



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA



MANUAL DE PRÁCTICAS POR ANATOMÍA HUMANA PARA EL
MÓDULO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

STHEFANY LILIANA ORTEGA CORTÉS

ORIENTACIÓN BIOQUÍMICA CLÍNICA

CON APOYO DE: PROYECTO PAPIME PE 209012

DIRECTOR DE TESIS

M. EN C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

CD.MX. 2017



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.

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y más específicamente a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por darme la oportunidad de pertenecer a ella; ya que es un lugar de gran enseñanza donde nos preparamos para enfrentarnos al campo laboral y lo que esto conlleva, el cual es cada vez más competitivo; donde además pude adquirir diversas experiencias, así mismo me impulsó a lograr grandes cosas en mi vida y una de ellas es concluir mi carrera profesional.

De igual manera, quiero dar las gracias a mis profesores, personas de gran sabiduría y dedicación; así como transmitirme sus conocimientos que los ha regido, quienes se han esforzado con total constancia por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro ya que sin su apoyo esto no hubiera sido posible para lograr mis objetivos. En especial quiero reconocer a la Maestra Venecia por su tiempo compartido en beneficio de mi aprendizaje, lo cual fue de gran importancia para finalizar mi carrera.

Debo reconocer que no ha sido sencillo el proceso, pero gracias a las ganas de superarme y a la motivación de mis maestros en cada semestre he logrado importantes metas, como culminar el desarrollo de mi tesis con éxito y una afable titulación profesional.

También agradezco a mi director de tesis M. en C. Roberto Cruz González Meléndez por su experiencia, apoyo, conocimientos y paciencia mostrado para la realización del presente trabajo; así como su motivación para culminar mi titulación.

A mis sinodales Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz, Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez y Q.F.B. Alicia Cabrera Aguilar por sus comentarios y sugerencias.

Por último quiero reconocer el apoyo del proyecto PAPIIME PE 209012 por el financiamiento del presente manual.

Sthefany Lilitiana Ortega Cortés

DEDICATORIA

Quiero comenzar esta dedicatoria dándole gracias a **Dios** por todo lo que me ha brindado en la vida y por la fortaleza que me da para ser mejor cada día.

A mi mamá

Liliana Cortés ya que es una persona importante en mi vida, la cual siempre se ha preocupado por mí. Por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente sostenido a través del tiempo. También por brindarme valores, sus enseñanzas, las cuales aplicó cada día y que me han permitido ser una persona de bien.

Por tus esfuerzos impresionantes al ser padre y madre a la vez, lo cual no es algo sencillo que implica muchos sacrificios, pero gracias a la fortaleza y carácter que posees, lograste sacarme adelante. Además de motivarme constantemente para alcanzar mis metas y a enfrentar lo que la vida nos pone enfrente.

De igual manera tu ayuda fue fundamental para la culminación de mi tesis y aunque me demore un poco, creo que vale más tarde que nunca.

Eres mi mayor ejemplo y mi mejor amiga, te amo y te doy las gracias mamá.

A mi hijo

Santiago por llegar a mi vida y darme esa fuerza que necesitaba para poder terminar mi carrera profesional con la finalidad de poder darte lo mejor porque te lo mereces y pondré todas mis energías para sacarte adelante y ser mejor mamá cada día. Eres mi principal motivación.

Te amo hijo.

A mi familia

Ya que gracias a la valiosa ayuda de mi abuelita Gela, y mi tío Joel he logrado cumplir mis objetivos.

Sthefany Liliana Ortega Cortés

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
2. MARCO TEÓRICO	8
2.1 CONTROL DE CALIDAD	9
2.1.1 CONTROL INTERNO DE LA CALIDAD	9
2.1.2 CONTROL DE CALIDAD EXTERNO	9
2.1.3 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	10
2.2 BIOSEGURIDAD	11
2.3 RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO INFECCIOSOS	12
2.3.1 PROCESO DE MANEJO DE LOS RPBI	13
2.4 TOMA DE MUESTRAS	16
2.4.1 TRANSPORTE DE MUESTRAS	18
2.4.2 RECEPCIÓN DE MUESTRAS Y OBSERVACIONES PRELIMINARES	18
2.4.3 CRITERIOS PARA EL RECHAZO DE MUESTRAS	20
2.5 DERMATOFITOSIS	20
2.6 VÍAS RESPIRATORIAS: GARGANTA, INCLUYENDO NASOFARINGE, BUCOFARINGE Y AMÍGDALAS.	23
2.7 BOCA Y VÍAS RESPIRATORIAS SUPERIORES	25
2.8 OTITIS EXTERNA Y MEDIA	26
2.9 TRACTO GASTROINTESTINAL	26
2.10 INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO	27
2.10.1 COMPOSICIÓN DE LA ORINA	27
2.10.2 ANÁLISIS DE ORINA	28
2.11 SEPTICEMIA: BACTERIEMIA Y FUNGEMIA	29
2.12 MICROORGANISMOS NATIVOS Y PATÓGENOS DEL HOMBRE	29
2.13 ÓRGANOS Y SISTEMAS EN LOS QUE PRODUCEN ENFERMEDAD LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE	30
2.14 MÉTODOS DE CULTIVO DE USO RUTINARIO	33

2.14.1 TIPOS DE MEDIOS	36
2.14.2 IMPORTANCIA DE LOS CULTIVOS PUROS	38
2.15 AVANCES TECNOLÓGICOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	38
2.15.1 SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN API 20E	39
2.15.2 MEDIOS CROMOGÉNICOS	40
2.16 SIMULADORES O MODELOS ANATÓMICOS	41
2.17 CICLO DEL DIAGNÓSTICO	42
2.18 TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN Y LA COMUNICACIÓN (TIC)	43
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	47
4. HIPÓTESIS	48
5. OBJETIVOS	48
6. MATERIAL Y MÉTODOS	49
7. RESULTADOS	50
7.1 MANUAL DE PRÁCTICAS POR ANATOMÍA HUMANA PARA EL MÓDULO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA	50
7.2 VALIDACIÓN DEL MANUAL	605
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	613
9. CONCLUSIONES	616
10. PERSPECTIVAS	618
11. REFERENCIAS	619

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente el módulo de Microbiología Médica de la carrera de Q.F.B. cuenta con un manual de prácticas, en donde su enfoque de enseñanza es por taxonomía bacteriana.

Dicho manual, ha cumplido su cometido de proporcionar a los alumnos los conocimientos básicos para desempeñar diversas técnicas en el desarrollo de las prácticas. Sin embargo, se consideró un enfoque nuevo que facilite a los estudiantes la identificación y diagnóstico microbiológico de bacterias y hongos causantes de enfermedades infecciosas.

Cabe señalar que la tendencia actual en cuanto al diagnóstico microbiológico se enfoca a la enseñanza por órganos y sistemas del cuerpo humano; es decir, por anatomía humana. Por lo anterior, se optó por actualizar el manual vigente con la finalidad de mejorar y reforzar los conocimientos teóricos y prácticos de los alumnos de dicho módulo.

El manual con el nuevo enfoque por anatomía humana es una compilación de nueve prácticas, las cuales fueron realizadas con un formato diferente con marchas diagnósticas y fotografías originales mostrando detalladamente los pasos a seguir para llevar a cabo la toma de muestra correcta de fluidos biológicos.

La información aquí reunida tiene por finalidad principal orientar y facilitar el trabajo de profesores y alumnos. En el caso de los maestros, para elaborar prácticas de laboratorio más explícitas, dado que, es indispensable la descripción clara de los procedimientos de trabajo a fin de alcanzar los objetivos. Y para los estudiantes, en la ejecución correcta de las actividades de trabajo. Por ello es preciso, comprender la importancia de integrar los conocimientos previos, y de reforzar aquellos necesarios que permitan analizar el tema en estudio y su relación con lo cotidiano.

Por lo cual, es importante mencionar que en el manual de prácticas por anatomía humana se incluye el método tradicional, el cual se encuentra en el manual actual, y también el método moderno; este último, incluye los avances tecnológicos importantes como son: el uso de cepas ATCC, sistemas miniaturizados API 20, medios cromogénicos y el uso de simuladores anatómicos femenino y masculino, de modo que los alumnos adquieran los conocimientos y destrezas necesarias para desarrollar las técnicas que existen en la actualidad en microbiología y sus aplicaciones en la identificación y diagnóstico de las enfermedades infecciosas, esto con la finalidad de preparar cada vez mejor a los alumnos y sean capaces de desempeñar dichas funciones en el ámbito profesional.

Cabe destacar que se incorporaron conocimientos y habilidades sobre temas de control de calidad (etapas preanalítica, analítica y postanalítica), aspectos sobre bioseguridad en el laboratorio y manejo de residuos peligrosos biológico infecciosos, los cuales no habían sido contemplados anteriormente en el módulo de Microbiología Médica.

Con base en lo anterior, una vez conformado el manual de prácticas por anatomía humana, se digitalizó para darle un formato electrónico, el cual dará a los estudiantes la oportunidad de consultarlo en plataforma digital, además de contar con la opción de imprimir el manual en su totalidad, algunas prácticas o solo algunos apartados de las mismas, dependiendo de la utilidad o interés de cada alumno.

2. MARCO TEÓRICO

El módulo de Microbiología Médica se encuentra ubicado en el 9° semestre de la orientación de bioquímica clínica de la carrera de Q.F.B.

Para la elaboración del manual en dicho módulo con el nuevo enfoque por órganos y sistemas del cuerpo humano las prácticas se estructuraron de la siguiente manera:

- Piel y músculo esquelético: Aislamiento de hongos de uñas.
- Aparato gastrointestinal: Coprocultivo.
- Aparato respiratorio: Exudado ótico, Exudado nasofaríngeo y Exudado faríngeo.
- Aparato urogenital: Urocultivo, Exudado vaginal y Exudado uretral.
- Aparato circulatorio: Hemocultivo.

Cabe mencionar, que cada una de las prácticas antes mencionadas se realizaron a modo de guía práctica para el establecimiento del control de calidad, por lo cual se organizaron en etapa preanalítica, analítica y postanalítica. Esto, con la finalidad de ayudar al alumno a establecer un sistema eficaz de funcionamiento que garantice resultados analíticos fiables.

Por lo que, a continuación, encontraremos temas como son: control de calidad, bioseguridad, manejo y disposición final de RPBI los cuales son importantes ya que se integran por medidas y normas que tratan de preservar la seguridad y evitar que ocurran accidentes tanto del personal, alumnos, profesores, pacientes, visitantes, así como del medio ambiente, dado que en los estudios microbiológicos se utilizan muestras biológicas como son sangre y fluidos corporales que pueden provocar daño por su carácter potencialmente infeccioso y contaminante.

También se contempla la toma de muestras biológicas; así como, las enfermedades infecciosas producidas en los diferentes órganos y sistemas del cuerpo humano, los cuales son importantes para la elaboración del manual para que los alumnos adquieran los conocimientos fundamentales para el desarrollo adecuado del diagnóstico microbiológico, de modo que cuando se enfrenten a pacientes reales puedan apoyar al médico en la confirmación diagnóstica, además de la terapia antimicrobiana adecuada.

2.1 CONTROL DE CALIDAD

El Control de Calidad en el laboratorio clínico es un sistema diseñado para incrementar la probabilidad de que cada resultado reportado por el laboratorio sea válido y pueda ser utilizado con confianza por el médico para tomar una decisión diagnóstica o terapéutica. Los procedimientos de Control de Calidad (CC) funcionan detectando los errores analíticos, idealmente cualquier error suficientemente grande para invalidar la utilidad médica de los resultados de laboratorio debe ser detectado.

