginosas se producen lesiones hipertróficas y granulares, frecuentemente erosionadas (condilomas planos). La sífilis terciaria puede afectar a cualquier órgano o sistema, pero la neurosífilis, la sífilis cardiovascular y los gomas (lesiones inflamatorias granulomatosas) son las formas más comunes. La invasión del sistema nervioso central (SNC) por *T. pallidum* se produce durante las primeras semanas o meses de la infección, y las alteraciones del líquido cefalorraquídeo (LCR) se demuestran hasta en el 40 % de los pacientes durante la fase secundaria. La hepatitis clínica y la glomerulonefritis membranosa con depósitos de inmunocomplejos son manifestaciones relativamente infrecuentes (Hellín S., 2022; Martín C., 2006).

Los métodos de diagnóstico para *Treponema* pueden ser directos, como verificar la presencia de la bacteria dentro de una muestra, o indirectos, midiendo los anticuerpos generados durante la infección. Actualmente uno de los métodos más comúnmente usados dentro del diagnóstico de *T. pallidum* es la detección de anticuerpos, la cual se divide en dos, la detección de anticuerpos específicos, y la detección de anticuerpos no específicos. Los métodos de diagnóstico son los siguientes:

- Microscopia de campo oscuro: Esta prueba ayuda principalmente en la sífilis primaria. Esta prueba consiste en el examen en fresco del exudado de las lesiones genitales o el aspirado de los ganglios. Esta prueba no tiene fiabilidad en chancros de boca o anales, ya que se tendría un resultado falso positivo debido a la microbiota normal de dichas áreas.
- Inmunofluorescencia directa: En este método se fija la muestra proveniente del exudado de las lesiones con metanol o acetona, y se pondrá en contacto con anticuerpos fluorescentes frente a *Treponema pallidum*. Estas tinciones se pueden ver en el microscopio de campo oscuro.

- Análisis de tejidos: Para el análisis de tejidos obtenidos por biopsia se utilizan tinciones argénticas, inmunofluorescentes o inmunoenzimáticas.
- Serología directa: La detección de anticuerpos específicos o pruebas treponémicas utilizan como antígeno a *T. pallidum* liofilizado. Esta es una prueba cualitativa donde el resultado se expresa como reactivo o no reactivo. En este caso no se dan falsos positivos. Las pruebas más utilizadas son FTA-ABS (fluorescent treponemal antibody absorption) y el TPHA (treponema pallidum haemoagglutination assay), aunque el FTA-ABS, solo es solicitado en LCR.
- Serología indirecta: Este método se utiliza principalmente en el seguimiento del tratamiento de enfermos con sífilis. Estas pruebas detectan principalmente anticuerpos de tipo IgG e IgM dirigidos contra antígenos lipóideos producidos en los tejidos del huésped dañados por el patógeno (o por otras enfermedades), capaces de reaccionar *in vitro* con complejos de cardiolipina-colesterol-lecitina. Las más comunes son el RPR (Rapid Plasma Reagin) y el VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) que pueden hacerse positivas incluso tras 4 a 7 días tras la aparición del chancro y son prácticamente siempre positivas en pacientes con sífilis secundaria.
- PCR (Reacción en cadena de la polimerasa): Esta técnica tiene una alta sensibilidad y detecta los patógenos incluso antes de que haya producción de anticuerpos; sin embargo, tiene como inconveniente la falta de especificidad, ya que detecta tanto a *T. pallidum* como a *T. pertenue*. Esta técnica se utiliza principalmente en el diagnóstico de neurosífilis (Hellín S., 2022; Martín C., 2006).

11.1.2. *Borrelia*.

Las bacterias del género *Borrelia* son espiroquetas delgadas, largas (10 a 30 μm) y contienen múltiples flagelos axiales (7 a 20 μm). La estructura organizacional básica de la célula y de su motilidad es similar a la de otras espiroquetas Gram negativas, pero a diferencia de las otras, las bacterias del género *Borrelia* se observan fácilmente con métodos de tinción habituales como las tinciones de Giemsa o Wright. Las bacterias del género *Borrelia* son microhidrofílicas y han crecido con éxito en medios enriquecidos (*N*-acetilglucosamina, ácidos grasos), ya sea líquidos o semisólidos. Los

microorganismos por lo general carecen de genes para la síntesis de muchos nutrientes esenciales (aminoácidos, ácidos grasos, ácidos nucleicos) y por tanto deben obtenerlos de fuentes externas. Una característica distintiva de las bacterias del género *Borrelia* es la partición del genoma entre los cromosomas y los múltiples plásmidos circulares y lineales, lo que genera una gran capacidad para enfermar animales y en humanos (Ryan K., 2011).

Existen más de 15 especies de *Borrelia* causantes de enfermedades en el humano y en animales productoras de cuadros febriles intermitentes y pocas manifestaciones adicionales. *Borrelia burgdorferi* es el agente causal de la enfermedad de Lyme; esta enfermedad es una zoonosis transmitida por la picadura de una garrapata del complejo *Ixodes ricinus*, que predomina en zonas templadas y húmedas. Se trata de una enfermedad multisistémica en la que predominan manifestaciones dermatológicas, reumáticas, neurológicas y cardíacas. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Lyme, se caracteriza por la cronicidad y la aparición en forma de exacerbación y remisión, por lo que se pueden clasificar en tres fases evolutivas: infección temprana localizada, infección temprana diseminada e infección tardía.

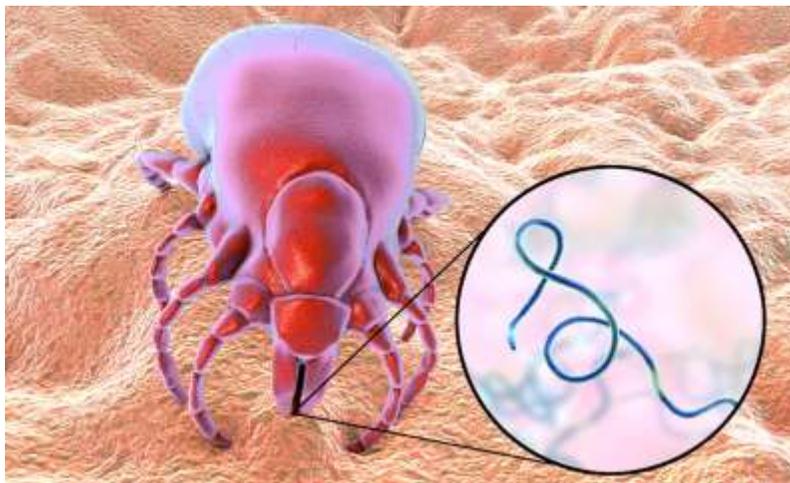


Figura 29. Transmisión de *Borrelia spp.*, por garrapata.

Obtenido de: <https://vinoturismorioja.com/un-antibiotico-conocido-que-puede-matarlo-en-la-fuente/>

La manifestación principal de la infección temprana es el eritema migratorio. Se caracteriza por una pápula o macula que progresa lentamente de forma centrifuga, adoptando una morfología anular típica con borde de color rojizo que va aclarándose por

el interior y puede llegar a alcanzar los 50 cm de diámetro. En algunas ocasiones, el centro de la lesión aparece muy eritematosa y endurecida, pudiéndose necrosar. En esta fase, los datos analíticos de laboratorio no son específicos, pero se puede observar una elevación de la velocidad de sedimentación globular, aumento de la creatinfosfoquinasa y enzimas hepáticas, leucocitosis o leucopenia, anemia y trombopenia (García M., 2018).

La infección temprana diseminada en ocasiones puede ser la primera manifestación de la Enfermedad de Lyme. Los primeros síntomas pueden aparecer tras semanas o meses desde la picadura de garrapata, como consecuencia de la diseminación hematogena de *B. burgdorferi*, produce problemas neurológicos o cardíacos. Las manifestaciones cardíacas aparecen varias semanas después como alteraciones de la conducción auriculoventricular (AV) (bloqueo AV), pericarditis o miocarditis. En los casos de meningitis, en el estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR) se observa pleocitosis, alrededor de 100 células/mL, de predominio linfocitario, leve aumento de proteínas y glucorraquia disminuida o normal.

La infección tardía es provocada debido a que *B. burgdorferi* puede mantenerse oculto en diversos órganos sin provocar daño severo. En este periodo se observa una oligoartritis intermitente que persiste durante años y que afecta fundamentalmente a grandes articulaciones, sobre todo a las rodillas. Se producen brotes dolorosos tipo inflamatorio con edema y aumento de temperatura, acompañados en ocasiones de febrícula. Al igual que en las fases anteriores, la afección neurológica puede presentarse asociada a una encefalopatía con alteraciones en el sueño y el comportamiento, así como una polineuropatía axonal crónica que se manifiesta con parestesias distales (García M., 2018; Ryan K., 2011).

El diagnóstico de fiebre recurrente producido por microorganismos del género *Borrelia* productores de fiebres intermitentes, se puede realizar durante el periodo febril por frotis de sangre teñidos con técnicas de Giemsa o de Wright.

Para diagnóstico de la enfermedad de Lyme puede realizarse mediante la historia clínica en aquellos pacientes que refieren una picadura previa de la garrapata y presentan eritema migratorio. El diagnóstico puede ser por método directo o indirecto. El método directo es la visualización de microorganismos (*B. burgdorferi*) en un medio de cultivo. El

medio más utilizado es el medio enriquecido semisólido Barbour-Stoenner-Kelly (BSK II). *B. burgdorferi* es un microorganismo que requiere condiciones de incubación en una atmosfera microaerófila y una temperatura entre 30 y 37 °C. Su crecimiento es lento (*B. burgdorferi* se divide cada 12 horas) con un desarrollo de unas 3-4 semanas. Su sensibilidad difiere según la procedencia de la muestra, dando el mejor resultado la biopsia de piel. Existe el método de PCR para comprobar la existencia de *B. burgdorferi*, aunque no son lo suficientemente específicos como para ser el método único de diagnóstico. La serología solo se debe de hacer bajo ciertos criterios según las guías clínicas (CDC), los cuales son: historia reciente de viaje o vivir en zona endémica; factor de riesgo a exposición de picadura (ganaderos, agricultores, etc.); síntomas compatibles con la infección temprana diseminada. Los anticuerpos pueden persistir durante meses o años, y a menudo no se distingue entre infección activa e infección pasada. En un primer paso se realizara la prueba ELISA, y si esta da como resultado reactiva, se procederá a realizar Western-Blot (García M., 2018; Ryan K., 2011).