En la práctica, muchos procedimientos de CC operan introduciendo controles (materiales de muestras bien caracterizadas por ensayos previos) al proceso de ensayo del laboratorio y comparando los resultados de la prueba con el rango de valores esperado derivado del ensayo previo. ¹

A su vez el control de calidad se divide en:

- Control de calidad interno
- Control de calidad externo

2.1.1 CONTROL INTERNO DE LA CALIDAD

El CIC (control interno de la calidad) se basa principalmente en el análisis repetido de materiales de control que mimetizan a los especímenes biológicos, pero con una estabilidad mucho mayor. De los resultados obtenidos con estos materiales dependerá la aceptación o no de los resultados obtenidos con los sueros de los pacientes. También existen procedimientos para el control de los reactivos, los materiales de control, el material volumétrico, los equipos e instrumentos de uso general que determinan su validez. ²

2.1.2 CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

Tiene como objetivo principal conocer la comparación de los resultados analíticos de diferentes Laboratorios. En la actualidad existen 2 tipos de programas:

Programas de vigilancia o pruebas de eficacia, en las que gran número de laboratorios analizan las mismas muestras varias veces al año. ³

Programas de control de calidad regional, en los que un grupo de laboratorios de una Región emplea los mismos lotes de muestras control para su programa de calidad interno. Se analizan durante un período de aproximadamente un año y, los resultados son enviados semanal o mensualmente al suministrador de programa. Éste compara el valor medio y la SD con los otros laboratorios. ³

2.1.3 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

El progreso tecnológico y la sofisticación de los actuales procedimientos de medida han hecho del laboratorio clínico actual un elemento imprescindible en la práctica de la medicina. Por este motivo se ha generado la conciencia de conseguir mejorar el control de la calidad con el fin de garantizar la fiabilidad de los resultados, principal objetivo de un laboratorio clínico. ²

El aseguramiento de la calidad tiene como objetivo final garantizar la fiabilidad (exactitud y precisión) de las medidas que se realizan en el laboratorio e incide sobre todos y cada uno de los procesos que se desarrollan en el mismo de forma que la relevancia clínica del resultado –es decir, su contribución al diagnóstico, tratamiento o prevención de una enfermedad– quede siempre garantizada. Para ello es preciso disponer de todos los medios adecuados para reconocer posibles errores y aplicar, en su caso, las medidas correctoras necesarias. El aseguramiento de la calidad abarca las tres fases del laboratorio clínico: preanalítica, analítica y postanalítica, que incluye todos los procesos desde antes de la extracción de sangre hasta después de la entrega del resultado. ²

La *fase preanalítica* se refiere a todos los procesos previos a la medición. Esta fase incluye la solicitud de las pruebas, la preparación del paciente, la obtención de las muestras, la identificación de los especímenes y su transporte al laboratorio. El tiempo de llegada de la muestra al laboratorio es de gran importancia ya que del mismo depende el tiempo de entrega de los resultados. Por ello, debe controlarse de forma estricta indicando en el tubo, en caso necesario, la rapidez con que este debe llegar al laboratorio. ²

La *fase analítica* se refiere al proceso de observación o medición. Para la realización de un examen hematológico básico mediante analizador automatizado, esta fase incluye la calibración y el control diario del equipo, así como la realización de la medición propiamente dicha. La garantía de la calidad implica siempre el empleo de materiales de control apropiados propios o comerciales (calibradores y controles), la vigilancia de los reactivos y el mantenimiento de materiales e instrumentos. ²

La *fase postanalítica* se refiere a los procesos que tienen lugar una vez obtenidos los resultados e incluye, básicamente, una correcta revisión y distribución de los mismos. Los procesos propios de esta fase son la validación de los resultados, la emisión del informe, su entrega y el archivo de la copia correspondiente. La validación de los resultados consiste en comprobar si estos son conformes entre sí o con la clínica del paciente, y de ella pueden derivarse comprobaciones o repeticiones de pruebas y sugerencias para llevar a cabo nuevas pruebas que contribuyan a completar el diagnóstico. La revisión de los resultados incluye la validación del informe, comprobando que no existan errores de transcripción y procurando que la forma de expresarlos sea clara e inteligible. ²

2.2 BIOSEGURIDAD

Bioseguridad es un concepto amplio que implica una serie de medidas orientadas a proteger al personal que labora en instituciones de salud y a los pacientes, visitantes y al medio ambiente que pueden ser afectados como resultado de la actividad asistencial".⁴

Debe entenderse como una doctrina de comportamiento encaminada a lograr actitudes y conductas que disminuyan el riesgo del trabajador de la salud de adquirir infecciones en el medio laboral.⁴

Algunas medidas de protección para el personal de laboratorio se pueden observar en las figuras No. 1, 2, 3 y 4.^{5, 6, 7, 8}



Figura No. 1 Guantes de látex.⁵



Figura No. 2 Bata de laboratorio.⁶



Figura No. 3 Cubrebocas.⁷



Figura No. 4 Lentes de seguridad.⁸

2.3 RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO INFECCIOSOS

En 1995 se publicó en el diario oficial de la federación la primera norma para regular el manejo de los Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI). El objetivo primordial de esta norma fue el de proteger al personal de salud de los riesgos relacionados con el manejo de estos residuos, así como proteger el medio ambiente y a la población que pudiera estar en contacto con estos residuos dentro y fuera de las instituciones de atención médica. Con base en el conocimiento científico se realizaron las modificaciones a los criterios para la clasificación de los RPBI, asentados en la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.⁹



Figura No. 5 Logotipo de los RPBI.¹⁰

Además, es importante conocer el logotipo de los RPBI para poder identificarlo y tener precaución en su manejo y disposición final (figura No. 5).

Así, residuos que en el pasado fueron considerados peligrosos, ahora dejan de ser considerados como tales y pueden ser manejados como basura común.⁹

Esto trae consigo la disminución del gasto por el manejo de RPBI. Por lo anterior consideramos necesario y conveniente que el personal involucrado con el manejo de los RPBI, conozca estos cambios a fin de que realice el manejo adecuado de los mismos y proteja su salud.⁹

Para que un residuo sea considerado RPBI debe de contener agentes biológico-infecciosos. La norma señala como agente biológico-infeccioso «cualquier organismo que sea capaz de producir enfermedad. Para ello se requiere que el microorganismo tenga capacidad de producir daño, esté en una concentración suficiente, en un ambiente propicio, tenga una vía de entrada y estar en contacto con una persona susceptible».⁹

2.3.1 PROCESO DE MANEJO DE LOS RPBI

1) Identificación de los residuos

Los desechos deben de ser identificados inmediatamente después del procedimiento que los generó, en el sitio donde se originaron y por el personal que los generó, esta práctica evita la reclasificación de los desechos, disminuyendo los riesgos para el personal encargado de la recolección de los residuos. Para su correcta identificación y posterior envasado, la separación de los residuos se debe de realizar de acuerdo a su estado físico (líquido o sólido) y su tipo.⁹

2) Envasado de los residuos generados (figura No. 6):

Una vez que los residuos han sido identificados y separados de acuerdo al tipo y estado físico, estos deberán ser envasados de acuerdo al cuadro 1:

Cuadro 1. Tipo de residuos y envasado.

TIPO DE RESIDUOS	ESTADO FISICO	ENVASADO	COLOR
Punzocortantes: Agujas de jeringas desechables, navajas, lancetas, agujas de sutura, bisturís y estiletes de catéter. EXCEPTO MATERIAL DE VIDRIO ROTO DE LABORATORIO.	Sólidos	Recipientes rígidos de polipropileno	ROJO
Sangre líquida, y sus derivados excluyendo sangre seca.	Líquido	Recipiente hermético	ROJO
Fluidos corporales (líquidos: sinovial, pericárdico, pleural, cefalorraquídeo y peritoneal)	Líquido	Recipiente hermético	ROJO
Muestras para análisis de laboratorio excluyendo orina y excremento.	Líquido	Recipiente hermético	AMARILLO
No anatómicos: Materiales de curación empapados en sangre o líquidos corporales.	Sólidos	Bolsas de plástico	ROJO
Materiales desechables que contengan secreciones pulmonares de pacientes sospechosos de tuberculosis o sospecha/diagnóstico fiebres hemorrágicas.	Sólidos	Bolsas de plástico	ROJO
Materiales desechables usados para el cultivo de agentes infecciosos.	Sólidos	Bolsas de plástico	ROJO
Patológicos: (que no se encuentren en formol) Placentas, partes de tejido humano, partes del cuerpo.	Sólidos	Bolsas de plástico	AMARILLO

3) Almacenamiento temporal

Los RPBI deberán almacenarse en contenedores con tapa y permanecer cerrados todo el tiempo. No debe de haber residuos tirados en los alrededores de los contenedores. Es importante que el área de almacenamiento esté claramente señalizada y los contenedores claramente identificados según el tipo de residuo que contenga.

4) Recolección y transporte externo

Para disminuir riesgos, el personal encargado de la recolección de los residuos sólidos dentro del hospital debe de estar capacitado en su manejo y conocer ampliamente los riesgos que implica su trabajo.

5) Tratamiento

Las instituciones de salud, pueden realizar el tratamiento final de los residuos dentro de la misma unidad médica. La forma más limpia y barata es utilizando una autoclave, excepto para punzocortantes y partes de cuerpo.

6) Disposición final

Los RPBI que hayan sido tratados podrán disponerse en los camiones recolectores de basura común, mientras que los RPBI sin tratamiento deberán enviarse a empresas recolectoras autorizadas. ⁹



Figura No. 6 Recipientes para RPBI. ¹¹

2.4 TOMA DE MUESTRAS

La toma apropiada de una muestra para cultivo es posiblemente el paso más importante en la confirmación final de que un microorganismo es responsable de un proceso de enfermedad infecciosa (figuras No. 7 y 8). Una muestra mal tomada no sólo puede resultar en la recolección fallida de microorganismos importantes, sino también conducir a una terapia equivocada y aun dañina si el tratamiento es dirigido hacia un comensal o contaminante. ¹²



Figura No. 7 Toma de muestra de orina en recipiente estéril. ¹³



Figura No. 8 Toma de muestra sanguínea. ¹⁴

Las siguientes son consideraciones fundamentales en la toma de muestra:

1. La muestra debe ser de material del sitio real de infección, y tiene que ser tomada con el mínimo de contaminación de los tejidos, órganos o secreciones adyacentes.
2. Deben establecerse los momentos óptimos para la toma de muestras, a fin de contar con las mejores oportunidades de recuperación de microorganismos causantes de enfermedad. El conocimiento de la historia natural y de la fisiopatología del proceso de enfermedad infecciosa es importante para la determinación del momento óptimo de recolección de la muestra.
3. Debe obtenerse una cantidad de muestra suficiente para llevar a cabo las técnicas de cultivo solicitadas. Se deberían establecer directivas que indicarán en qué consiste un volumen suficiente de material para cultivo.

4. Para asegurar una óptima recolección de los microorganismos debe utilizarse una serie adecuada de dispositivos de recuperación, envases para muestras y medios de cultivo. Para la toma de la mayoría de las muestras deberán usarse recipientes estériles (figura No. 9).

También es importante que el recipiente esté construido de modo de facilitar la toma, particularmente si se requiere que el paciente obtenga su propia muestra.



Figura No. 9 Recipiente estéril para toma de muestra. ¹⁵

5. Siempre que sea posible, obtener los cultivos antes de la administración de antibióticos. La obtención de cultivos antes del uso de antibióticos es particularmente recomendada para la recuperación de microorganismos que por lo común son altamente susceptibles a antibióticos, como los estreptococos β -hemolíticos de muestras de garganta. ¹²
6. El recipiente de cultivo debe estar adecuadamente rotulado. Cada recipiente de cultivo debe de tener una etiqueta legible, con la siguiente información escrita mínima (figura No. 10):

- ✓ Nombre y apellido
- ✓ Número de identificación
- ✓ Fuente
- ✓ Médico
- ✓ Fecha/hora ¹²



Figura No. 10 Recipiente para muestra biológica. ¹⁶

2.4.1 TRANSPORTE DE MUESTRAS

El objetivo primario en el transporte de muestras de diagnóstico, ya sea dentro del hospital o clínica o externamente, por correo, a un laboratorio de referencia lejano, es mantener la muestra tan próxima a su estado original como sea posible, con deterioro mínimo y minimizando el riesgo que afrontan quienes transportan la muestra, mediante el uso de recipientes herméticamente cerrados (figura No. 11).

Deberán evitarse las condiciones ambientales adversas, como la exposición a calor o frío extremos, los rápidos cambios en la presión (durante el transporte aéreo), o el secado excesivo.¹²



Figura No. 11 Recipiente para transporte de muestras biológicas.¹⁷

2.4.2 RECEPCIÓN DE MUESTRAS Y OBSERVACIONES PRELIMINARES

En la mayoría de los laboratorios clínicos se cuenta con un área especialmente acondicionada para la recepción de muestras para cultivo (figura No. 12). El personal debería usar ropa protectora apropiada: guardapolvos de laboratorio, guantes de goma y, en algunas circunstancias, barbijos (cubre bocas). Antes, estas precauciones eran tomadas sólo con muestras que tenían etiquetas dañadas; sin embargo, como no es posible determinar si el paciente es portador de una enfermedad transmisible, o si una muestra dada puede contener patógenos altamente contagiosos, es prudente poner en práctica cuidados especiales en el manejo de todas las muestras.¹²



Figura No. 12 Área para la recepción de muestras biológicas. ¹⁸

El procesamiento de muestras incluye lo siguiente:

- 1) La entrada de datos esenciales en un libro de registro o en una terminal de computadora.
- 2) El examen visual, y la determinación de si se cumplen todos los criterios para la aceptación (figura No. 13).
- 3) Para ciertas muestras, el examen microscópico de extendidos directos montados o de extendidos teñidos, para establecer un diagnóstico presuntivo. ¹²



Figura No. 13 Observación de muestras. ¹⁹

Para tener como resultado un acertado diagnóstico microbiológico, se deben tener en cuenta aspectos importantes para realizar una correcta toma de muestra como son: consideraciones o indicaciones claras para el paciente, transporte para la conservación de la muestra hasta el lugar de estudio, recepción y observaciones preliminares y criterios para el rechazo de muestras, en caso de que esta no cumpla con las indicaciones requeridas.

2.4.3 CRITERIOS PARA EL RECHAZO DE MUESTRAS

Todos los laboratorios deben establecer criterios para el rechazo de muestras no adecuadas para cultivo. Cada formulario de pedido así como el rótulo de la muestra debe ser controlado para ver si incluye toda la información: nombre del paciente, número del hospital o el paciente externo, edad, sexo, dirección y localidad, nombre del médico, fuente de la muestra, día de toma de la muestra y procedimientos que se solicitan. Una breve historia clínica y un diagnóstico posible son otros elementos de información usualmente útiles. La información incompleta o inadecuada no es suficiente, per se, para rechazar una muestra. ¹²

Tipos de muestras o solicitudes de cultivos que pueden aparecer en una lista de rechazos y no deben ser procesados:

- Envío en un recipiente inadecuado, no estéril o indudablemente contaminado, en el cual se han derramado porciones de muestra. Cualquier recipiente con derrames que tenga una etiqueta indicando peligro biológico debería ser manipulado con extremo cuidado.
- Placas de cultivo que estén sobrecrecidas o secas.
- Muestras que estén obviamente contaminadas, como lo puede evidenciar la presencia de materiales extraños, como bario, tinturas coloreadas o compuestos químicos aceitosos. ¹²

Por otro lado, mencionaremos algunos agentes patógenos en el ser humano, así como las manifestaciones clínicas y las enfermedades infecciosas causadas por bacterias y hongos que son capaces de producir en las diversas regiones anatómicas del cuerpo humano, dependiendo del microorganismo del que se trate.

2.5 DERMATOFITOSIS

Los hongos que solo infectan tejido queratinizado superficial (piel, vello y uñas) causan micosis cutánea. Los más importantes son los dermatofitos, un grupo de casi 40 hongos interrelacionados que pertenecen a los tres géneros: *Microsporum* (figura No. 14), *Trichophyton* (figura No. 15) y *Epidermophyton* (figura No. 16). Los dermatofitos probablemente se restringen a la piel no viable, puesto que en su mayor parte son incapaces de crecer a 37 °C o en presencia de suero. Las dermatofitosis se encuentran entre las infecciones más prevalentes en el mundo. Aunque pueden ser persistentes y problemáticas, no son debilitantes ni ponen en riesgo la vida, pero anualmente se gastan millones de dólares en su tratamiento. ²⁰



Figura No. 14 *Microsporium gypseum*.²¹



Figura No. 15 *Trichophyton mentagrophytes*.²²



Figura No. 16 *Epidermophyton floccosum*.²³

Las infecciones por dermatofitos se inician en la piel después de un traumatismo y por contacto. Hay evidencia de que la susceptibilidad del huésped puede ser incrementada por la humedad, el calor, la química específica de la piel, la composición de la grasa y la transpiración, la edad joven, la exposición intensa y la predisposición genética. La incidencia es más alta en climas cálidos y húmedos, así como en condiciones de hacinamiento. El uso de calzado suministra calor y humedad, condiciones para la infección de los pies.²⁰

Tinea unguium (tiña de las uñas, onicomicosis) La infección de las uñas puede ser subsecuente a una *tinea pedis* prolongada. Con la invasión por hifas las uñas se vuelven amarillas, quebradizas, engrosadas y friables. Pueden estar afectadas una o más uñas de los pies.²⁰

Clasificación clínica de onicomycosis:

- a) Subungueal Distal-Lateral (figura No. 17).
- b) Blanca superficial (figura No. 17).
- c) Blanca proximal subungueal.
- d) Distrófica total.
- e) Endonyx.
- f) Paroniquia.

En la onicomycosis subungueal distal y lateral, la manifestación más importante es la hiperqueratosis subungueal. Las uñas son opacas, de color amarillento, café (marrón) o grisáceo, son friables y están erosionadas; los bordes dan la impresión de duplicarse. Puede haber engrosamiento (paquioniquia), despegamiento (onicólisis) y es rara la invasión de la lámina ungueal (onixis) y la paroniquia. La evolución es crónica con invasión lenta y progresiva. ²⁴

La onicomycosis blanca superficial o leuconiquia tricofítica predomina en el primer dedo del pie. Se caracteriza por pequeñas zonas de color blanco porcelana con superficie rugosa. Se origina por *T. mentagrophytes* var. *Interdigitale* o *T. rubrum*, pero también puede ser ocasionada por *Acremonium*, *Aspergillus* y *Fusarium*. En la forma subungueal blanca proximal está afectada la parte subungueal de la uña por debajo de la cutícula, es de color blanco y avanza con el crecimiento de la uña. Las dos formas anteriores pueden también ser de color negro (melanoniquia) y cuando la afección es total es frecuente la asociación con inmunosupresión.

En la variedad endonyx la afección es de la parte media y distal de la uña, ésta toma un aspecto laminar, sin afectarse tejido subungueal; se ha descrito por *T. soudanense* y *T. violaceum*. Cada día se observan con más frecuencia formas pigmentadas en las diferentes variedades clínicas, habitualmente causadas por *T. rubrum* y por varios hongos oportunistas.

En la forma distrófica total hay invasión de la lúnula, las uñas se rompen y desmoronan, tienen aspecto de madera carcomida y dejan un lecho engrosado que también puede quedar destruido. ²⁴



Figura No. 17 Onicomicosis a) subungueal distal; b) leuconiquia tricofitica. ²⁴

La terapéutica consiste en la eliminación completa de las estructuras epiteliales infectadas y muertas y la aplicación de una sustancia tópica antimicótica. Para prevenir la reinfección, el área debe mantenerse seca y evitar las fuentes de infección como mascotas infectadas o compartir las instalaciones de baño. ²⁰

2.6 VÍAS RESPIRATORIAS: GARGANTA, INCLUYENDO NASOFARINGE, BUCOFARINGE Y AMÍGDALAS.

Los micrococos figuran entre los organismos que se encuentran generalmente. *S. epidermidis* puede hallarse en la nasofaringe y en la zona amígdalina o tonsilar de niños después de la primera infancia. *S. aureus* es frecuente en la nasofaringe, la bucofaringe y las amígdalas. Estas últimas pueden contener micrococos anaerobios. Los estreptococos viridans existen casi siempre en la garganta. ²⁵

Diversos estreptococos hemolíticos, entre ellos *S. pyogenes*, pueden encontrarse en la nasofaringe y especialmente en la región tonsilar de individuos normales y sanos, pero en pequeño número. La enfermedad infecciosa de la garganta puede deberse a un número apreciable de microorganismos. ²⁵

La inmunización contra dos, por lo menos, de las bacterias patógenas más temibles, *Corynebacterium diphtheriae* y *Bordetella pertussis*, ha disminuido la frecuencia de las enfermedades asociadas en las zonas geográficas donde se dispone de esta protección. En muchas zonas geográficas, *S. pyogenes* sigue siendo la principal bacteria patógena de la enfermedad de la garganta. ²⁵

La importancia de una rápida detección e identificación de este microorganismo en un proceso patológico de la garganta tiene una importancia fundamental sobre la que nunca se insistirá bastante, ya que el tratamiento puede impedir las secuelas del dolor de garganta estreptocócico: fiebre reumática y glomerulonefritis aguda. *S. pneumoniae* no contribuye quizás en absoluto a los procesos patológicos de la garganta, pero el gran número de neumococos en la nasofaringe, la orofaringe o las amígdalas sugiere firmemente patología en las vías respiratorias inferiores (figura No. 18). Su presencia en esta ubicación puede también significar sinusitis y, con la persistencia de gran número, otitis media. *S. aureus* puede intervenir en diversos patológicos de la garganta. *P. aeruginosa* puede causar sinusitis, este organismo se ha hecho “famoso” como el principal agente de contaminación de los equipos de inhalación, diseminado en gran número por estas máquinas a presión en las vías respiratorias inferiores. ²⁵

Las lesiones candidiales pueden encontrarse en la garganta acompañando a diversos regímenes de drogas, así como en los pacientes con enfermedades debilitantes y neoplásicas y en los recién nacidos. ²⁵

La microflora nativa de los pasajes nasales y de las fosas nasales es más limitada que la de las regiones anatómicas adyacentes (figura No. 19). Las fosas nasales son el hábitat usual de los estafilococos. *S. epidermidis* y *S.aureus* se recuperan con frecuencia en este sitio. ²⁵

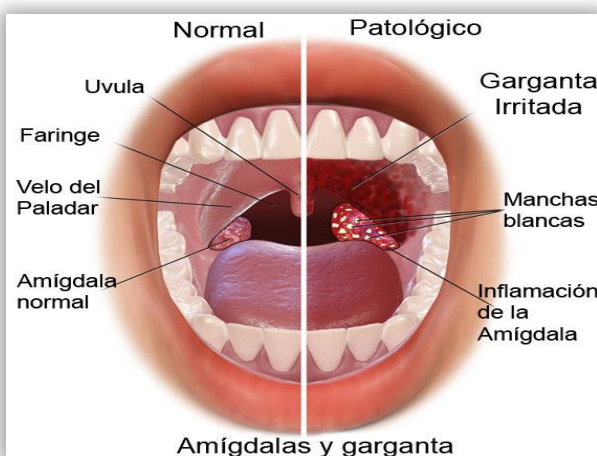


Figura No. 18 Garganta normal y patológica. ²⁶

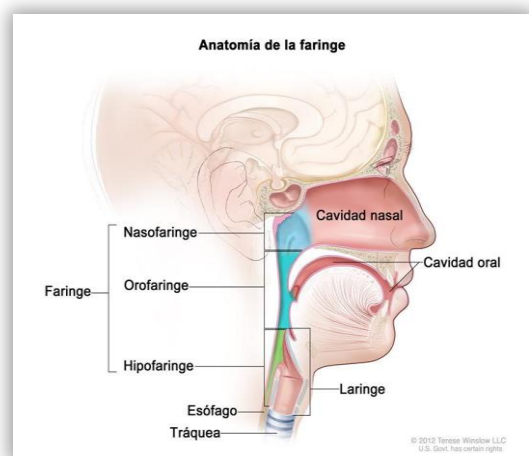


Figura No. 19 Anatomía de la faringe. ²⁷

2.7 BOCA Y VÍAS RESPIRATORIAS SUPERIORES

Las infecciones de boca y vías respiratorias superiores son comunes en todos los grupos de edades y son la causa de una gran proporción de las consultas de medicina general. La mayoría son de poca importancia, aunque algunas son enfermedades graves por sí mismas (por ejemplo, la difteria) y otras pueden dar origen a enfermedades graves por estímulo del sistema inmune del huésped (por ejemplo: fiebre reumática o glomerulonefritis aguda después de mal de garganta por estreptococos) o ser indicio de la presencia de algunas situaciones graves subyacentes (por ejemplo: candidiasis en paciente inmunosuprimido).²⁸

La fiebre reumática es una reacción de hipersensibilidad iniciada por componentes proteínicos y polisacáridos de la pared celular de *S. pyogenes*, los anticuerpos formados experimentan reacción cruzada con antígenos en miocardio y endocardio, especialmente el endocardio valvular.²⁹

La glomerulonefritis aguda es otro resultado de una reacción de hipersensibilidad que se presenta después de la infección por *S. pyogenes*; sin embargo, ésta difiere de la fiebre reumática en que la infección inicial con frecuencia ocurre en la piel (impétigo) y no en la garganta, y en que intervienen grupos Griffith específicos de *S. pyogenes* (especialmente el tipo 12 en la garganta y el 4 en el impétigo). El antígeno estreptococócico, el anticuerpo y el complemento se combinan en una reacción de inmunocomplejos en la membrana basal glomerular. La enfermedad se presenta, después de 1 a 15 semanas de la infección estreptococócica, con albuminuria, hematuria, edema e hipertensión.²⁹

La difteria es una enfermedad causada por la infección con una cepa tóxigena de *Corynebacterium diphtheriae*, las amígdalas y las fauces se inflaman y se cubren con un exudado que forma una membrana adherente gris. Hay una intensa reacción local que afecta a los ganglios linfáticos cervicales y a los circundantes, la inflamación reactiva y el edema producen el aspecto de “cuello de toro” (figura No. 20).²⁹

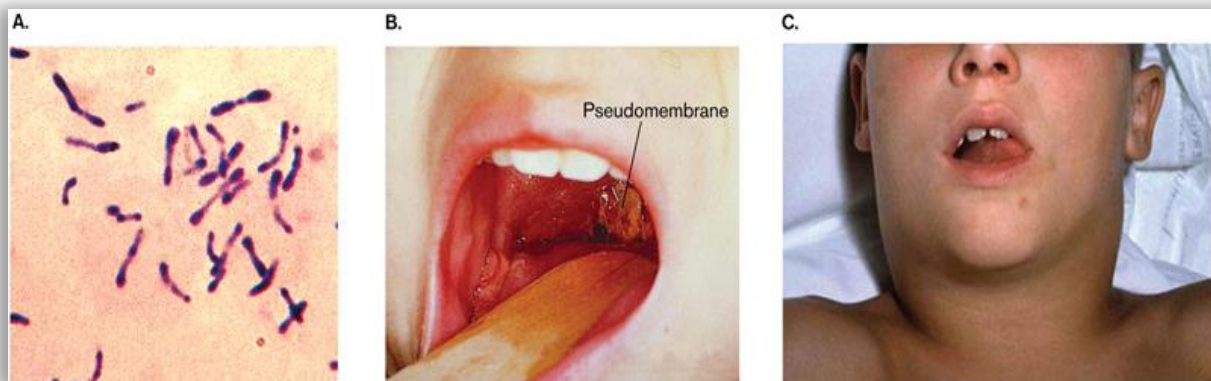


Figura No. 20 A. Cepa *Corynebacterium diphtheriae*, B. Pseudomembrana y C. “Cuello de toro”.³⁰

2.8 OTITIS EXTERNA Y MEDIA

Tanto la otitis externa (afección del conducto auditivo externo) como la otitis media (afección de la cavidad media) son las infecciones óticas más comunes. ³¹

Debido a sus relaciones con la mucosa faríngea, esta mucosa se infecta fácilmente, lo que produce obliteraciones congestivas de la trompa, inflamaciones o infecciones del oído medio (otitis). ³²

El oído externo está formado por el pabellón auricular y el conducto auditivo externo. Así como el medio está constituido por el tímpano, la caja del tímpano, la cadena de huesecillos y la trompa de Eustaquio (figura No. 21). ³¹

En la otitis externa los factores predisponentes son: traumatismo local, cuerpos extraños, humedad excesiva (oído del nadador), furunculosis, extensión de una infección del oído medio. En la otitis media son: infecciones en la trompa de Eustaquio, anomalías anatómicas asociadas a la trompa, falta de limpieza del oído medio. ³¹



Figura No. 21 Anatomía del oído. ³³

Una de las otitis externas más importantes es la del nadador, la cual es producida por *Pseudomonas aeruginosa*. Los agentes bacterianos entran al oído medio a través de la trompa de Eustaquio. La otitis media crónica es consecutiva a las infecciones agudas no resueltas. ³¹

2.9 TRACTO GASTROINTESTINAL

Parece casi superfluo enumerar los microorganismos que pueden encontrarse; muchos de ellos no se toman en cuenta en la búsqueda de "patógenos entéricos", es decir salmonelas y shigellas, que sin duda no representan los únicos microbios dotados de potencial para producir enfermedades. ²⁵

Aunque el origen de este tipo de enfermedades es muy amplio, las infecciones representan la principal etiología. Con frecuencia se utilizan de manera indistinta denominaciones tales como infección gastrointestinal, toxiinfección alimentaria o colitis para hacer referencia a estos procesos (figura No. 22).