11.1.3. *Leptospira*

Leptospira es un género bacteriano aeróbico, Gram negativo, helicoidal, con flagelos periplásmicos que le confieren movilidad; cuentan con un gran potencial de supervivencia en el suelo y en el agua como saprofito y parasito facultativo. Se han descrito 21 especies, de las cuales 9 son patógenas, 7 con patogenicidad intermedia y 5 no patógenas (Oteo J., 2006).



Figura 30. Vista al microscopio de una *Leptospira* spp., con tinción de plata.
Obtenido de: <https://biologia.laguia2000.com/microbiologia/la-bacteria-de-la-leptospirosis>

Leptospira interrogans es la especie que afecta con mayor frecuencia al humano causante de leptospirosis. *L. interrogans* tiene múltiples serogrupos y más de 200 serotipos, muchos de los cuales se establecieron con base en características geográficas y diferencias en las especies de hospedadores y síndromes clínicos asociados. La leptospirosis es una zoonosis predominante en regiones tropicales, y con menor frecuencia en climas templados. La vía de infección es cuando las leptospiras se excretan en la orina de animales que actúan como reservorio, principalmente los roedores, aunque también está presente en otros mamíferos como perros, ovejas y caballos. Puede afectar al ser humano a través del contacto con agua contaminada, por la mucosa intacta, piel erosionada y por inhalación (formación de aerosoles).

Los síntomas en los seres humanos se producen después del periodo de incubación, que va de una a dos semanas, produciendo cuadros febriles una vez que *Leptospira* llega a torrente sanguíneo. La leptospira se une al endotelio capilar, lo que produce una vasculitis, con activación de las células endoteliales y alteración de la función barrera, causando diseminación de leptospiras por vía hematológica (fase septicémica) y afectación multisistémica (afectación renal, cardíaca, hepática, neurológica), produciendo hemorragias y necrosis hística. Durante la fase inmune, la aparición de anticuerpos coincide con la desaparición de leptospiras en la sangre. Después de la mejoría inicial, surge la segunda fase en la cual aumenta la cantidad de anticuerpos IgM, donde puede existir desaparición de leptospiras en la sangre. En algunos casos las leptospiras patógenas resisten la destrucción por los neutrófilos, monocitos y macrófagos, afectando a diferentes órganos manifestándose como nefritis, hepatitis, lesiones en la piel, y en casos graves meningitis aséptica, produciendo cefalea intensa, rigidez en el cuello y pleocitosis. La meningitis aséptica con o sin síntomas es característica de la fase inmune de la enfermedad; experimentando una tormenta de citocinas caracterizada por niveles elevados de IL-6, TNF- α e IL-10. La forma de afectación pulmonar grave se caracteriza por hemorragia intraalveolar que puede conducir a insuficiencia respiratoria aguda. La afectación renal puede variar desde un curso subclínico con proteinuria leve y alteración del sedimento urinario a insuficiencia renal grave (Brooks G., 2013; Gaitán D., 2018; Ryan K., 2011).

El diagnóstico definitivo de la leptopirosis se realiza en presencia de síntomas clínicos que sugieran un alto índice de sospecha. La primera prueba es la visualización directa del microorganismo en el microscopio de campo oscuro en las muestras de LCR y sangre durante la primer semana después de la infección, y posteriormente la muestra será la orina. Se observan microorganismos delgados, helicoidales que se mueven rápidamente. Existen otros métodos para aumentar la sensibilidad del examen directo como son: inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, y la utilización de tinciones especiales como tinción de plata o la tinción de Warthin-Starry, ya que las leptospiras no se tiñen con la tinción convencional de Gram.

La serología es la prueba más usada en el diagnóstico, y se basa en la detección de anticuerpos específicos para *Leptospira*, los cuales se detectan en sangre del quinto al séptimo día después de la aparición de los síntomas. Se trata de una prueba de microaglutinación (microscopic agglutination test, MAT), que identifica anticuerpos del tipo IgM e IgG que reaccionan con un panel de antígenos de los diferentes serotipos de *Leptospira*. El MAT tiene una sensibilidad del 41 % durante la primera semana, del 82 % entre la segunda y la cuarta semana y del 96 % más allá de la cuarta semana de la enfermedad, con una especificidad mayor del 90 %. Junto al MAT, también se puede llevar a cabo la prueba ELISA, que juntas constituyen las pruebas serológicas por excelencia.

El diagnóstico molecular por la técnica PCR, se puede realizar después de los primeros 5 a 10 días del inicio de la enfermedad. Por su confiabilidad la técnica más usada es la PCR en tiempo real, dando una ventaja de obtener un diagnóstico definitivo durante la etapa aguda de la enfermedad, antes de que aparezcan los anticuerpos (Brooks G., 2013; Gaitán D., 2018; Ryan K., 2011).

11.2. Rickettsia

La familia *Rickettsiaceae* está constituido por bacterias estrictamente intracelulares, morfológicamente pleomórficas; son transmitidas por artrópodos hematófagos como las garrapatas, pulgas, piojos y ácaros. El género más conocido es *Rickettsia*, aunque también existe el género *Orientia*. Actualmente existe un problema epidemiológico en algunos países del mundo. La incidencia de esta enfermedad ha aumentado en la última

década. Los primeros síntomas de esta son notablemente inespecíficos o pueden aparentar una infección viral haciendo difícil su diagnóstico. En México, las enfermedades producidas por el género *Rickettsia* se han reportado desde la llegada de los españoles. Es un hecho que es una enfermedad re-emergente, que es importante continuar con los sistemas de vigilancia epidemiológica actuales, y es importante que los médicos de primer contacto, conozcan sus manifestaciones clínicas y su tratamiento (Brooks G., 2013; Santamaría C., 2018).

11.2.1. *Rickettsia*

Rickettsiae son bacterias Gram negativas pequeñas y pleomórficas que se comportan como parásitos intracelulares obligados, y no pueden sobrevivir fuera del vector o del reservorio durante períodos prolongados. Todas las rickettsias poseen una pared celular con peptidoglucano y lipopolisacárido, aunque existen dificultades para su tinción con método de Gram. Su genoma es de los más pequeños entre las bacterias, y está altamente conservado entre las diferentes especies (Herrero J., 2010).

Cuando se produce la infección y la rickettsia penetra en el organismo, rápidamente alcanza el torrente sanguíneo. Allí se puede unir a la célula endotelial gracias al receptor celular (prot Ku70) y se producen cambios en la conformación de la membrana que facilitan la fagocitosis de la bacteria. Esta, a través de su fosfolipasa D y hemolisina C, rompe la membrana fagosómica y escapa libre al citosol (en ocasiones alcanza el núcleo celular). Dentro del citoplasma se produce la multiplicación celular y, a través de un mecanismo de expulsión activo causado por la propia bacteria, se produce su inoculación directa en las células contiguas a la infectada.

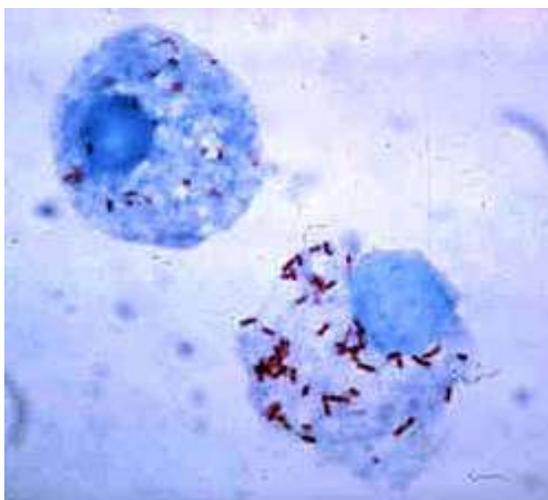


Figura 31. Células infectadas por *Rickettsia rickettsii*.
Obtenido de: <https://es.wikipedia.org/wiki/Rickettsia>

Además, las rickettsias inducen la activación de algunos factores de transcripción, como el factor nuclear kappa beta (NF- κ β), que inhiben la apoptosis de estas células y favorecen la producción de algunas proteínas celulares. Todo ello ocasiona la aparición de múltiples focos de vasculitis y un estado procoagulante endovascular. En el control de la infección participan diversos mecanismos: los anticuerpos dirigidos frente a las proteínas transportadoras de la membrana protegen a otras células de ser infectadas pero no desempeñan un papel significativo durante el episodio agudo; las células *natural killer* (NK) inhiben la proliferación de las rickettsias y activan su eliminación intracelular mediante la síntesis de IFN- γ ; la inmunidad celular y especialmente las poblaciones de células CD8+ son necesarias para la eliminación de la infección mediante la destrucción de las células infectadas (Herrero J., 2010).

La fiebre manchada de las Montañas Rocosas es una enfermedad potencialmente letal causada por *R. rickettsii*. Diversas garrapatas pueden servir como vector y reservorio para su transmisión. Inicialmente los síntomas (fiebre, postración, artromialgias) son inespecíficos. Entre el segundo y quinto día aparece una erupción maculosa en los tobillos y las muñecas que se extienden a las palmas y las plantas y luego de forma centrípeta. Las lesiones pueden adquirir un aspecto petequial e incluso desarrollar necrosis. Se puede observar compromiso ocular, del sistema nervioso central (SNC), pulmonar, miocárdico, daño renal o afectación musculoesquelética en un 15-25 % de los

casos. El diagnóstico precoz se basa en la existencia de antecedentes epidemiológicos y la sospecha clínica, puesto que la serología no es positiva hasta pasados 7-10 días del inicio de los síntomas, y otros métodos diagnósticos no suelen estar a disposición de los clínicos.

El tifus murino es causado por *R. typhi* que pertenece al grupo de las que producen fiebres tíficas. La enfermedad se transmite a través de la picadura de la pulga de la rata *Xenopsylla cheopis*, El período de incubación es de 1-2 semanas. Posteriormente y de forma abrupta aparece un cuadro de fiebre elevada, acompañada de escalofrío, cefalea intensa, mialgias y náuseas. La erupción cutánea al inicio del cuadro es rara, aunque en los siguientes 3-5 días aparece hasta en un 80 % de los pacientes. En general, es eritematosa macular o maculopapular, apareciendo petequias solo en el 10 % de los casos. En general, el curso clínico casi siempre es benigno, especialmente en los niños, aunque ocurren casos graves y algunos pacientes fallecen generalmente si existe compromiso del SNC, insuficiencia renal o respiratoria. El diagnóstico se basa en un alto índice clínico de sospecha, y hoy en día la técnica confirmatoria más utilizada es la serología mediante IF indirecta que aúna sencillez y elevadas sensibilidad y especificidad (Herrero J., 2010; Ryan K., 2011).