El término diarrea se emplea generalmente para definir aquellas alteraciones del hábito intestinal que conllevan una frecuencia anormal en el número de deposiciones o un incremento en el número de heces emitidas (figura No. 23). En muchas ocasiones, los síndromes eméticos acompañan o incluso constituyen la única manifestación de la enfermedad.³⁴

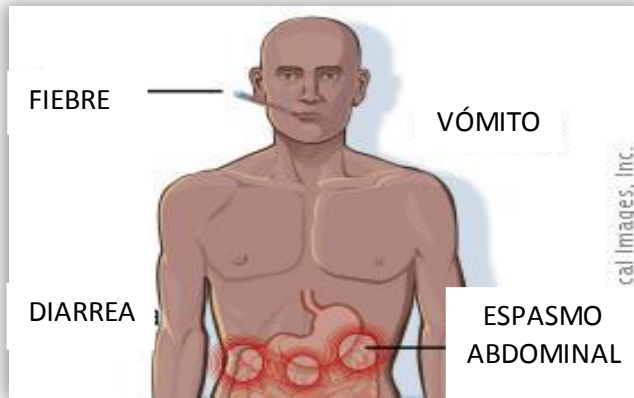


Figura No. 22 Síntomas de infección gastrointestinal.³⁶



Figura No. 23 Síntoma de diarrea.³⁵

El período de incubación es variable, suele ser de 1-3 días, está en relación con la toxina ingerida. Puede haber estreñimiento, náuseas y vómitos.³⁷

2.10 INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO

La infección del tracto urinario (ITU) se define como la presencia y multiplicación de microorganismos en el tracto urinario con invasión de los tejidos adyacentes. En la orina pueden encontrarse bacterias sin que exista ITU por contaminación al pasar por la uretra, contacto con genitales externos, por recogida incorrecta (recipientes no estériles), o por multiplicación posterior de un bajo número de bacterias preexistentes en la orina (entre la recogida y el procesamiento).³⁴

2.10.1 COMPOSICIÓN DE LA ORINA

Normalmente la orina posee un color amarillo claro, que puede variar hasta el ámbar, debido a la presencia de pigmento urocromo. La orina posee una reacción ligeramente ácida (pH de 4.8 a 7.5) con un olor bien característico. Siguiendo una dieta normal. Con una ingesta líquida adecuada, se excretan normalmente de 1.200 a 1.880 ml por día.

La densidad de la orina es de 1.015 a 1.025 en los individuos normales. No debe haber cantidades significativas de mucus ni de bacterias. Los análisis químicos no deben revelar cantidades importantes de proteínas, azúcar, acetona u otros cuerpos cetónicos. ³⁸

2.10.2 ANÁLISIS DE ORINA

El análisis de orina de rutina consiste habitualmente en el examen del color, la transparencia, la densidad, el pH, proteínas, glucosa, acetona y cuerpos cetónicos cuando se halle indicado (figura No. 24), así como de las estructuras microscópicas.

La muestra recogida se deberá examinar inmediatamente, especialmente el sedimento, puesto que las muestras conservadas a la temperatura ambiente durante varias horas pueden producir alteraciones. ³⁸



Figura No. 24 Análisis químico de orina. ³⁹

En la infección simple sin complicaciones, el 80% de las infecciones son causadas por *Escherichia coli*, entre el 7% y el 8% por *Proteus mirabilis* y una proporción similar por *Staphylococcus saprophyticus*. El restante 5% en su mayoría es por enterococos. ⁴⁰

2.11 SEPTICEMIA: BACTERIEMIA Y FUNGEMIA

En nuestro medio suele denominarse septicemia a la invasión persistente del torrente circulatorio por bacterias u hongos que da lugar a manifestaciones clínicas de infección sistémica, como fiebre, taquicardia, leucocitosis y otras. ⁴¹

Las bacteriemias y fungemias se diagnostican por hemocultivo, que consiste en el cultivo de una muestra de sangre en medios adecuados para recuperar las bacterias y los hongos que son capaces de crecer en medios artificiales. Es recomendable practicar dos o tres hemocultivos mediante extracciones separadas y a ser posible de puntos de venopunción diferentes. Hacer varios hemocultivos permite además sembrar un volumen mayor de sangre, por lo que es más probable la recuperación del agente causal. ⁴¹

De todos los cultivos realizados en el laboratorio de Microbiología, el hemocultivo es, probablemente, el más importante y el que más expectativas despierta. Para obtener el máximo rendimiento (20 ml por extracción) y evitando posibles contaminaciones con flora saprofita de la piel. Cuando el hemocultivo es positivo, la primera información útil la proporciona la práctica de una tinción de Gram; sin embargo, es fundamental la aplicación de protocolos que permitan identificar el microorganismo lo más pronto posible y, al mismo tiempo, conocer su sensibilidad a los antimicrobianos. ⁴²

2.12 MICROORGANISMOS NATIVOS Y PATÓGENOS DEL HOMBRE

El dilema del microbiólogo clínico consiste en decidir cuál de los diferentes microorganismos aislados de una muestra clínica participa en la enfermedad. Son muy pocos los microorganismos a los que pueda siempre aplicarse el término “patógenos”, si por esto último se entiende causantes invariables de enfermedad infecciosa. ²⁵

Los microorganismos: bacterias, levaduras, hongos, protozoos y virus, no sólo son ubicuos en el hombre sino que también abundan en enormes cantidades dentro y fuera de su cuerpo cuando goza de la mejor salud posible. De este modo, desde que nacen, las personas viven en una biosfera microbiana compuesta de innumerables elementos que representan tipos, variantes, cepas, especies, géneros, familias, órdenes, etc. Muchas áreas pobladas y estériles se encuentran dentro y fuera del cuerpo humano, así como áreas o regiones poco pobladas portadoras de microbios transitorias.

Estos hábitats temporarios de microorganismos incluyen la laringe, la tráquea, los bronquios, los senos nasales accesorios, el esófago, el estómago y la parte superior del intestino delgado, las vías urinarias superiores incluyendo la uretra posterior, y las correspondientes áreas distales de los órganos genitales masculinos y femeninos. ²⁵

2.13 ÓRGANOS Y SISTEMAS EN LOS QUE PRODUCEN ENFERMEDAD LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

Las enterobacterias (*Enterobacteriaceae*) constituyen una familia grande y diversa de bastoncillos gramnegativos, de la que son miembros tanto microorganismos de vida libre como los de la flora autóctona del hombre y de los animales. Unos cuantos están adaptados sólo para vivir en el ser humano. ⁴³

Algunos miembros de la familia (p. ej. *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia pestis*) siempre se asocian a enfermedad cuando se aíslan en el hombre, mientras que otros (p. ej. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) son miembros de la flora saprofita normal que produce infecciones oportunistas. Las infecciones causadas por las enterobacterias pueden ocurrir a partir de un reservorio animal (p. ej. la mayoría de las infecciones por *Salmonella*), un portador humano (p. ej. *Shigella* y *Salmonella typhi*), o por la diseminación endógena de los organismos en un paciente susceptible (p. ej. *Escherichia*); las infecciones pueden afectar a casi todas las localizaciones corporales. ⁴⁴

El género *Escherichia* consta de al menos 5 especies, siendo *Escherichia coli* la que se aísla con más frecuencia. *E. coli* está presente en gran cantidad en el tracto gastrointestinal y es la enterobacteria que con más frecuencia causa sepsis bacteriana, meningitis neonatal, infección del tracto urinario y gastroenteritis entre los viajeros que visitan países con deficientes condiciones sanitarias. La mayoría de las infecciones (con excepción de la gastroenteritis) son endógenas; es decir, se producen por la flora microbiana normal del individuo en condiciones en las que las defensas del huésped están comprometidas. ⁴⁴

E. coli es responsable de más del 80% de las infecciones del tracto urinario adquiridas en el seno de comunidades humanas y de la mayoría de las infecciones nosocomiales. ⁴⁴

Las cepas de *E. coli* que producen gastroenteritis se han dividido en 4 grupos: enterotoxigénicas, enteroinvasivas, enteropatogénicas y enterohemorrágicas (tabla 1).

Tabla 1 Gastroenteritis causada por *Escherichia coli*.⁴⁴

ORGANISMO	LUGAR DE ACCIÓN	ENFERMEDAD	PATOGENESIS
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (ECET)	Intestino delgado	Diarrea del viajero; diarrea infantil en países subdesarrollados; diarrea acuosa, cólico abdominal, náuseas, fiebre de bajo grado.	Enterotóxicas termoestables y/o termolábiles; estimulan la actividad de la adenociclasa, con pérdida de fluidos y electrolitos.
<i>E. coli</i> enteroinvasiva (ECEI)	Intestino grueso	Fiebre, cólico abdominal, diarrea acuosa, seguida de disentería con heces escasas y sanguinolentas.	Invasión mediada por plásmidos y destrucción de las células epiteliales que tapizan el colón.
<i>E. coli</i> enteropatogénica (ECEP)	Intestino delgado	Diarrea infantil con fiebre, náuseas, vómitos y heces no sanguinolentas.	Adherencia mediada por plásmidos y destrucción de las células epiteliales.
<i>E. coli</i> enterohemorrágica (ECEH)	Intestino grueso	Colitis hemorrágica con cólico abdominal grave, diarrea acuosa inicial, seguida de diarrea sanguinolenta, febrícula o ausencia de fiebre.	Mediada por una <<verotoxina>> citotóxica.

La distribución de *Salmonella* en el reino animal es muy amplia, habiéndose recuperado en aves de corral, reptiles, ganado, roedores, animales domésticos, pájaros y también en el hombre. Los serotipos *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* están plenamente adaptados al ser humano y no producen enfermedad en otros animales. El origen en la mayoría de las infecciones es la ingestión de agua y productos alimenticios contaminados, o bien la diseminación directa por la ruta fecal-oral en los niños. ⁴⁴

Aunque la exposición a *Salmonella* es frecuente, se requiere un gran inóculo (10^{6-8} bacterias) para que se desarrolle la enfermedad sintomática. Las infecciones por *Salmonella* pueden presentarse de cuatro formas diferentes: gastroenteritis, bacteriemia, fiebre entérica y colonización asintomática. ⁴⁴

La shigelosis es una enfermedad pediátrica que suele afectar a niños de 1 a 4 años; los brotes epidémicos de la enfermedad se producen habitualmente en guarderías, parvularios y orfanatorios. La infección se transmite por la ruta fecal-oral, fundamentalmente por las manos contaminadas y con menos frecuencia por los alimentos o el agua.

La enfermedad puede establecerse con un inóculo muy bajo (200 bacilos), de manera que la shigelosis se disemina rápidamente en comunidades en las que las condiciones sanitarias y los niveles de higiene personal son deficientes. ⁴⁴

Las infecciones por *Yersinia pestis* presentan dos variantes epidemiológicas: la peste urbana, que fue la enfermedad devastadora de la Edad Media, y la peste selvática, enfermedad que persiste hoy en día en numerosas comunidades, incluidas las regiones occidentales de los Estados Unidos. ⁴⁴

Yersinia enterocolitica es una causa habitual de enterocolitis en Escandinavia y en otros países europeos, así como en las áreas más frías de Norteamérica. La teoría según la cual *Y. enterocolitica* es clínicamente más activa en los climas fríos resulta interesante, pues ello hace pensar en cierta relación entre la enfermedad y la mayor actividad metabólica del microorganismo a 22-25 °C. Se ha detectado en diversos focos, como agua, leche y animales salvajes y domésticos. ⁴⁴

Los miembros de este género tienen una cápsula prominente que es la responsable del aspecto mucoso de las colonias y de la mayor virulencia de estos organismos *in vivo*. El que se aísla con mayor frecuencia es *Klebsiella pneumoniae* que, como su nombre indica, se asocia a neumonía lobar primaria adquirida en el seno de colectividades humanas. Los pacientes alcohólicos y con trastornos de la función pulmonar muestran un mayor riesgo de neumonía por *Klebsiella* se asocia con frecuencia a destrucción necrótica de los espacios alveolares, con cavitación y expectoración sanguinolenta. La *Klebsiella* también se asocia a infecciones del tracto urinario, heridas y tejidos blandos. ⁴⁴

Las infecciones del tracto urinario producidas por *Proteus mirabilis* constituyen la enfermedad más común producida por este género. Las cepas de *Proteus* sintetizan grandes cantidades de ureasa que escinde la urea en CO₂ y NH₃ lo que incrementa el pH de la orina y facilita la formación de cálculos.

La mayor alcalinidad de la orina también resulta tóxica para el uroepitelio. A pesar de la diversidad serológica de estos organismos, la infección no se ha asociado a ningún serotipo específico. Además, a diferencia de *Escherichia coli*, la presencia de los pili puede reducir efectivamente la virulencia de *Proteus*, aumentando la fagocitosis de los bacilos. ⁴⁴

El tratamiento antibiótico de las infecciones por *Enterobacteriaceae* debe guiarse por los resultados de las pruebas de sensibilidad *in vitro* y por la experiencia clínica. ⁴⁴

2.14 MÉTODOS DE CULTIVO DE USO RUTINARIO

Método de placas: El propósito de utilizar medios sólidos pulverizados en cajas de Petri, consiste en inocular cantidades sucesivamente menores de material en el medio, de manera que en algún tiempo los microorganismos sean colocados en una capa tan delgada que les permita el crecimiento de colonias individualmente aisladas (figura No. 25). Los materiales, como esputos o heces, con un gran contenido bacteriano, deben ser, de preferencia, diluidos y homogeneizados antes de la inoculación (figura No. 26).

El material puede ser distribuido con un agitador de vidrio, o preferentemente, con un asa que debe ser cargada con el material para examen y descargada sucesivamente en el medio en dirección de las manecillas del reloj. ⁴⁵

Deben ser subrayados ciertos puntos de importancia sobre el uso de método de placas; por ejemplo, las placas deben estar perfectamente secas antes de usarse, para que los microorganismos no se extiendan, impidiendo la formación de colonias aisladas. El asa debe ser flameada adecuadamente y enfriada antes de tocar el interior de la caja de Petri. El asa debe ser también sostenida suavemente entre los dedos con cuidado de no hundirla en el medio; también debe trabajarse siempre cerca de un mechero Bunsen al inocular, ya que la corriente ascendente de aire que va por la flama, arrastra el polvo, etc.; con el aire hacia arriba, alejándolo de la placa, y cuando el aire se enfría, el polvo se precipita lejos de la placa. ⁴⁵

Las colonias que requieren solución de cultivo deben ser extraídas con un alambre recto (no un asa) y luego transportadas al medio fresco. ⁴⁵

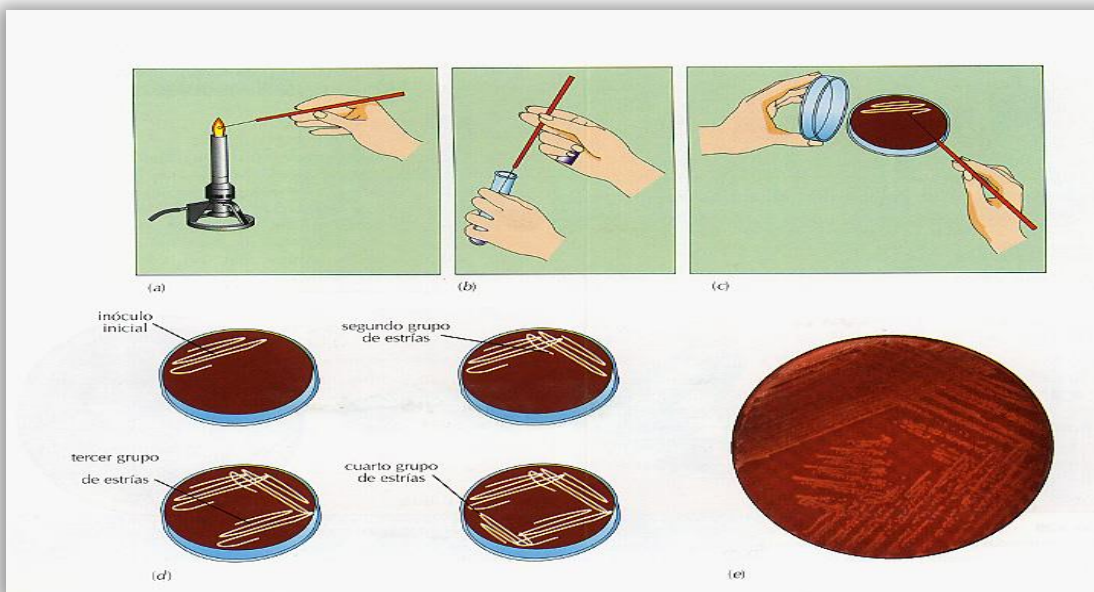


Figura No. 25 Método de aislamiento por estría en placa. ⁴⁶

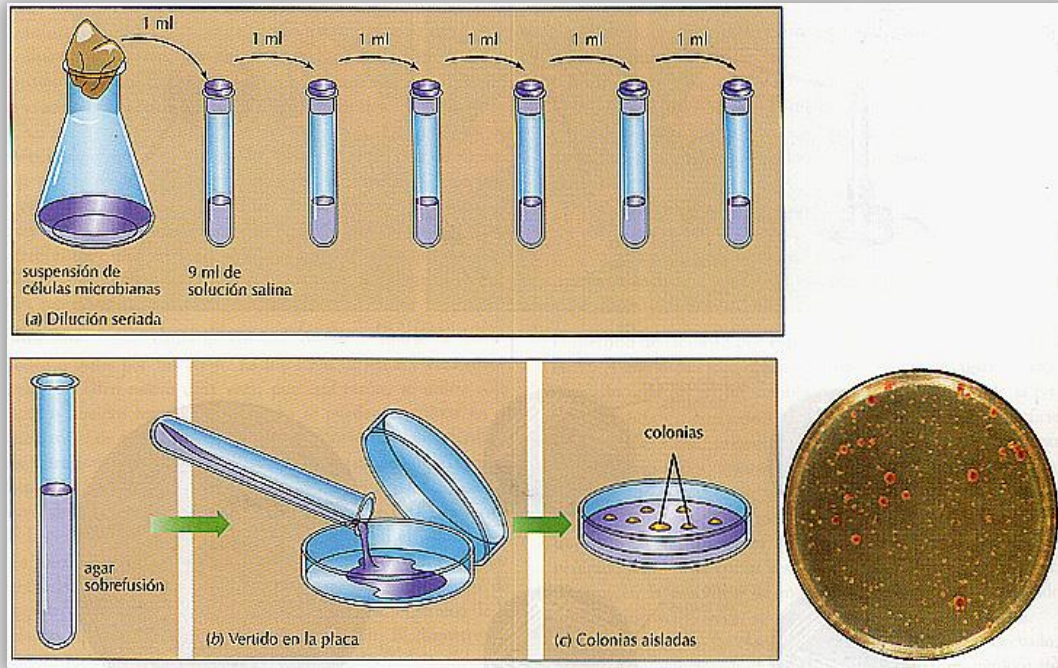


Figura No. 26 Método de vaciado en placa. ⁴⁶

Medios inclinados: Este tipo de cultivo es empleado principalmente para resembrar cepas aisladas, sea para identificación ulterior o para base de cultivo. Se requiere práctica y siempre debe hacerse cerca del mechero de Bunsen; el cuello del tubo o del frasco debe ser flameado antes de recubrirlo o de volver a colocar el tapón de algodón (figura No. 27).

45



Figura No. 27 Medios inclinados. ⁴⁷

Cultivos por agitación: Este medio de cultivo es de empleo particular en el aislamiento de anaerobios esporulados. Se calienta un tubo o botella de agar u otro medio adecuado y luego se enfría hasta aproximadamente 50 °C. El material infectante es añadido y el tubo es cerrado y luego rotado entre las manos para mezclar el contenido (figura No. 28). El medio se coloca en posición vertical y se deja luego sedimentar. Después de la incubación a 37 °C las colonias que permiten la investigación ulterior pueden ser extraídas del fondo del medio con una pipeta Pasteur estéril de boca ancha y transportadas a cultivos inclinados o de placa. ⁴⁵

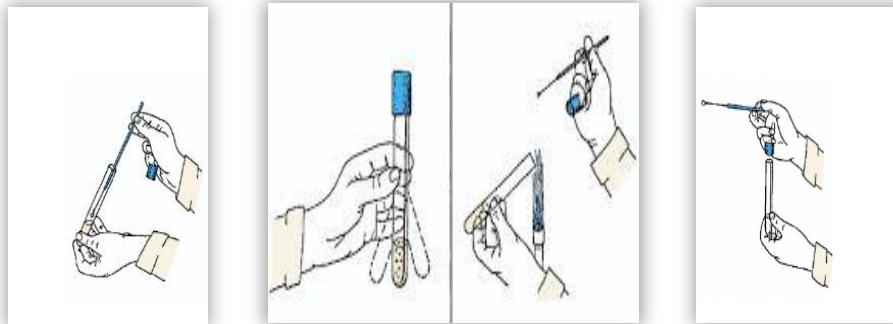


Figura No. 28 Siembra en medios por agitación. ⁴⁸

Cultivos por picadura: En este método el material para investigación es colocado en un alambre recto e introducido al medio. Debe tenerse cuidado en hacer que el trayecto de salida sea el mismo que el de entrada (figura No. 29). El método puede ser también empleado para conservar los cultivos patrón y para comprobar la licuefacción de la gelatina. ⁴⁵

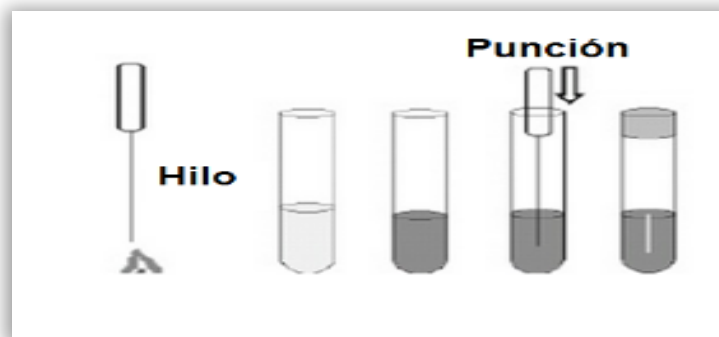


Figura No. 29 Siembra en medios por picadura. ⁴⁸

Cultivos líquidos: Al inocular un medio líquido como el agua con peptona o el caldo tioglicolato, el tubo se inclina y el material se extrae del asa por frotamiento contra la pared del tubo. Cuando éste se endereza, el material se encuentra bajo la superficie del medio. ⁴⁵

2.14.1 TIPOS DE MEDIOS

En bacteriología se emplean diferentes tipos de medios. Debe tenerse cuidado de emplear el medio más adecuado para el aislamiento e identificación de las colonias bacterianas. Los medios pueden ser líquidos o sólidos. La ventaja de los últimos estriba en la facilidad para reconocer los tipos de colonias. Muchos medios son mantenidos sólidos por el uso de agar-agar, que es preparado de especies de algas marinas. Es común el uso de agar-agar en una concentración de aproximadamente 2 por 100. Es sólido a 37 °C; se funde a 98 °C y solidifica aproximadamente a 40 °C. ⁴⁵

Por conveniencia, los medios pueden ser divididos en cuatro grupos principales:

1) Medios simples, líquidos y sólidos:

- Agua peptonada
- Agar nutritivo
- Caldo

2) Medios enriquecidos: Algunos microorganismos patógenos importantes requieren medios con complementos para crecer. Estos complementos incluyen sangre desfibrinada, suero, líquido de ascitis, huevo y glicerol. ⁴⁵

- Agar sangre
- Medio de Löeffler
- Agar chocolate
- Medios de Bordet-Gengou
- Agua con suero Hiss
- Medios de Robertson con carne

3) Medios especiales: Deben su importancia al hecho de que contienen sustancias que impiden el desarrollo de cualquier bacteria que no sea la que está bajo investigación. ⁴⁵

- Medio de MacConkey
- Agar S.S.

- Medios con telurito
- Medio de Sabouraud
- Medio de Löwenstein-Jensen
- Medio de selenita F
- Infusión corazón-cerebro
- Agar y caldo de soya con triptona
- Medio de Thayer-Martin

4) Medios de azúcar y bioquímicos diversos:

- Agar con urea
- Agar con citrato
- Medio SIM
- Gelatina
- Prueba del rojo de metilo
- Prueba de Voges-Proskauer
- Medios con descarboxilasa
- Desaminasa de fenilalanina
- Caldo con KCN
- Caldo con ONPG

5) Medios para transporte:

- Solución salina glicerinada amortiguada
- Medio de Stuart para transporte ⁴⁵

2.14.2 IMPORTANCIA DE LOS CULTIVOS PUROS

Varias de las dificultades en la identificación son debidas al empleo de un cultivo impuro como material inicial. Antes que un microorganismo pueda ser identificado, debe ser obtenido de los que comúnmente se describe como “cultivo puro”.⁴⁹

Nuestro “cultivo puro” es aquel que generalmente tiene una verdadera progenie, esto es, cuando se resiembró; la mayoría de las colonias hijas son similares a los progenitores.⁴⁹

Cuando dos microorganismos crecen juntos, como sucede en un cultivo impuro; puede ocurrir una de cuatro cosas: (i) cada microorganismo puede crecer independientemente; (ii) uno puede producir una sustancia que sea capaz de permitir al otro crecer o crecer mejor en un determinado medio (sinergia); (iii) puede producir una sustancia (bacteriocina) que inhibe el crecimiento del otro; o (iv) uno puede crecer más rápido que el otro y privar al segundo de alguna parte esencial de sus aportes nutritivos.⁴⁹

Antes que un cultivo se considere puro, se debe practicar una rutina, las colonias obtenidas de un medio selectivo son resembradas en un medio no inhibitorio, de preferencia un medio indicador, ya que sólo cuando se conoce que un cultivo es puro, es un desperdicio de tiempo intentar antes cualquier prueba de caracterización.⁴⁹

2.15 AVANCES TECNOLÓGICOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Aunque las estrategias convencionales para la identificación (p. ej. fermentación de azúcares, detección química de intermediarios metabólicos, etc.) aún son válidas y útiles, ahora hay otras disponibles. Con la introducción de pruebas rápidas con enzimas con sustratos cromógenos a fines de la década de 1960, el desarrollo de sistemas de preparados comerciales que usan estas pruebas para la identificación de *Enterobacteriaceae* (p. ej. la tira original de API), se han transformado verdaderamente en un objetivo factible para los laboratorios de microbiología clínica.