11.2.2. Coxiella

Coxiella burnetii es un pequeño cocobacilo pleomórfico Gram negativo de crecimiento intracelular que inicialmente, y debido a su comportamiento biológico, fue clasificado dentro del orden de los *Rickettsiales* como un género, pero que en base a las analogías de su RNAr 16S se ha reclasificado dentro de las *Legionellales*.

Cuando *Coxiella burnetii* produce infecciones en los seres humanos es capaz de sobrevivir en los macrófagos. Alcanza la superficie de la célula y se une a ella a través de la integrina $\alpha\beta_3$ y cuando la bacteria expresa antígenos de fase II también mediante la unión al receptor del complemento CR3. Se produce la internalización de la bacteria y una vez dentro del macrófago permanece en el interior de las vacuolas y eventualmente los fagolisosomas con pH ácido. La bacteria es capaz de sobrevivir y multiplicarse allí gracias a su capacidad para interactuar con los sistemas de producción de peróxidos y óxido nítrico, así como neutralizar los radicales libres. Por otro lado, la bacteria inhibe la

maduración del fagolisosoma inhibiendo la fusión del mismo con la catepsina. Si se utilizan antibióticos a pesar de que penetren dentro de los lisosomas, pueden no ser activos debido al pH ácido. En estas circunstancias, la utilización concomitante de otros fármacos que aumentan el pH intralisosomal como la hidroxiclороquina es capaz de restaurar la actividad bactericida del primero. La respuesta inmune para controlar una infección por *Coxiella*, esta dada en su mayor parte por linfocitos T por la producción de interferón gamma (IFN- γ); el cuál es capaz de restablecer la capacidad de los macrófagos para eliminar las bacterias de su interior. Además, es capaz de inducir apoptosis en macrófagos infectados por *Coxiella* y así limitar la infección (Brooks G., 2013; Soler A., 2018).

C. burnetii es capaz de infectar una gran variedad de animales que incluyen mascotas, animales de granja, mamíferos salvajes y más raramente aves, peces, reptiles e incluso garrapatas. Los animales infectados son capaces de excretar el microorganismo en la leche, la orina, heces, por lo tanto, la adquisición del microorganismo se puede realizar mediante inhalación de partículas aerosolizadas.

La mayoría (50-60 %) de las infecciones agudas por *C. burnetii* son asintomáticas. Tras un período de incubación variable, donde se produce un cuadro febril de características gripales. La temperatura puede alcanzar los 40 °C, observándose en muchas ocasiones un pico febril matutino y otro vespertino. Es frecuente la aparición de un cuadro neumónico con escasa tos y expectoración de características variables. En general, la fiebre Q es un cuadro benigno y su mortalidad no supera el 3 %. En el caso de la fiebre Q aguda, la manifestación clínica más frecuente es un cuadro de fiebre elevada (de 7 a 21 días) y autolimitada con cefalea, aunque puede desarrollarse también como una neumonía de características clínicas y radiológicas atípicas, o miocarditis. La forma crónica de fiebre Q son infrecuentes, y aparece después de un episodio agudo.

El diagnóstico para fiebre Q puede ser de manera directa o indirecta. Las técnicas de detección directa son el cultivo (que solo se realiza en laboratorios de alta bioseguridad), y la detección de DNA bacteriano por PCR. Las técnicas indirectas son las más usadas, siendo el método de referencia las técnicas serológicas por Inmunofluorescencia (Brooks G., 2013; Herrero J., 2010; Soler A., 2018)

11.2.3. *Anaplasma* y *Ehrlichia*

Con los términos ehrlichiosis y anaplasmosis denominamos a un grupo de infecciones bacterianas transmitidas por garrapatas duras (*Ixodidae*), que afectan a hombres y animales. Son de distribución universal y están causadas por diferentes especies de los géneros *Anaplasma*, *Ehrlichia*, y *Neorickettsia*. Taxonómicamente, pertenecen a la familia *Rickettsiaceae*. Son bacterias Gram negativos intracelulares estrictos; infectan leucocitos, eritrocitos y plaquetas circulantes, donde se multiplican dentro de las vacuolas fagocíticas, que forman cúmulos con una imagen similar a cuerpos de inclusión (Blanco J., 2008; Brooks G., 2013).

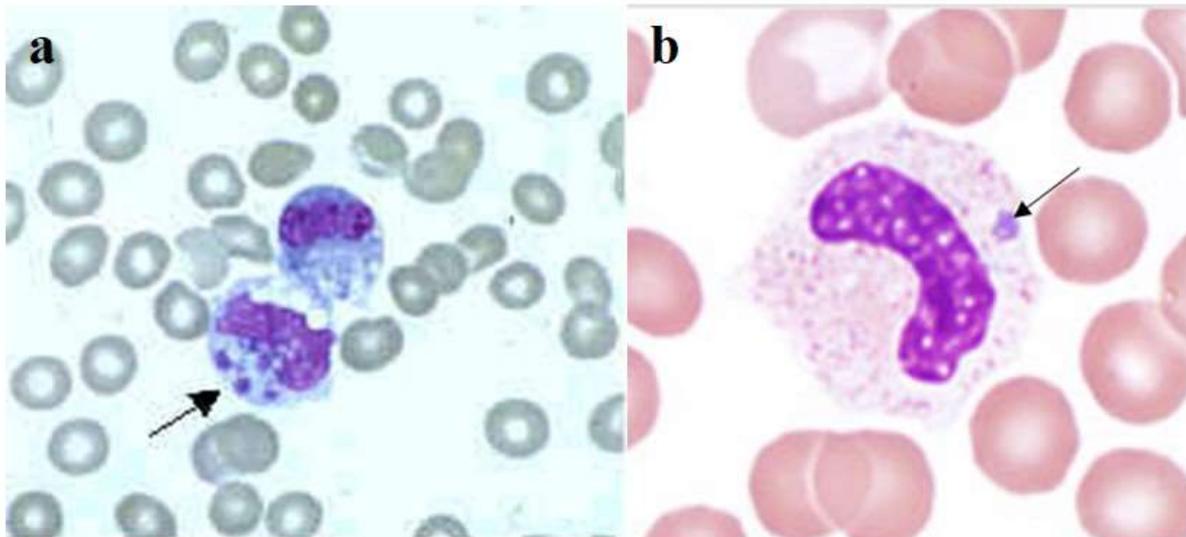


Figura 32. Células infectadas por *Ehrlichia* y *Anaplasma*.
a) Célula infectada por *Ehrlichia chaffeensis*; b) Célula infectada por *Anaplasma phagocytophilum*.

Obtenido de: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/IN1327>

No se conoce con exactitud la fisiopatología de las ehrlichiosis y anaplasmosis. Al igual que en otras enfermedades transmitidas por garrapatas, estos microorganismos llegan a la sangre tras la picadura de una garrapata. Desde allí infectan a los leucocitos circulantes y a las células del sistema reticuloendotelial. Estos microorganismos penetran en el interior de las células por fagocitosis. Una vez en el interior es posible que inhiban la fusión fagolisosoma y retrasen la apoptosis celular, facilitando la multiplicación de las bacterias. Una característica de las diferentes especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma* es que

se aglomeran en el citoplasma formando unas inclusiones que se pueden observar al microscopio óptico, denominadas mórulas. Estas mórulas se forman a los pocos días, y pueden ser observadas fundamentalmente en sangre periférica, pero también en médula ósea, sinusoides hepáticos y esplénicos, e incluso en las células del LCR. La afinidad de las diferentes especies de este tipo de bacterias por sus células diana es la responsable de las citopenias observadas (leucopenia, trombocitopenia) que en ocasiones pueden provocar grados importantes de inmunodepresión. Este hecho facilita la aparición ocasional de infecciones oportunistas.

La anaplasmosis granulocítica humana, y la ehrlichiosis monocitotrópica humana, son enfermedades febriles agudas. El periodo de incubación varía entre 5 y 21 días. Los pacientes presentan un cuadro febril, malestar general, cefalea, mialgias y artralgias, anorexia y pérdida de peso. Además pueden existir otras manifestaciones clínicas: tos; náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y meningitis. La inmunodepresión (leucopenia) provocada en ocasiones se puede complicar con el desarrollo de infecciones oportunistas que pueden ser mortales (Brooks G., 2013; Oteo J., 2006).

Para el aislamiento de *Anaplasma* y *Ehrlichia* se debe obtener sangre durante la fase aguda de la enfermedad, que es cuando existe la mayor concentración de leucocitos infectados en sangre periférica. Para el diagnóstico de estos microorganismos las técnicas serológicas son las más usadas en el diagnóstico, siendo la más frecuente la inmunofluorescencia indirecta. Las técnicas moleculares muestran resultados discrepantes debido a la falta de estandarización, ya que son poco usados. Los hallazgos de laboratorio (trombocitopenia, leucopenia y aumento de las transaminasas) y los antecedentes epidemiológicos nos deben hacer sospechar esta posibilidad (Oteo J., 2006).

11.3. *Chlamydia*

Los microorganismos del género *Chlamydia* son bacterias que se replican sólo en las células debido a la deficiencia de producir ATP; carecen de peptidoglucano en su pared celular; aunque contienen los genes necesarios para la síntesis de este. Existen tres especies que causan enfermedad en humanos, *Chlamydia trachomatis* es la más común

como causa de infecciones genitales y conjuntivitis; *Chlamydia pneumoniae* y *Chlamydia psittaci* son patógenos respiratorios.

Las clamidias comparten un ciclo bifásico común. La partícula infecciosa en el ambiente se llama cuerpo elemental (EB), de aproximadamente 0.3 μm de diámetro; llevando un nucleoide electrodenso. Los EB tienen gran afinidad por las células epiteliales del hospedador y penetran en ellas con rapidez. Generalmente se observan adheridos cerca de la base de las microvellosidades, donde entran por fagocitosis o endocitosis mediada por receptores a la célula hospedadora, formando una vacuola inhibiendo la fusión lisosómica. Los EB son inertes desde el punto de vista metabólico; no consumen energía ni sintetizan proteínas. El ciclo inicia cuando el cuerpo elemental se une a un receptor desconocido en la membrana plasmática de las células susceptibles. Al entrar en la célula hospedadora, los puentes disulfuro de las proteínas de la membrana de los EB ya no tiene enlaces cruzados y este se reorganiza para formar una estructura más grande llamado cuerpo reticulado (RB); que mide alrededor de 0.5 a 1 μm y carece de nucleoide electrodenso. Dentro de la vacuola limitada por la membrana, el RB crece y se divide en repetidas ocasiones por fisión binaria creando nuevos EB, que después abandonaran la célula hospedadora para infectar otras células (Gaitan D., 2008; Geijo M., 2010).

Las infecciones por *C. trachomatis* no producen protección fiable contra la reinfección, aunque hay evidencia de que la IgA secretora puede conferir inmunidad al menos parcial contra la reinfección del aparato genital. Cualquier protección específica para una cepa puede ser de corta duración. La producción local de anticuerpos, junto con los linfocitos CD4+ de tipo TH1 que circulan hacia la mucosa genital pueden en conjunto participar en la mitigación de infecciones más agudas.

Los métodos de detección de antígeno son la inmunofluorescencia y la inmunohistoquímica; utilizan anticuerpos monoclonales contra lipopolisacárido (tienen reacciones cruzadas con otras clamidias o contra la proteína MOMP (más específicas para *C. trachomatis*). Se llevan a cabo solo en laboratorios de investigación y referencia. En la clínica habitual el diagnóstico de infección aguda, sobre todo en *C. pneumoniae*, se hace por pruebas serológicas: la fijación del complemento (FC) no diferencia entre

clamidias y la técnica de ELISA no está estandarizada (Gaitan D., 2008; Geijo M., 2010; Ryan K., 2011).

11.4. *Mycoplasma* y *Ureaplasma*

Ureaplasma spp. y *Mycoplasma spp.*, pertenecen a la familia *Mycoplasmataceae*, orden *Mycoplasmatales* y a la clase *Mollicutes*, que significa “piel blanda” ya que está compuesta por microorganismos cuya característica principal es la ausencia de pared celular y presencia de esteroides en la membrana celular. Por la falta de pared celular, estas bacterias se tiñen mal o no se tiñen en lo absoluto con los colorantes bacterianos habituales (Geijo M., 2008; Liébana C., 2021).

Los micoplasmas son los microorganismos de vida libre más pequeños, tanto en tamaño celular (0,2-0,8 μm) como en tamaño de su genoma, siendo el más pequeño el de *M. genitalium* con solo 381 genes y 580 kb. Los micoplasmas adoptan formas pleomórficas. Algunos de ellos pueden pasar filtros de 45 μm , por lo que originalmente se pensó que eran virus. Sin embargo, estos microorganismos se dividen por fisión binaria, algunos de ellos pueden crecer en medios artificiales acelulares y contener RNA y DNA. Se comportan como aeróbicos opcionales (excepto *M. pneumoniae*, que es aeróbico estricto) y necesitan esteroides exógenos para crecer. Su tiempo de generación es alto, por lo que necesitan una incubación prolongada para ser detectados. El tamaño extremadamente pequeño (150-200 nm) y sus limitadas capacidades metabólicas y biosintéticas son responsables de muchas de las características biológicas de los organismos.

Hasta la fecha, *Ureaplasma spp.*, consta de 14 variantes serológicas que podrían dividirse en dos especies, *Ureaplasma parvum* (UPA) y *Ureaplasma urealyticum* (UUR), basado en respuestas de crecimiento diferencial al manganeso, secuencias de genes de RNAr 16S, región intergénica de RNAr 16Se23S, gen de ureasa y diferencias en los genes del antígeno de bandas múltiples (MBA) (Liébana C., 2021).

Tabla 11.1. Especies de *Mycoplasma spp* y de *Ureaplasma spp.*, con interés clínico. Adaptado de Liébana, C, (2021).

Especie	Localización	Metabolismo	Clasificación
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Tracto respiratorio. Rara vez en genitales	Glucosa	Patógeno
<i>M. salivarium</i>	Nasofaringe y orofaringe	Arginina	Comensal
<i>M. faucium</i>	Nasofaringe y orofaringe	Arginina	Comensal
<i>M. lipophilum</i>	Nasofaringe y orofaringe	Arginina	Comensal
<i>M. primatum</i>	Nasofaringe y orofaringe	Arginina	Comensal
<i>M. hominis</i>	Tracto genitourinario, tejidos, sangre.	Arginina	Patógeno
<i>M. genitalium</i>	Tracto genitourinario, tracto respiratorio.	Glucosa	Patógeno
<i>M. fermentans</i>	Tracto genitourinario, tejidos, sangre, orina.	Glucosa, arginina	Oportunista
<i>M. spermatophilum</i>	Tracto genitourinario	Arginina	Desconocido
<i>M. pirum</i>	Rara vez sangre periférica (personas con HIV)	Glucosa, arginina	Desconocido
<i>M. penetrans</i>	Tracto genitourinario, orina.	Glucosa, arginina	Oportunista
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Orofaringe y tracto genitourinario	Urea	Patógeno
<i>U. parvum</i>	Orofaringe y tracto genitourinario	Urea	Patógeno

En humanos, se han aislado 14 especies, 12 pertenecen al género *Mycoplasma* y 2 especies del género *Ureaplasma*. Seis de las 14 especies tienen el tracto genitourinario como su principal lugar de colonización, por lo que se les conoce como micoplasmas genitales.

Entre las especies que se pueden encontrar en la orofarínge, *M. pneumoniae* es la única claramente relacionada con enfermedad en el tracto respiratorio superior e inferior. Se presenta de forma endémica en todo el mundo, y presentan una mayor frecuencia entre verano y principios de otoño. La traqueobronquitis es una manifestación clínica más común y la neumonía es la enfermedad clínicamente más importante asociada con las infecciones por *M. pneumoniae*. La infección por *M. pneumoniae* afecta la tráquea, bronquios, bronquiolos y tejidos peribronquiales y puede extenderse hacia los alvéolos y

paredes alveolares. Al inicio, el microorganismo se une a los cilios y microvellosidades de las células que recubren el epitelio bronquial. La unión está mediada por una proteína micoplásmica citadhesina (P1) que se une a los oligosacáridos complejos que contienen ácido siálico y que se encuentran en las regiones apicales de las células del epitelio bronquial. El microorganismo interfiere con la acción ciliar e inicia un proceso que conduce a la descamación de la mucosa afectada y más tarde a reacción inflamatoria y exudados (Geijo M., 2008; Liébana C., 2021).

La respuesta inmunitaria es inespecífica contra los glucolípidos de la membrana externa del microorganismo, lo cual puede ser nocivo para el hospedador. Las reinfecciones por esta bacteria son bastante comunes porque la inmunidad natural a los microorganismos es de corta duración, lo que puede conducir a una eliminación deficiente del patógeno y, en casos, a un estado de portador.

M. genitalium y *M. hominis* causan entre el 10 % y el 30 % de las enfermedades genitourinarias principalmente en uretritis no gonocócicas. La infección del tracto urinario por ureaplasma también se ha evaluado principalmente en mujeres embarazadas y su aislamiento en el primer trimestre del embarazo se ha relacionado con el desarrollo de preeclampsia en el tercer trimestre.

El hecho de que los micoplasmas genitales formen parte de la microbiota urogenital pone en duda su papel en la infertilidad. Algunas de estas infecciones pueden ser paucisintomáticas o asintomáticas, pero las infecciones agudas como las infecciones crónicas pueden comprometer la espermatogénesis (Liébana C., 2021).

Referencias.

- Blanco, J., Jado, I., Marín, M., Sanfeliu, I., Portillo, A., Anda, P., Pons, I., Oteo, J., (2008). Diagnóstico microbiológico de las infecciones por patógenos bacterianos emergentes: Anaplasma, Bartonella, Rickettsia, Tropheryma whipplei. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 26(9):573-80 Disponible en: <https://bit.ly/3yYaOqq>
- Brooks, G., Carrol, K., Butel, J., Morse, S., Mietzner, T., (2013). *Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill
- Gaitán, D., Espinoza, A., Rodríguez, M., (2018). Leptospirosis. Síndromes clínicos. *Medicine*. 12(59):3447-57. Disponible en: <https://bit.ly/3sYwgYl>
- Garcia del Valle, M., Martínez, E., (2018). Infecciones producidas por borrelias: enfermedad de Lyme y fiebres recurrentes. *Medicine*. 12(59):3458-64 Disponible en: <https://bit.ly/3lLsrCa>
- Geijo, M., Bermejo, E., García, A., (2010). Infecciones por Mycoplasma y Chlamydia. *Medicine*. 10(56):3837-46. Disponible en: <https://bit.ly/3LNvK1q>
- Hellín, S. (2002). Infecciones por espiroquetas. *Medicine*. 8(69): 3679-3687 Disponible en: <https://bit.ly/3MQMI5e>
- Herrero, J., García, E., Hernández, A., Gómez, J. (2010). Infecciones por Rickettsia y Fiebre Q. *Medicine*. 10(57):38811-8. Disponible en: <https://bit.ly/3MNYKwb>
- Liébana, C. (2021). *Mycoplasma and Ureaplasma. Encyclopedia of Infection and Immunity*. Biomedical Sciences. Elsevier. Disponible en: <https://bit.ly/3MJq59v>
- Martín, C., Pascua, J., (2006). Infecciones por espiroquetas. *Medicine*. 9(55): 3563-3570 Disponible en: <https://bit.ly/3NEkBWG>
- Oteo, J., Brouqui, P., (2006). Ehrlichiosis y anaplasmosis humana. *Enfermedades Infecciosas y Química Clínica*. 3(6):375-80. Disponible en: <https://bit.ly/3wRRxo8>
- Ryan K., Ray G., (2011). *Sherris. Microbiología Médica*. México. Mc Graw Hill

- Santamaría, C., Reyes, U., Reyes, K., López, G., López, A., Quero, A., Reyes, D., Calderón, A., Matos, L., (2018). Rickettsiosis conceptos básicos. *Revista Médico-Científica de la Secretaría de Salud Jalisco*. 113-121. Disponible en: <https://bit.ly/3PJgISj>
- Soler, A., Corrales, M., Martín, A., Díaz, A., (2018). Neumonías bacterianas no neumocócicas (I). Infecciones por Legionella. Fiebre Q. Otras. *Medicine*. 12(54):3175-85 Disponible en: <https://bit.ly/3z1AJxA>