Estos métodos no sólo han disminuido el tiempo de espera de los resultados para los pacientes sino que han incrementado la relevancia clínica de la información provista por cada laboratorio.¹²

En contraste con el uso de procedimientos convencionales dependientes de crecimiento para la identificación bacteriana, el uso de pruebas con sustratos cromógenos de enzimas permite al laboratorio identificar con certeza y rápidamente muchas especies de microorganismos.

Los sustratos cromógenos de enzimas detectan enzimas preformadas en las bacterias y permiten la identificación de microorganismos específicos en comparación con el crecimiento en medios selectivos o diferenciales, de las características de las colonias y la morfología celular en un extendido teñido con coloración de Gram. Estas nuevas pruebas podrían emplearse, junto con las tradicionales, como las de la catalasa y la oxidasa, para proveer identificación presuntiva y certera de microorganismos clínicamente significativos.¹²

2.15.1 SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN API 20E

El sistema de identificación API 20E se han convertido en el método de referencia contra el cual se compara la exactitud de otros sistemas. Las 21 características que pueden ser determinadas por el sistema API 20E hacen que sea uno de los más grandes dispositivos de prueba de los equipos comerciales. El sistema identifica un alto porcentaje de bacterias dentro de 24 horas, sin la necesidad de determinar características fisiológicas. Este sistema es uno de los más frecuentemente usados en los laboratorios clínicos y tiene una base de datos enorme que incluye cepas comunes y atípicas. El Índice Perfil del API, el cual puede usarse manualmente o con asistencia de computadora, proporciona la frecuencia de probabilidad de varias cepas que deben considerarse para cada número biotípico.

El sistema es en cierta forma difícil de inocular; un problema, sin embargo, que se supera rápidamente con la práctica. Después de la inoculación, las tiras deben manipularse con cuidado de modo que las suspensiones bacterianas no se derramen y contaminen el medio circundante (figura No. 30). Se requiere práctica para interpretar reacciones límites ocasionales, las cuales pueden afectar el número biotípico y la identificación final. En ocasiones los números biotípicos pueden no aparecer en el perfil registrado; sin embargo, los fabricantes mantienen un número de teléfono para consultas.¹²



Figura No. 30 Pruebas miniaturizadas API 20. ⁵⁰

2.15.2 MEDIOS CROMOGÉNICOS

El fundamento de los mismos se basa en la detección de determinadas actividades enzimáticas por parte de los microorganismos mediante la hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador de la enzima. Una de las principales ventajas de estos medios es permitir diferenciar fácilmente los cultivos mixtos. Cada microorganismo presenta un color diferente por esto se dice que es selectivo (figuras No. 31 y 32).⁵¹

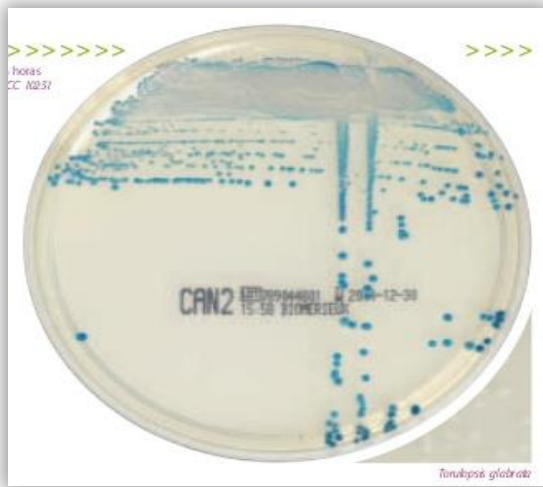


Figura No. 31 Medio cromogénico para *Candida albicans*.⁵²

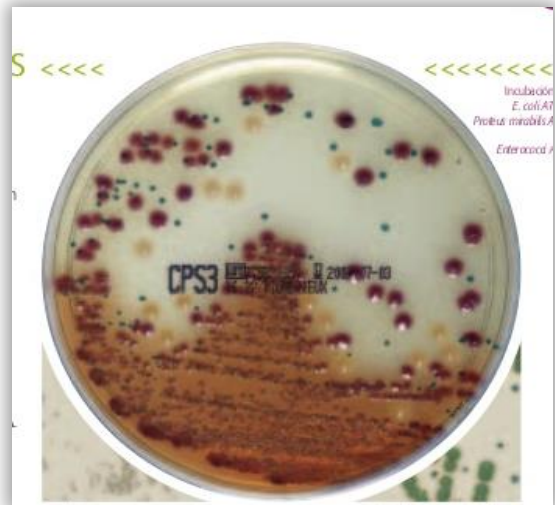


Figura No. 32 Medio cromogénico para *Escherichia coli*.⁵²

2.16 SIMULADORES O MODELOS ANATÓMICOS

Podemos definir un <<simulador>> como un objeto físico o representación de un proceso completo o parte del mismo; a veces puede recrear un ambiente completo donde múltiples procesos pueden llevarse a cabo. <<Simulación>> se refiere a la aplicación de simuladores en la educación o el entrenamiento de cierta habilidad. ⁵³

Los modelos anatómicos servían por ejemplo para que el paciente pudiera reconocer su padecimiento, principalmente en el área genital por motivos de pudor; estos modelos evolucionaron para convertirse en las reproducciones anatómicas para cursos de morfología utilizados en la actualidad (figura No. 33). ⁵³

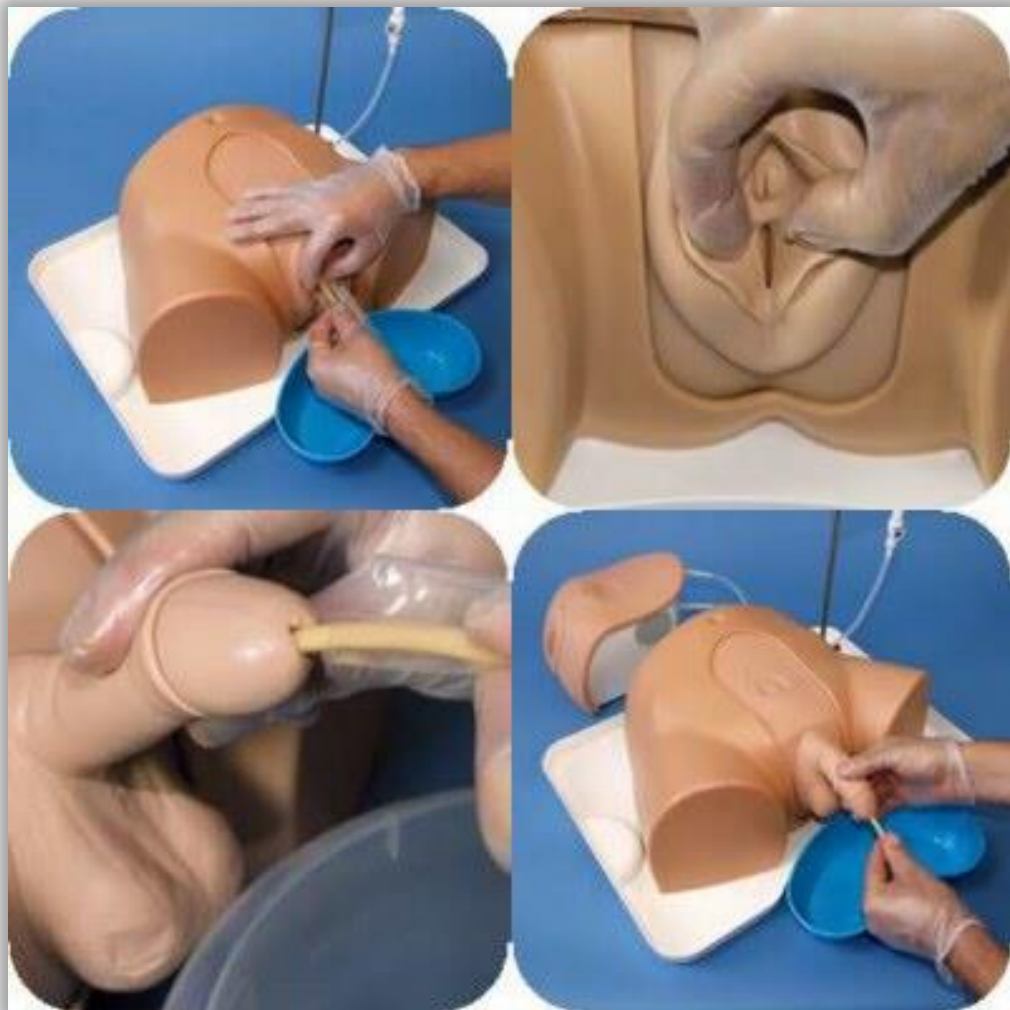


Figura No. 33 Simulador anatómico femenino y masculino. ⁵⁴

2.17 CICLO DEL DIAGNÓSTICO

El ciclo del diagnóstico que se muestra en la figura No. 34 proporciona un modelo útil para entender el papel que juega el laboratorio de microbiología en la certificación de calidad. Se muestra una secuencia de pasos concernientes a la recolección, el procesamiento y el análisis de muestras clínicas derivadas para cultivo, lo que conduce a una información que puede ser empleada para establecer el diagnóstico clínico y de laboratorio de las enfermedades infecciosas. ¹²

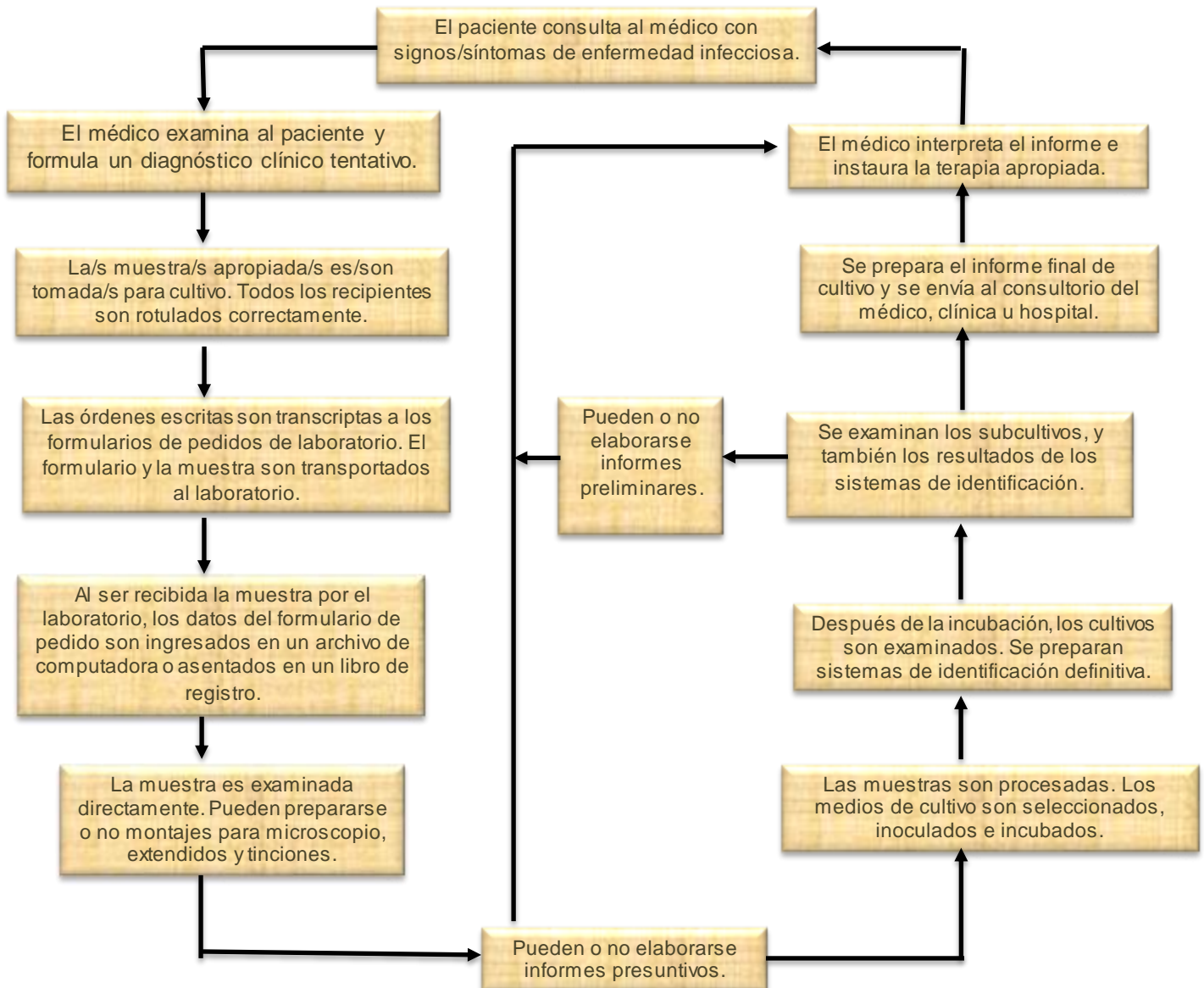


Figura No. 34 Diagnóstico clínico y de laboratorio de las enfermedades infecciosas. ¹²

La integración de las Tecnologías de la Información y la Comunicación (TIC) en la educación se considera en la actualidad, como una de las oportunidades para mejorar la educación y el aprendizaje, por lo cual, enseguida abordaremos dicho tema de gran importancia.