Anexo 1. Principales Medios de Cultivo

Medio de Cultivo	Fundamento
 <p data-bbox="358 621 540 653">Agar Sangre.</p>	<p data-bbox="688 380 1385 558">Medio enriquecido suplementado con 5 % de sangre de carnero que permite detectar reacciones hemolíticas y aporta el factor X necesario para el crecimiento de numerosas especies patogénicas.</p> <p data-bbox="688 579 1385 856">El medio de cultivo agar sangre ovina proporciona el crecimiento de la gran mayoría de las bacterias Gram positivas y Gram negativas así como de hongos (mohos y levaduras), a partir de una base rica y complementada, ofreciendo óptimas condiciones de desarrollo para microorganismos no fastidiosos.</p>
 <p data-bbox="342 1115 560 1146">Agar Chocolate</p>	<p data-bbox="688 884 1385 1314">Agar Chocolate consiste en un medio enriquecido con complemento X (Hemina) y V (NADP) de tal forma que favorece el crecimiento de diversos patógenos fastidiosos como <i>Haemophilus spp.</i> y <i>Neisseria spp.</i>, aislados de muestras clínicas estériles (LCR, aspirados, sangre, secreciones) entre otros. Es un medio enriquecido donde puede crecer la mayoría de las bacterias Gram positivas y Gram negativas así como los hongos.</p>
 <p data-bbox="331 1591 568 1623">Agar MacConkey</p>	<p data-bbox="688 1339 1385 1717">Medio de diferenciación selectivo para el aislamiento y la diferenciación de <i>Enterobacteriaceae</i> y otros bacilos Gram negativos a partir de muestras clínicas. El agar MacConkey es selectivo, dado que la concentración de sales biliares inhibe los microorganismos Gram positivos (enterococos y estafilococos). Mejora la inhibición del agrupamiento dinámico de la especie <i>Proteus</i>,</p>

 <p>Agar Thayer Martin</p>	<p>Medio selectivo que permite el crecimiento de Neisserias patógenas. Este medio de cultivo es ampliamente nutritivo por la presencia de Agar Base GC, hemoglobina y el suplemento de enriquecimiento Britalex. Es selectivo para la recuperación de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> y <i>Neisseria meningitidis</i></p>
 <p>Agar CLED</p>	<p>Medio de cultivo diferencial para aislar y contar las bacterias presentes en la orina. Favorece el crecimiento de los patógenos y contaminantes urinarios aunque, debido a la ausencia de electrolitos, impide la indebida proliferación de especies de <i>Proteus</i>.</p>
 <p>Agar TCBS</p>	<p>El agar tiosulfato citrato bilis sacarosa es un medio selectivo de diferenciación para el aislamiento y cultivo de <i>Vibrio cholerae</i> y otras especies <i>Vibrio</i> a partir de muestras clínicas y de otras clases.</p>
 <p>Agar EMB</p>	<p>Medio ligeramente selectivo y de diferenciación para el aislamiento y la diferenciación de bacilos Gram negativos entéricos (<i>Enterobacteriaceae</i> y diversos otros bacilos Gram negativos) a partir de muestras clínicas. Los coliformes producen colonias de color negro azulado, mientras que las colonias de <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> son incoloras o de color ámbar transparente. Las colonias de <i>Escherichia coli</i> pueden exhibir un brillo verde metálico característico debido a la rápida fermentación de la lactosa</p>

 <p style="text-align: center;">Agar SS</p>	<p>Medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento de bacilos entéricos patógenos. Se le considera un medio moderadamente selectivo según el nivel de inhibición de los microorganismos Gram positivos y <i>Enterobacteriaceae</i> diferentes de <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i>, que inhibe por contenido de sales biliares, verde brillante y citratos.</p>
 <p style="text-align: center;">Caldo Tetrionato</p>	<p>Medio de cultivo utilizado para el enriquecimiento selectivo de <i>Salmonella spp.</i> a partir de heces, alimentos y otros materiales de importancia sanitaria. La selectividad está dada por la presencia de sales biliares y tetrionato (compuesto generado en el medio de cultivo al reaccionar el tiosulfato de sodio con la solución iodo-iodurada) que inhiben el desarrollo de microorganismos Gram positivos y algunas enterobacterias.</p>
 <p style="text-align: center;">Agar CPSE</p>	<p>Este medio de cultivo cromogénico fue diseñado para el aislamiento, enumeración e identificación directa de <i>E. coli</i>, <i>Proteus</i> y <i>Enterococci</i> y <i>Klebsiella</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Serratia</i>, <i>Citrobacter</i> en un solo paso utilizando muestras de orina y otras muestras clínicas.</p>
 <p style="text-align: center;">Agar Lowenstein Jensen</p>	<p>Los nutrientes de este medio de cultivo constituyen un rico soporte para el crecimiento de una gran variedad de micobacterias excepto <i>Mycobacterium leprae</i>. El verde de malaquita inhibe el desarrollo de la flora acompañante Gram positiva y de algunas bacterias Gram negativas. La glicerina estimula el crecimiento de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, aunque gran parte de <i>Mycobacterium bovis</i> es inhibido.</p>

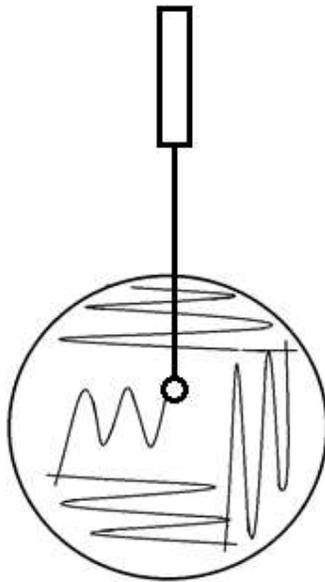
Anexo 2. Técnicas de Sembrado más comunes.

Sembrar o inocular es introducir una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado de cultivo, con el fin de obtener un cultivo microbiano. La siembra puede realizarse en medio líquido, sólido o semisólido, utilizando asa bacteriológica o bien hisopo o pipeta estéril.

Para llevar a cabo un correcto sembrado es necesario mantener una zona estéril, lo que normalmente se logra con el uso de un mechero y mantenerse dentro de un radio de 15 cm, alrededor de la llama.

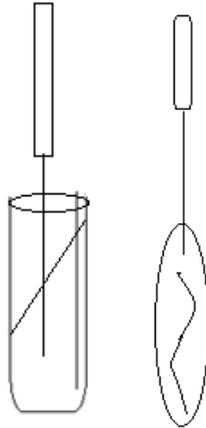
NOTA: Para evitar contaminar una muestra (o en el caso de purificación de cepas mezclar dos microorganismos), se debe de flamear el asa bacteriológica y dejar enfriar antes de tomar la muestra o colonia bacteriana (al aire cerca de la flama del mechero o tocando la orilla del medio de cultivo sólido).

Técnica de sembrado por estriado americano.



Para este caso entre cada una de las estrías es necesario flamear el asa bacteriológica para tener una mejor separación colonial.

Técnica de sembrado en tubo inclinado



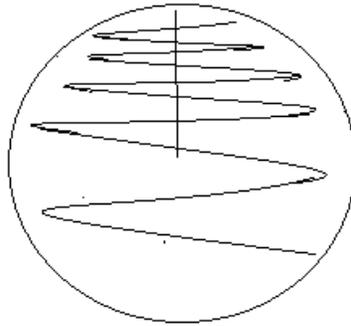
Para la correcta inoculación en un medio sólido en tubo inclinado, se debe de usar el asa bacteriológica recta. Primero se tomará una colonia y se inoculara de manera vertical picando el agar pero sin llegar al fondo del tubo. Posteriormente se realizará una estría simple en la parte inclinada del tubo.

Técnica de sembrado en medio semisólido.



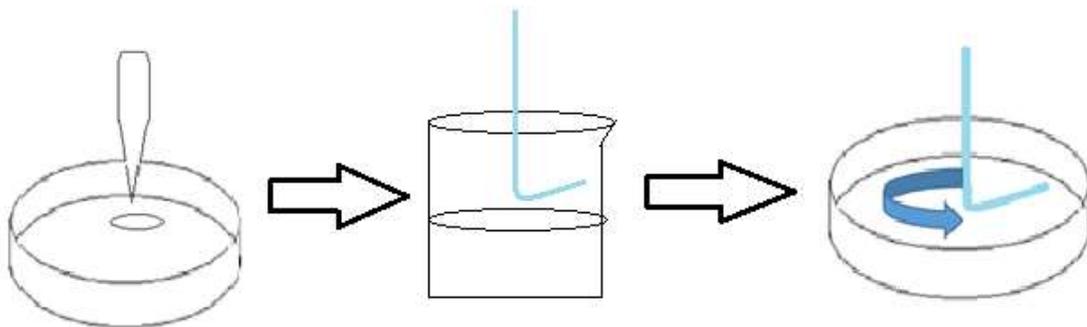
Los medios semisólidos son inoculados con el asa bacteriológica recta. Se toma la colonia y se inocula de manera vertical sin tocar el fondo, tratando de salir en la misma dirección que se inoculo, esto para evidenciar la movilidad bacteriana.

Sembrado por agotamiento en líneas paralelas.



En esta técnica de sembrado se toma la muestra con el asa bacteriológica (generalmente asa calibrada), y se inocula en una pequeña línea de la periferia hacia el centro del agar. Posteriormente se esteriliza el asa y se hace una distribución en líneas paralelas a través de la superficie del agar abriendo el espacio entre cada línea para una mejor separación.