2.18 TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN Y LA COMUNICACIÓN (TIC)

Las tecnologías de información y comunicaciones (TIC) es un término que contempla toda forma de tecnología usada para crear, almacenar, intercambiar y procesar información en sus varias formas, tales como datos, conversaciones de voz, imágenes fijas o en movimiento, presentaciones multimedia. En particular, las TIC están íntimamente relacionadas con computadoras, software y telecomunicaciones. Su objetivo principal es la mejora y el soporte a los procesos de operación y negocios para incrementar la competitividad y productividad de las personas y organizaciones en el tratamiento de cualquier tipo de información. ⁵⁵

Las TIC son herramientas teórico conceptuales, soportes y canales que procesan, almacenan, sintetizan, recuperan y presentan información de la forma más variada. Los soportes han evolucionado en el transcurso del tiempo (telégrafo óptico, teléfono fijo, celulares, televisión) ahora en ésta era podemos hablar de la computadora y de la Internet. El uso de las TIC representa una variación notable en la sociedad y a la larga un cambio en la educación, en las relaciones interpersonales y en la forma de difundir y generar conocimientos. ⁵⁶

Existen diversos medios y materiales de enseñanza:

- Medios de manipulación: Son el conjunto de recursos y materiales que se caracterizan por ofrecer a los sujetos un modo de representación del conocimiento de naturaleza, la posibilidad de estos medios es contingente, pero debe desarrollarse intencionalmente bajo un contexto de enseñanza.
- Medios impresos: Esta categoría incluye todos los recursos que emplean principalmente los códigos verbales como sistema simbólico predominante apoyados en representaciones icónicas. En su mayor parte son materiales que están producidos por algún tipo de mecanismos de impresión.
- Medios audiovisuales: Conjunto de recursos que predominantemente codifican sus mensajes a través de representaciones gráficas. La imagen es la principal modalidad simbólica a través de la cual se presenta el conocimiento combinada con sonido.
- Medios auditivos: Emplean el sonido como la modalidad de codificación exclusiva. La música, la palabra oral, los sonidos reales, pueden representarse a través de medios.

- Medios digitales: Se caracterizan porque posibilitan desarrollar, utilizar y combinar indistintamente cualquier modalidad de codificación simbólica de la información. Los códigos verbales, icónicos fijos o en movimiento, el sonido son susceptibles de ser empleados en cualquier medio informático. Hipertextualidad y multimedia. ⁵⁷

Una pieza importante de la educación digital es precisamente la digitalización de libros que se utilizan constantemente en el aprendizaje y que gracias a este proceso se pueden conseguir en un formato electrónico. Los eBooks o libros electrónicos, son precisamente libros que se encuentran en un formato electrónico, mismos que se pueden descargar a un ordenador, un portátil, una Tablet, un Smartphone o un lector de libros electrónicos que permita su lectura.

Ventajas y beneficios de los libros electrónicos

Un libro electrónico puede incluir páginas numeradas, tablas de contenidos, fotos y gráficos, tal como sucede con cualquier libro impreso. Pero este tipo de formato digital ofrece muchos beneficios y ventajas que no se tienen con los libros convencionales. Para empezar, es muy fácil y simple, descargar eBooks a través de Internet, ya que incluso hay muchas plataformas donde estos libros electrónicos se pueden conseguir gratis, mientras que en otros casos es necesario comprarlos.

Lo bueno de un eBook, es que luego de que se hace la descarga, no hay necesidad de permanecer conectado a Internet. Es decir, el contenido del libro es accesible offline, por lo que se puede visualizar en cualquier momento desde cualquier dispositivo compatible, incluso se puede imprimir utilizando cualquier impresora doméstica. Veamos algunas otras ventajas de la digitalización de libros:

1. Los libros electrónicos se entregan de forma casi instantánea. Es decir, se puede comprar, descargar y comenzar a leer el libro electrónico en cuestión de minutos, sin siquiera moverse del asiento. No hay necesidad de ir a una biblioteca o librería para comprar los libros, incluso tampoco hay que esperar varios días o semanas para que lleguen por correo.
2. Ningún árbol es talado ni utilizado como sucede con los libros de papel impresos, incluso cuando se quiere conseguir cierta información, se puede conseguir de inmediato mediante la descarga de un libro electrónico.
3. Muchos de los libros electrónicos que se venden en la actualidad, incluyen bonificaciones que por lo general no se consiguen con los libros impresos. Esto le agrega un valor adicional a la compra.
4. Los libros electrónicos además ocupan una cantidad de espacio mucho menor, de hecho prácticamente no se necesita ninguna cantidad de espacio para almacenarlos. No hay necesidad de un estante o una biblioteca en el hogar, ya que estos eBooks se consiguen en formatos que permiten su almacenamiento en ordenadores y dispositivos de lectura.

5. A diferencia de lo que sucede con los libros impresos, los libros digitales son mucho más fáciles de llevar a todas partes. Un ordenador portátil, una Tablet, un teléfono inteligente, una memoria USB o cualquier lector de libros electrónicos se puede usar para llevarlos consigo y acceder a ellos en cualquier parte.
6. Ligado con lo anterior, también es posible llevar una gran cantidad de libros electrónicos y leerlos en prácticamente cualquier lugar. Esto no es posible con los libros impresos, los cuales además de ser pesados, ocupan mucho espacio.
7. Los libros electrónicos pueden incluir enlaces hacia páginas web, facilitando con ello el acceso a más información y contenido relacionado. Incluso, es mucho más fácil buscar la información dentro del propio eBook, en lugar de hojear página por página, como se haría con un libro impreso.⁵⁸

El presente trabajo es un manual en formato electrónico, el cual tiene grandes ventajas ya que, como se mencionó anteriormente puede llevarse consigo de manera fácil, ya sea en un CD o en una computadora personal y así reducir la cantidad de papel que se utilizaría en imprimir la totalidad del manual, así como cargar con un material de apoyo tan pesado dada la cantidad de hojas. Así mismo, los alumnos puedan tener la opción de elegir solo los apartados de las prácticas que en ese momento requieran.

A continuación se menciona el enfoque actual y como están conformadas las prácticas en dicho manual.

Considerando el enfoque por taxonomía bacteriana con respecto al nuevo enfoque por anatomía humana, se pretende que los alumnos identifiquen a los microorganismos por medio de una correcta toma de muestra de los fluidos corporales del órgano o sistema en donde producen enfermedades infecciosas en el cuerpo humano y por lo tanto, realicen un acertado diagnóstico microbiológico.

Por lo anterior, se modifica, mejora y refuerza el proceso de enseñanza, por lo cual en cada una de las prácticas contenidas en dicho manual, se incluyeron nuevos apartados para que guíen a los alumnos en el procedimiento correcto. Inicialmente cada práctica contendrá:

- ❖ Portada: Con el título de la práctica y una imagen alusiva al tema.
- ❖ Introducción: La cual brinda al alumno una idea general sobre el tema central que se abordará.
- ❖ Objetivos: Los cuales están enfocados a lo que se pretende realizar en cada práctica por medio de los métodos tradicional y moderno.
- ❖ Medidas de bioseguridad: Es importante mencionar que este apartado no había sido contemplado anteriormente en el manual de prácticas, el cual proporciona los aspectos necesarios para tener una protección adecuada y evitar riesgos en el laboratorio, además del manejo de los residuos peligrosos biológico infecciosos.

- ❖ Propósito del examen: Este apartado va encaminado a la finalidad del procedimiento de cada una de las prácticas.
- ❖ Metodología: Este apartado es relevante ya que contiene un formato novedoso, por lo cual, está dividido en etapa preanalítica, etapa analítica y etapa postanalítica como control de calidad.
- ❖ Referencias: Se incluyen las referencias bibliográficas consultadas para la elaboración de la práctica.
- ❖ Anexos: Los cuales son formatos de resultados y fundamentos de los métodos que se utilizaron.

Además se espera que el manual electrónico sea una herramienta de apoyo para los alumnos y conozcan los materiales, métodos tradicionales y modernos, el procedimiento correcto para la toma de muestra, bioseguridad en el laboratorio, control de calidad, manejo de residuos peligrosos biológico infecciosos y formatos de resultados para los estudios realizados para que tengan la información clara y necesaria antes de la realización de la práctica y por lo consiguiente los conocimientos teóricos y prácticos, para tener un mejor desempeño al efectuar la praxis y se refleje en un apropiado diagnóstico microbiológico.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dada la importancia de los resultados de laboratorio, hace necesario que las muestras biológicas se obtengan de forma correcta, no basta con realizar la etapa analítica de manera adecuada para obtener un acertado diagnóstico microbiológico. La calidad del estudio clínico depende del cumplimiento de diversos factores que comienzan desde el momento mismo de la formulación de la petición y la preparación del paciente para la extracción u obtención de la muestra y termina cuando el resultado es entregado al profesional que solicitó la prueba y servir de apoyo en la prevención, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de enfermedades. Por lo anterior es necesario que los alumnos cuenten con un material de apoyo en el laboratorio que les brinde información en cuanto a las técnicas y procedimientos tradicionales y modernos y egresen con una mejor preparación académica.

Cabe mencionar que el módulo de Microbiología Médica cuenta con un programa de estudios y un manual de prácticas con el enfoque por taxonomía bacteriana, que hasta el momento, ha cumplido su cometido de proporcionar al alumno habilidades y destrezas para efectuar una correcta identificación microbiana; sin embargo, ya que en el manual vigente no se tiene considerada la importancia de las tomas de muestra ha sido necesario actualizar el Manual de Prácticas de dicho módulo, ya que en la actualidad el enfoque es por órganos y sistemas del cuerpo humano. Es por lo anterior, que en el presente trabajo se incluyen nuevas prácticas que consideran la identificación de bacterias y hongos de interés en nuestro país, cada una de ellas con imágenes originales, comenzando desde la toma de muestra, el procesamiento de éstas y la entrega de resultados. Cabe mencionar que se utilizaron simuladores anatómicos en la unidad de aparato urogenital los cuales son de gran ayuda para poder mostrar al alumno de forma gráfica la manera de realizar una técnica correcta ya que se tienen inconvenientes para realizarla en pacientes reales.

Además se incorporaron técnicas diagnósticas que no se tomaron en cuenta en prácticas anteriores como son: el uso de cepas ATCC, medios cromogénicos y sistemas miniaturizados API 20, esto provee al alumno de conocimientos sobre avances científicos y tecnológicos que existen en la actualidad en el diagnóstico microbiológico. Así como temas relevantes como: bioseguridad y manejo de residuos peligrosos biológico infecciosos, lo que permite aplicar e integrar los conocimientos que se aprenden en el módulo de Microbiología Médica con la finalidad de preparar mejor a los alumnos para que sirvan a la comunidad responsablemente.

Por lo cual, se recopilaron nueve prácticas para la elaboración del manual con el enfoque actual, que podrá ser consultado en formato electrónico, con el propósito de generar un compendio que sirva de guía y aporte información a los alumnos para que antes de la realización de la práctica tengan ideas claras y así obtener un resultado confiable, de tal manera que los egresados logren realizar correctamente las pruebas solicitadas cuando estén frente a pacientes reales.

4. HIPÓTESIS

Se espera que la validación del manual de prácticas con un enfoque por anatomía humana, la inclusión de tomas de muestra con imágenes, así como la incorporación de los avances tecnológicos que existen para la identificación y diagnóstico microbiológico, se obtenga un 80 % de aceptación por parte de los alumnos que cursan el módulo de Microbiología Médica.

5. OBJETIVOS

- Realizar una compilación de prácticas para el módulo de Microbiología Médica con un enfoque por anatomía humana y con un diseño que permita la inclusión de tomas de muestras, procedimientos paso a paso con fotografías recabadas del proyecto PAPIME PE 209012 para que guíen y preparen al alumno para dar un correcto diagnóstico microbiológico.
- Incluir en el diseño de nuevas prácticas, conocimientos y habilidades sobre aspectos de control de calidad, bioseguridad, manejo de RPBI, tecnologías en diagnóstico microbiológico (pruebas bioquímicas miniaturizadas y medios cromogénicos), así como simuladores anatómicos femenino y masculino.
- Digitalizar un manual en formato electrónico, que sea consultado en plataformas digitales y descargable de modo que proporcione a los alumnos una fuente de información para que previo a la realización de la práctica tenga los elementos y conocimientos necesarios para poder realizar la identificación y diagnóstico microbiológico.
- Reforzar el proceso de enseñanza, aprendizaje y la preparación académica de los alumnos de 9° semestre que cursan el módulo de Microbiología Médica con el diseño de este manual.
- Validar la aceptación del manual electrónico por parte de los alumnos de 9no semestre del módulo de Microbiología Médica.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio: Descriptivo

Población: 45 alumnos del módulo de Microbiología Médica

Criterios de inclusión: Sean alumnos de 9º semestre del período 2015 – 2

Criterios de exclusión: No sean alumnos de 9º semestre período 2015 – 2

Variables: Dependiente: Aceptación del manual

Independiente: Evaluación del manual

Operacionalización de variables:

Variable	Definición	Medición
Aceptación del manual	Considerar la información integral de cada práctica (RPBI, bioseguridad, simuladores, sistemas API 20).	≥ 80% - Aceptado < 80% - Rechazado
Evaluación del manual	Cuestionario 9 preguntas de opción múltiple y 1 pregunta abierta.	malo, regular, bueno, excelente

El cuestionario se aplicó a 45 alumnos de 9º semestre del módulo de Microbiología Médica de la generación 2015-2 de la carrera de Q.F.B. de la FES Zaragoza. El cuestionario consta de 9 preguntas de opción múltiple que son referentes al diseño del manual y una pregunta abierta donde los alumnos plantearon sus observaciones y/o propuestas para la mejora continua del manual.