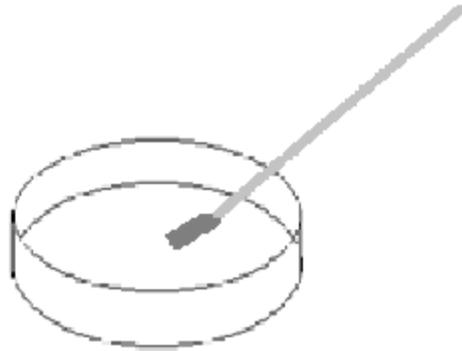
Sembrado por extensión con varilla de vidrio



Para el caso del sembrado por extensión con varilla de vidrio, primero se coloca la una muestra líquida o una dilución de la misma (para parámetros semicuantitativos). Posteriormente la varilla se mete a una solución de etanol e inmediatamente se saca y

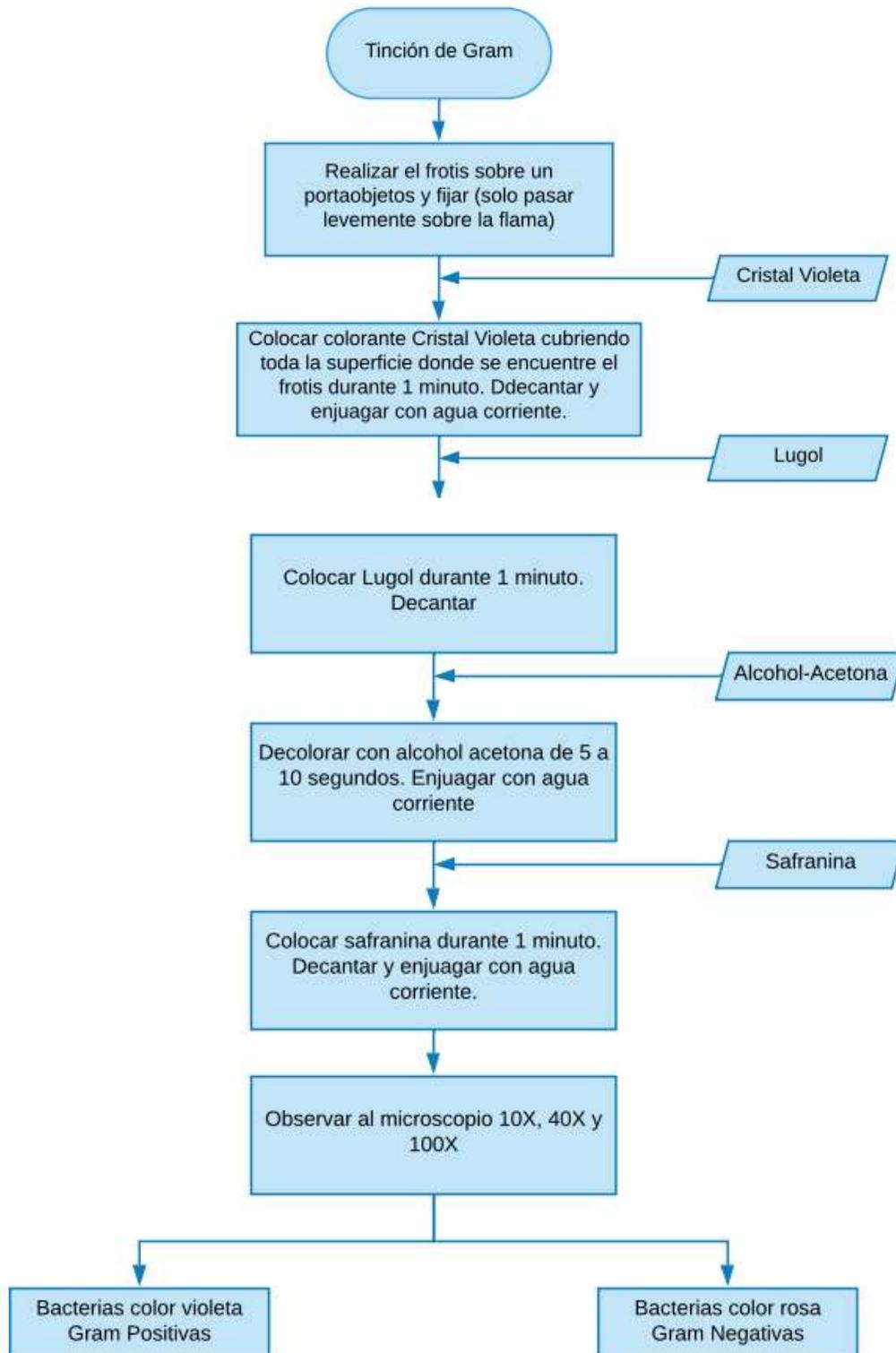
se flamea (quemando el alcohol que se encuentra en la varilla); se deja enfriar para posteriormente ponerla en contacto con la muestra en el agar y girar distribuyendo por toda la superficie.

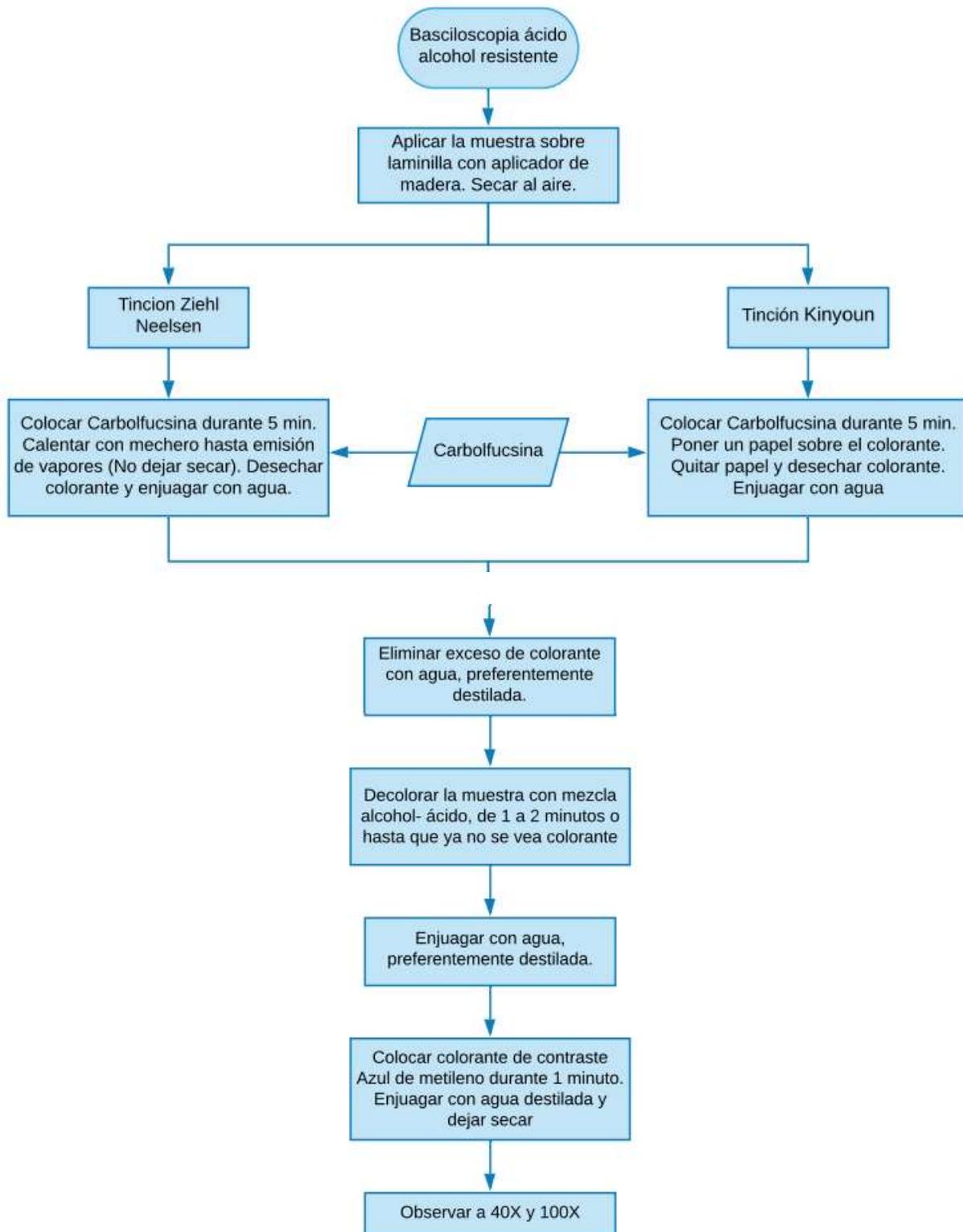
Sembrado masivo con hisopo



Para crear un “Césped bacteriano” para pruebas de sensibilidad a antibióticos, la mejor opción es un sembrado masivo usando un hisopo (algodón, dacrón, rayón, etc.) impregnado con la muestra y sembrarlo por toda la superficie del medio sin dejar espacio.

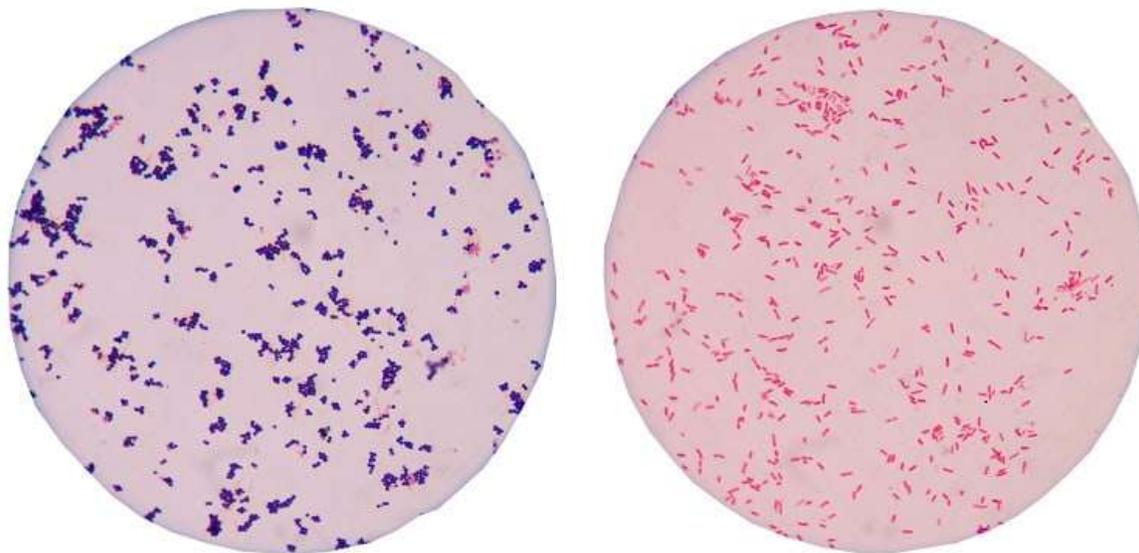
Anexo 3. Tinción de Gram, Baciloscopia ácido alcohol resistente y tinción negativa.



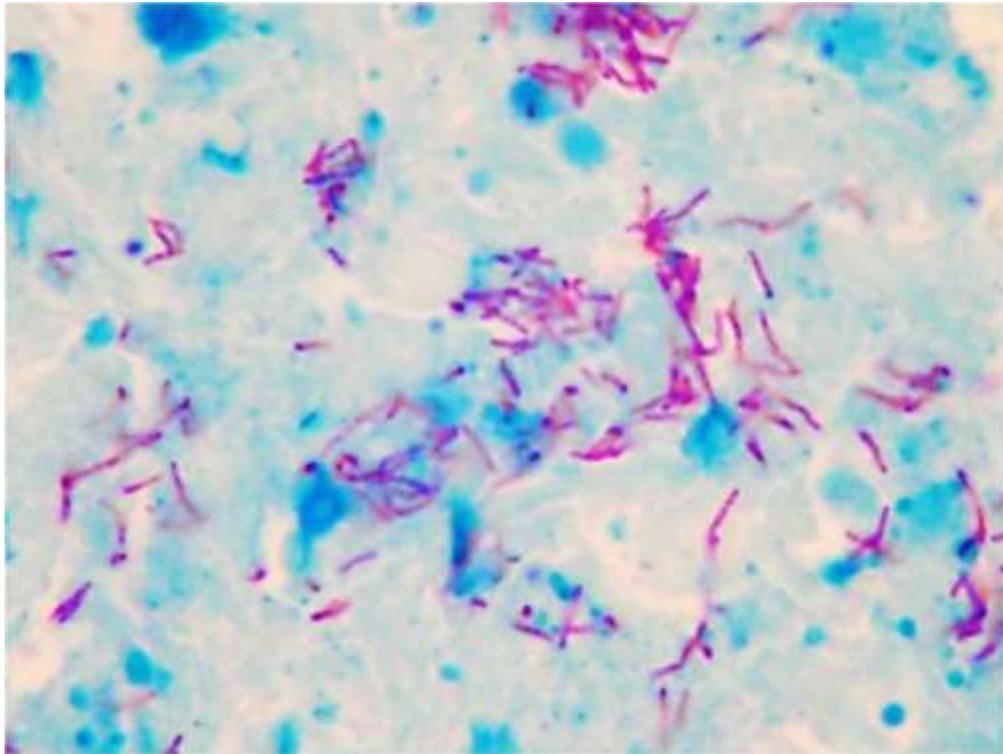




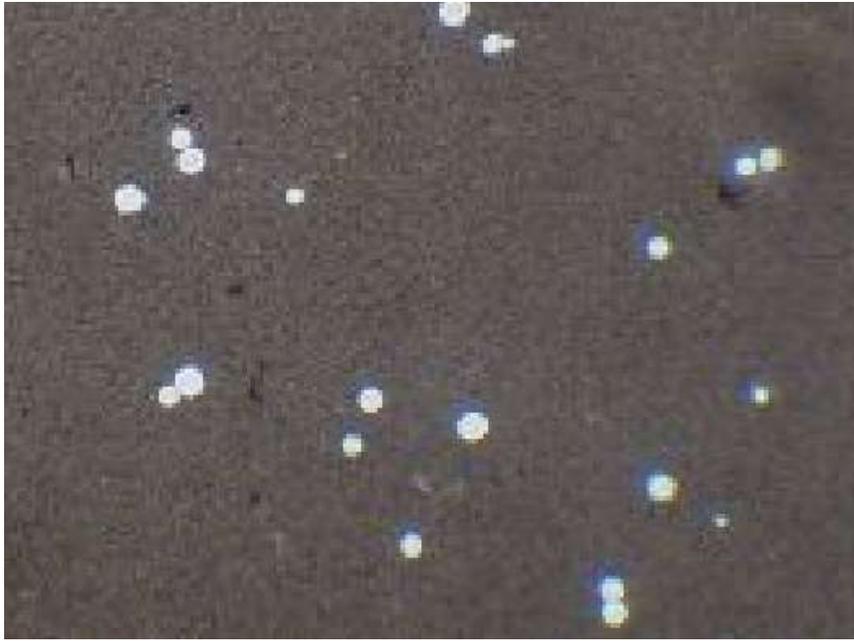
Ilustraciones.



Tinción de Gram. En la imagen de la derecha podemos observar microorganismos de características Gram Positivas y en la imagen de la izquierda se observan microorganismos Gram Negativos. Obtenido de: <https://diferencias.info/diferencia-entre-bacterias-gram-positivas-y-negativas/>



Baciloscopia positiva. Los bacilos se ven de un color violeta o rosado, mientras que el fondo se colorea de azul. Obtenido de: https://www.ibcrosario.com.ar/articulos/tuberculosis_2014.html

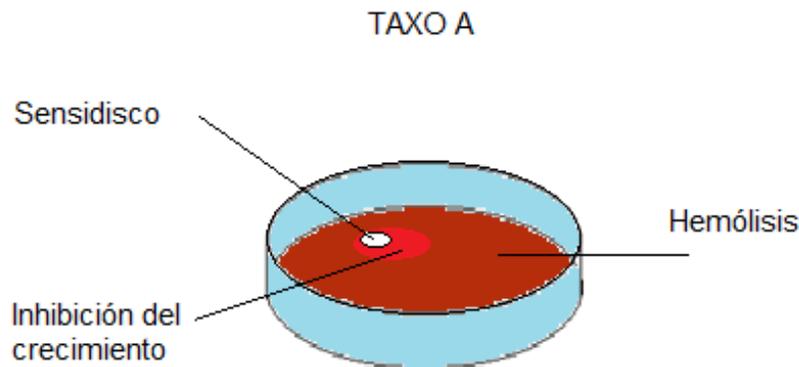


Tinción Negativa (Tinta china) positiva. Se observan los microorganismos capsulados. Obtenido de: <https://slidetodoc.com/preparaciones-microscopicas-y-observaciones-diversas-1-introduccion-a/>

Anexo 4. Taxo A y Taxo B. Diferenciación entre *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*.

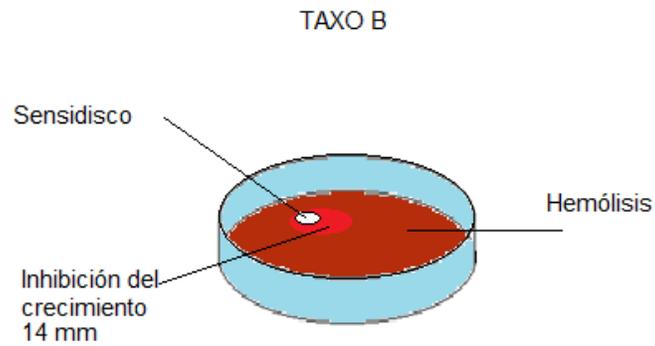
Taxo A: Prueba para la diferenciación de estreptococos beta hemolítico del grupo A de Lancefield (*S. pyogenes*). *Streptococcus pyogenes* es el principal agente etiológico de faringitis bacteriana y que en condiciones puede producir síndrome similar al shok tóxico, teniendo una letalidad hasta del 30 %.

La bacitracina es un antibiótico que inhibe la síntesis de pared celular bacteriana, y a la concentración que se encuentra en los discos (0,04 U) inhibe el crecimiento de los estreptococos beta hemolíticos del grupo A de Lancefield pero no inhibe el desarrollo de otros estreptococos beta hemolíticos. **Interpretación:** Observar si existe zona de inhibición del desarrollo microbiano alrededor del disco de Bacitracina 0,04 U, no importando el tamaño de la inhibición.



Taxo B: Prueba para diferenciación de *Streptococcus pneumoniae* de otras especies de estreptococos alfa hemolíticos. La infección por *Streptococcus pneumoniae* es una Infección que puede dar lugar a un amplio rango de manifestaciones, entre ellas, las más frecuentes son las infecciones del tracto respiratorio superior. Los casos más graves son: la neumonía neumocócica (NN), la enfermedad neumocócica invasora (ENI), la meningitis y la septicemia.

La optoquina inhibe el desarrollo de *Streptococcus pneumoniae* mientras que otros estreptococos no son inhibidos o presentan una zona pequeña de inhibición alrededor del disco. **Interpretación:** Observar si existe una inhibición del desarrollo microbiano, de al menos un diámetro mayor o igual a 14 mm.



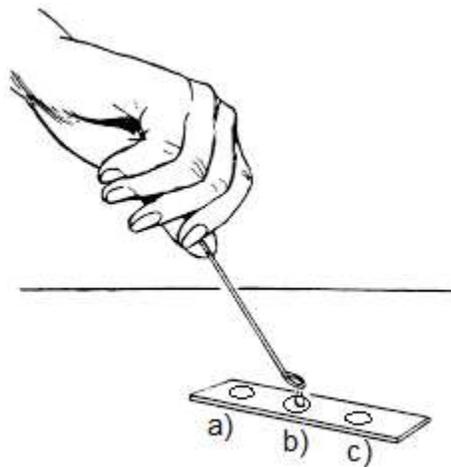
Anexo 5. Serotipos de *Vibrio cholerae*.

El cólera es una enfermedad es una infección diarreica causada por la ingesta de alimentos o aguas contaminadas con *Vibrio cholerae*.

El uso de antisueros es una de las metodologías más rápidos y específicos para el diagnóstico oportuno de *Vibrio cholera*. Existen dos serogrupos de este microorganismo que pueden provocar el cólera, el O1 y el O139, y los dos producen la enterotoxina colérica. El serogrupo O1 presenta 3 serotipos: Inaba, Ogawa y Hikojima.

Todos los cultivos sospechosos de cólera deberán de someterse a la prueba de aglutinación con el antisuero O1. Los aislamientos que no aglutinan con el antisuero polivalente al serogrupo O1 se probarán con el antisuero O139, si la reacción con el antisuero O1 o O139 es positiva, se identificará como presuntiva *V. cholerae* O1 u O139. Esta prueba se realiza en un portaobjetos o con una placa de vidrio, en la cual se colocan tres gotas de solución salina isotónica y a cada una se agregara una colonia bacteriana hasta disolverla totalmente donde:

- a) Agregue una gota del antisuero polivalente O1 y mezcle con la suspensión.
- b) La suspensión se queda como control.
- c) Agregue una gota del antisuero polivalente O139 y mezcle con la suspensión.



Aglutinación en portaobjetos para serotipificación de [Vibrio cholerae](#).

Obtenido de: <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/13098/1/Moneras%20y%20protistas.pdf>

Los cultivos de *V. cholerae* O1 positivo se someterán a confirmación mediante aglutinación con antisueros monovalentes Ogawa (Factor B) o Inaba (Factor C). Una reacción positiva con cualquiera de los antisueros Ogawa o Inaba es suficiente para confirmar la identificación de un aislamiento de *V. cholerae* O1, con frecuencia las cepas de un serotipo producen una aglutinación lenta o débil con el antisuero de otro serotipo. Por lo tanto, se deben analizar paralelamente las reacciones de aglutinación con ambos antisueros de Inaba y Ogawa; debiendo usarse la reacción más fuerte y más rápida para la identificación del serotipo. Para el caso de Hikojima, tendrá una reacción positiva con ambos antisueros (Positiva a factor B y C).

Anexo 6. Pruebas bioquímicas adicionales para *Haemophilus influenzae*.

Pruebas bioquímicas para *Haemophilus influenzae*

Prueba	Resultado
Catalasa	+
Factor de crecimiento X	+
Factor de crecimiento V	+
Requerimiento de CO ₂	+
Glucosa	+
Sacarosa	-
Lactosa	-
Manosa	-
Xilosa	+

Serotipos de *Haemophilus influenzae*.

Para determinar si una cepa de *Haemophilus influenzae* es capsulada, se debe de realizar una aglutinación en lámina. Primero se debe de realizar con un antisuero polivalente y posteriormente con los antisueros monovalentes “a” y “b”. El serotipo “b” es el más importante debido a su alta frecuencia y patogenicidad.



Aglutinación para definir serotipos. Obtenida de:

<https://www.cdc.gov/cholera/pdf/es/identificaci%C3%B3n-de-vibrio-cholerae-en-ellaboratorio-cap%C3%ADtulo-6.pdf>

Cuando no se presenta aglutinación se trata de una cepa no capsulada (*Haemophilus NO tipable*, HNT).

Biotipos de *Haemophilus influenzae*.

Para la diferenciación de los biotipos, se utilizan las pruebas bioquímicas de indol, ureasa y ornitina.

Prueba	Biotipo							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Ureasa	+	+	+	+	-	-	-	-
Indol	+	+	-	-	+	-	+	-
Ornitina	+	-	-	+	+	+	-	-

Anexo 7. Equipos de Hemocultivo.

BD BACTEC.

El instrumento BD BACTEC es un sistema automatizado para detectar la presencia de microorganismos en muestras clínicas. Los viales inoculados se colocan en las estaciones de viales del instrumento. Cuando se cierra la puerta se controla la actividad metabólica microbiana de los viales durante un periodo de tiempo mediante la medición de los niveles de fluorescencia desde un sensor especialmente diseñado que se encuentra situado en el vial. El subsistema de medida lleva a cabo este proceso. El subsistema de algoritmos analiza las señales del subsistema de medida para determinar si existen pruebas de crecimiento bacteriano. El subsistema de agitación realiza la agitación, que permite el crecimiento de los microorganismos. El subsistema de gestión de datos gestiona el almacenamiento y el análisis de la información.



BD BACTEC

Biomerieux BactAlert

El sistema BacT/ALERT® se basa en el hecho de que si hay microorganismos en la muestra de análisis, se genera dióxido de carbono a medida que los microorganismos

metabolizan los sustratos del medio de cultivo. Cuando el crecimiento de los microorganismos produce CO₂, el color del sensor presente en el fondo de cada frasco de cultivo cambia de color azul-verdoso a un color más claro. Un diodo emisor de luz (LED) proyecta luz sobre el sensor. Un fotodetector mide la luz reflejada. Cuanto más CO₂ se genera, mayor es la cantidad de luz reflejada. Esta información se compara con el nivel inicial de CO₂ del frasco. Si existe un contenido inicial de CO₂ elevado, una tasa de producción de CO₂ inusualmente alta o una producción sostenida de CO₂, determina que la muestra es positiva.

Una vez colocado un frasco de muestra en la unidad, no es necesario manipularlo hasta que se obtenga un resultado. Inmediatamente después de la detección, los resultados positivos se indican visualmente en el monitor de la unidad y, si se desea, por medio de una alarma sonora. Si no se detecta crecimiento microbiano después de un determinado periodo de tiempo, se admite que la muestra es negativa. El sistema también indicará las muestras negativas listas para su extracción cuando se solicite. Debido a que el sistema manipula los frascos de manera individual, se puede comenzar a analizar nuevas muestras en cualquier momento. El sistema también utiliza la tecnología de códigos de barras para facilitar el registro de muestras y datos.



Bact Alert 3D (Biomerieux). Obtenido de: <https://www.biomerieux.com.mx/microbiologia-industrial/bactalertr-3d>

Anexo 8. VITEK 2 y VITEK MS (Maldi Tof).

VITEK 2

VITEK 2 es un sistema que utiliza tarjetas con reactivos colorimétricos, las que son inoculadas con la suspensión de un cultivo puro microbiano y el perfil de desarrollo es interpretado de forma automática. Las tarjetas reactivas tienen 64 pozos que contienen, cada uno, un sustrato de prueba individual. Con estos sustratos se miden varias actividades metabólicas como acidificación, alcalinización, hidrólisis enzimáticas y desarrollo en presencia de sustancias inhibidoras. Las tarjetas están selladas en ambos lados por una película clara que evita el contacto entre las diferentes mezclas sustrato-microorganismo y a la vez permite la transmisión del nivel de oxígeno apropiada.

Estas tarjetas tienen códigos de barras que contienen información sobre el tipo de producto, número de lote, fecha de caducidad y un identificador único que puede ser ligado a la muestra ya sea antes o después de cargar la tarjeta al sistema. Existen 4 tipos de tarjetas reactivas disponibles para la identificación de diferentes clases de organismos:

1. GN – Bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores.
2. GP - Cocos y bacilos no formadores de esporas Gram positivos.
3. YST – Levaduras y organismos levaduriformes.
4. BCL – Bacilos formadores de esporas Gram positivos.

Primero se debe de realizar una suspensión bacteriana que vaya de 0.5 a 0.63 de MacFarland en un tubo con 3 mL de solución salina. Posteriormente se coloca el tubo de la tarjeta y se ingresa al equipo. Las muestras son transportadas a una cámara en la que se aplica vacío y en seguida se reintroduce nuevamente el aire, ésta acción hace que la suspensión bacteriana pase a través del tubo de transferencia hacia los microcanales que llenan todos los pozos.



VITEK 2 XL. Obtenido de https://www.biomerieux-usa.com/sites/subsidiary_us/files/18-vitek2-systembrochure_v2.pdf



Tarjetas para uso en VITEK 2. Obtenido de: <https://www.biomerieux-industry.com/products/vitek-2-compact-microbial-detection-system-pharma-applications>

Tecnología Maldi Tof y VITEK MS.

Este método denominado MALDI-MS (“Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Mass Spectrometry”) permite detectar moléculas en un amplio rango de masas moleculares. Este tipo de ionización se conoce como "soft-ionization" ya que permite ionizar biomoléculas, como péptidos y proteínas, sin ruptura durante el proceso. Existen en el mercado distintos analizadores acoplados a esta fuente de ionización pero es el TOF ("time of flight") el analizador más común.

El sistema VITEK® MS se basa en la espectrometría de masa, una técnica analítica que determina que composición elemental de una muestra. Es la última tecnología para identificación microbiana.

Para realizar una identificación, la muestra a analizar es mezclada con otro compuesto: la matriz.

Cuando la muestra es colocada en una placa metálica e irradiada con un láser, la matriz se vaporiza y la muestra gana una carga eléctrica, y el índice de relación masa/carga es medido.

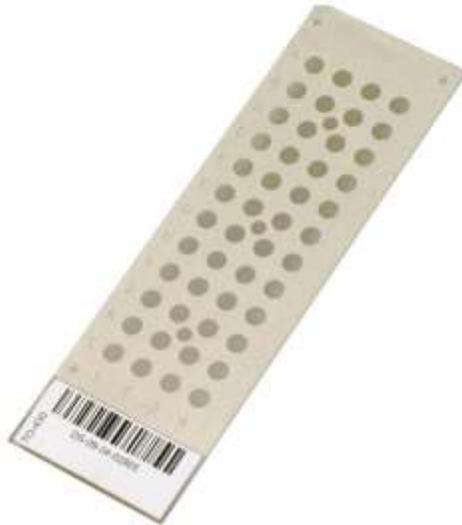
Para identificar los microorganismos el VITEK MS:

- Ioniza la muestra a la reacción del láser con la matriz
- Usa un campo eléctrico para acelerar los iones a través del mismo potencial
- Mide el tiempo que les toma llegar al otro detector – Tiempo de vuelo
- El espectro es enviado y comparado con una base de datos.

La cepa control que usa esta prueba es la cepa ATCC *E. coli* 8759CC, la cual dentro de la placa metálica lleva una posición específica.



VITEK MS. Obtenido de: <https://www.biomerieux.com.mx/microbiologia-industrial/vitek-ms>



Placa metálica de análisis para VITEK MS. Obtenida de:
<https://www.biomerieux.com.mx/microbiologia-industrial/vitekr-ms>

Anexo 9. Sistema API.

Los sistemas miniaturizados API® son métodos rápidos que permiten la identificación de microorganismos 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. Entre algunas de las pruebas bioquímicas que pueden realizarse con estos sistemas están las pruebas de fermentación de carbohidratos, la determinación de la producción de H₂S, la determinación de la hidrólisis de la gelatina, entre otras. En el mercado existe una variedad de galerías para ser utilizadas en la identificación de diferentes tipos de microorganismos, por ello aunque todos estos sistemas tienen el mismo fundamento, difieren en el número y tipo de pruebas que permiten realizar, ya que su selección está directamente relacionada con la actividad metabólica del género al que pertenece el microorganismo a identificar.

Cada microtubo del sistema debe inocularse con una suspensión en solución salina al 0,85 % 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.

TIPOS DE GALERIAS





API[®] 20 E
READING • LECTURE • INTERPRETATION

- **API 20E : BACILOS GRAM NEGATIVOS FERMENTADORES (Enterobacteriaceae): 108 especies**

API 20E	ONPG	ADH	LDH	ODC	[CIT]	H2S	URE	TDA	IND	[VP]	IGEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	
	+	-	+	-	+	-	+	*	-	-	*	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE PNEUMONIAE</i> ATCC 35837																					
API 20E	ONPG	ADH	LDH	ODC	[CIT]	H2S	URE	TDA	IND	[VP]	IGEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	
	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>ENTEROBACTER CLOACAE</i> ATCC 13047																					

Sistema API Biomerieux. Obtenido de: <https://www.biomerieux.com.mx/diagnostico-clinico/productos/apir>