1. ¿Cómo consideras la inclusión de aspectos sobre bioseguridad y RPBI en la elaboración del manual?
2. ¿Cómo consideras la inclusión de los avances tecnológicos (medios cromogénicos, API 20, simuladores anatómicos) seleccionados para la elaboración y diseño del manual?
3. ¿Cómo consideras el diseño en el cual, se explica paso a paso por medio de imágenes representativas el procedimiento que debe seguirse?
4. ¿Cómo consideras la distribución de los apartados del manual?
5. ¿Cómo consideras la inclusión de tomas de muestra en la elaboración y diseño del manual?
6. ¿Cómo consideras la calidad de las imágenes de cada práctica?

7. ¿Consideras que las imágenes son claras y entendibles en cuanto el procedimiento a realizar?
8. ¿Consideras que las secuencias ilustradas con fotografías originales mejoran el modo de aprendizaje de los alumnos?
9. ¿Cómo consideras la información proporcionada en cada práctica?
10. De acuerdo a tus observaciones ¿Qué propondrías para mejorar el manual?

Los resultados obtenidos del cuestionario que se aplicó se presentan en el cuadro 1 y en las gráficas que se encuentran en el apartado de resultados, para cada una de las preguntas que conforman el cuestionario.

7. RESULTADOS

7.1 MANUAL DE PRÁCTICAS POR ANATOMÍA HUMANA PARA EL MÓDULO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

MANUAL DE PRÁCTICAS POR ANATOMÍA HUMANA PARA EL MÓDULO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

M en C. Roberto Cruz González Meléndez



Con apoyo de proyecto
PAPIME 209012

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Carrera Química Farmacéutico Biológica
Coordinación del Área Bioquímica Clínica

Este material fue elaborado con apoyo del proyecto
PAPIME 209012, y aprobado por el Comité
Académico de Carrera
el **30 de septiembre de 2016**

DIRECTORIO



Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez
Director

Dr. Vicente J. Hernández Abad
Secretario General

Dra. Rosalinda Escalante Pliego
Secretaria de Integración, Promoción y Desarrollo Académico

Dra. Martha Asunción Sánchez Rodríguez
Coordinadora de Trayectoria Escolar de las Ciencias Químico Biológicas

Dra. Raquel Retana Ugalde
Jefa de la Carrera de Química Farmacéutico Biológica

Q.F.B. Víctor Hugo Becerra López
Coordinador del Área Bioquímica Clínica

Directorio de colaboradores

M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
Autor y Coordinador general del Manual

Q. F. B. Sthefany Liliana Ortega Cortés
Coordinación de la Edición

M. en C. Margarita Cruz Millán
Edición digital

L.I. Arturo Francisco Gutiérrez Luna
Acabado y Diseño digital



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
MÓDULO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



CONTENIDO TEMÁTICO



INTRODUCCIÓN



PRÓLOGO



AUTORES POR PRÁCTICA



OBJETIVOS DEL MANUAL



PROPÓSITO DEL MANUAL



PRÁCTICA AISLAMIENTO DE HONGOS DE UÑAS CAUSANTES DE MICOSIS



PRÁCTICA COPROCULTIVO



PRÁCTICA EXUDADO ÓTICO



PRÁCTICA EXUDADO FARÍNGEO



PRÁCTICA EXUDADO NASOFARÍNGEO



PRÁCTICA UROCULTIVO



PRÁCTICA EXUDADO VAGINAL



PRÁCTICA EXUDADO URETRAL



PRÁCTICA HEMOCULTIVO





INTRODUCCIÓN

El módulo de Microbiología Médica se encuentra ubicado en el 9º semestre de la orientación de bioquímica clínica de la carrera de Q.F.B.

Este módulo cuenta con un programa de estudios y un manual de prácticas; sin embargo, estos documentos fueron elaborados con el enfoque de taxonomía bacteriana, cuando en la actualidad el enfoque es por órganos y sistemas del cuerpo humano, con lo que se pretende actualizar el Programa de Estudios y el Manual de Prácticas del módulo de Microbiología Médica incorporando algunos de los avances científicos y tecnológicos que existen para preparar mejor a los alumnos que cursan este módulo y proporcionar los conocimientos necesarios para su formación y su futura profesión.

Por lo anterior, debe mencionarse que el manual de prácticas del módulo de Microbiología Médica hasta el momento, ha cumplido su cometido de proporcionar al alumno habilidades y destrezas para efectuar una correcta identificación microbiana; sin embargo, se pretende incluir nuevas prácticas que consideren la identificación de bacterias y hongos de interés en nuestro país, así como el uso de nuevas técnicas diagnósticas, y se incorporen temas como la bioseguridad y el manejo de residuos peligrosos biológico infecciosos, lo que permitirá aplicar e integrar los conocimientos aprendidos en el módulo de Microbiología Médica con la finalidad de preparar mejor a los alumnos para que sirvan a la comunidad responsablemente.

Considerando el enfoque actual por órganos y sistemas las prácticas contenidas en este manual se enlistan a continuación, cabe señalar que dentro del manual se ordenan de acuerdo a la secuencia de cada unidad.

- Piel y músculo esquelético
 - Aislamiento de hongos de uñas
- Aparato digestivo
 - Coprocultivo
- Aparato respiratorio
 - Exudado ótico
 - Exudado faríngeo
 - Exudado nasofaríngeo
- Aparato genitourinario
 - Urocultivo
 - Exudado vaginal
 - Exudado uretral
- Aparato circulatorio
 - Hemocultivo

Para la realización de las prácticas antes mencionadas se tomó en consideración las etapas del control de calidad lo cual es importante para obtener resultados confiables y reproducibles, por ello las prácticas están divididas en tres etapas: preanalítica, analítica y postanalítica para el proceso de diagnóstico microbiológico con lo que se pretende mejorar el proceso de enseñanza y aprendizaje.

Un aspecto importante que no se tenía considerado en los documentos anteriores del módulo de Microbiología Médica es el uso de simuladores anatómicos los cuales son de gran ayuda para poder mostrar al alumno de forma gráfica la manera de realizar una técnica correcta en prácticas como urocultivo, exudado vaginal y exudado uretral, donde se tienen inconvenientes para realizarla en pacientes reales, de modo que cuando el alumno se enfrente al campo laboral pueda desempeñar las habilidades prácticas, ya que esto contribuye a formar profesionistas mejor preparados. Las prácticas que se diseñaron son innovadoras ya que cuentan con el uso de cepas ATCC, el uso de medios cromogénicos y sistemas miniaturizados API 20 lo cual no se utilizaba en prácticas anteriores de dicho módulo, esto provee al alumno de conocimientos sobre avances tecnológicos que se llevan a cabo en la actualidad en el diagnóstico microbiológico. Un aspecto relevante incluido en este manual es el de bioseguridad ya que, al estar en un laboratorio de enseñanza básica e investigación como el Laboratorio del módulo de Microbiología Médica, se deben tomar en cuenta medidas para la protección tanto de los profesores, alumnos, así como de los pacientes que acudan a realizarse los estudios que soliciten. Este punto también incluye el manejo adecuado y disposición final de residuos peligrosos biológicos infecciosos.

El diseño de estas prácticas es novedoso ya que cuenta con imágenes que muestran de manera gráfica, sencilla y paso a paso, el procedimiento que se debe seguir, así como el material, el equipo y reactivos que se utilizarán de modo que para el alumno sea más claro, entendible y fácil de realizar en el momento que requiera de ello, para tener una técnica correcta y un acertado diagnóstico microbiológico. Con base en lo anterior el alumno cuenta con dos procedimientos alternativos: el primero cuando se cuenta con una muestra de fluido biológico, y la segunda puede hacerlo trabajando con una cepa pura.

Cabe destacar que se realizó un proceso de validación de las prácticas incluidas en este manual, para ello se les proporcionó a los alumnos de 9° semestre y a los profesores que imparten el módulo de Microbiología Médica cada una de las prácticas para que previo a la realización de esta, la leyeran y conocieran el procedimiento a realizar, posteriormente se les aplicó un cuestionario. Con lo cual el diseño de las prácticas tiene una aceptación de bueno a excelente por parte de alumnos y profesores considerando la validación de las mismas.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
MÓDULO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



PRÓLOGO

Este documento representa el trabajo y compromiso de un grupo de profesores y alumnos entusiastas que tienen como visión el mejorar el proceso de enseñanza y aprendizaje en el módulo de Microbiología Médica de la Carrera de Q.F.B. tanto en los componentes teórico como práctico.

Este manual de prácticas es el producto que representa la culminación del esfuerzo en la modificación y actualización de los contenidos académicos del módulo de Microbiología Médica desde la revisión del programa sintético y analítico de este módulo hasta la generación de las tablas de especificaciones para la elaboración de evaluación de exámenes o pruebas mejor diseñadas.

Este manual contiene el diseño de nuevas prácticas como son: raspado de uñas para la identificación de dermatofitos para fortalecer la unidad de piel y músculo esquelético; hemocultivo para fortalecer la unidad de aparato circulatorio; coprocultivo para fortalecer la unidad de aparato digestivo; exudado vaginal y exudado uretral para fortalecer la unidad de aparato genitourinario; exudado ótico, exudado faríngeo y exudado nasofaríngeo para fortalecer la unidad de aparato respiratorio.

Las prácticas tienen un diseño innovador que permite guiar al estudiante paso a paso en las etapas de control de calidad para lograr un diagnóstico microbiológico confiable. Cada una de las prácticas contiene además la inclusión de imágenes que ilustran paso a paso cada uno de los procedimientos que se sigue en cada una de ellas para cuando se tienen muestras biológicas como con cepas puras, medidas de bioseguridad, el uso de medios cromogénicos y sistema miniaturizadas de identificación como son las pruebas API 20, y el uso de simuladores anatómicos para las prácticas de exudado vaginal y exudado uretral.

Lo anterior permitirá fortalecer los procesos de enseñanza y aprendizaje en el módulo de Microbiología Médica, y ser punta de lanza para otros módulos que sigan este modelo y que ha generado productos muy importantes para cada vez preparar mejor a los alumnos.

Agradezco la confianza de todos los profesores por permitirme coordinar todas las actividades académicas que han derivado en todos los productos antes mencionados, así como al financiamiento otorgado por el Proyecto PAPIME PE 209012 de la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA).

M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
Responsable del proyecto PAPIME 209012



AUTORES POR PRÁCTICA

- PRÁCTICA AISLAMIENTO DE HONGOS DE UÑAS
Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
Q.F.B. María De Las Mercedes Zamudio Durán
- PRÁCTICA COPROCULTIVO
Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez
- PRÁCTICA EXUDADO ÓTICO
Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q. F. B. Sthefany Liliana Ortega Cortés
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
- PRÁCTICA EXUDADO FARÍNGEO
Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q. F. B. Sthefany Liliana Ortega Cortés
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
- PRÁCTICA EXUDADO NASOFARÍNGEO
Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q. F. B. Sthefany Liliana Ortega Cortés
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
- PRÁCTICA UROCULTIVO
Q.F.B. Antonio Avilés Villada
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
Q. María Teresa Mendoza Mata
- PRÁCTICA EXUDADO VAGINAL
Q.F.B. Antonio Avilés Villada
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz
- PRÁCTICA EXUDADO URETRAL
Q.F.B. Antonio Avilés Villada
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres
- PRÁCTICA HEMOCULTIVO
Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez





OBJETIVOS DEL MANUAL

- ✎ Diseñar nuevas prácticas de diagnóstico microbiológico empleando métodos tradicionales y métodos modernos de diagnóstico para la identificación de microorganismos causantes de diversas patologías en los aparatos y sistemas del cuerpo humano del módulo de Microbiología Médica de la carrera de Q.F.B. en la FES Zaragoza.
- ✎ Mejorar el proceso de enseñanza, aprendizaje y la preparación académica de los alumnos de 9º semestre que cursan este módulo con el diseño de estas prácticas.
- ✎ Desarrollar un formato entendible y didáctico, que describan detalladamente en forma sencilla y completa los métodos a utilizar, explicando paso a paso con imágenes representativas las etapas de control de calidad: preanalítica, analítica y postanalítica.
- ✎ Implementar las nuevas prácticas de diagnóstico microbiológico utilizando métodos tradicionales y métodos modernos de diagnóstico en la Clínica Multidisciplinaria Zaragoza siguiendo los mismos criterios de control de calidad y utilizando cepas ATCC.
- ✎ Proporcionar a los alumnos por medio de este manual electrónico una fuente de información para que previo a la realización de la práctica tenga los elementos y conocimientos necesarios para poder realizar la identificación y diagnóstico microbiológico.





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
MÓDULO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



PROPÓSITO DEL MANUAL

Proporcionar a los alumnos de 9° semestre de la carrera de Q.F.B. de la orientación de bioquímica clínica un manual que muestre la forma adecuada de realizar la identificación y diagnóstico de microorganismos causantes de diversas patologías por órganos y sistemas del cuerpo humano del módulo de Microbiología Médica por medio de un diseño novedoso en el cual, a través de imágenes que muestran de manera gráfica y paso a paso el procedimiento de cada práctica; de modo que sea claro y entendible para que previo a la realización de estas, el alumno tenga los conocimientos necesarios para efectuar las técnicas y posteriormente, tenga las habilidades y sea capaz de hacer una adecuada toma de muestra, así como un procedimiento correcto en pacientes reales.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 40

UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

PRÁCTICA

AISLAMIENTO DE HONGOS DE UÑAS CAUSANTES DE MICOSIS



ELABORADO POR:

Q.F.B. ANA LAURA LORETO PÉREZ

M. en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Q.F.B. MARÍA DE LAS MERCEDES ZAMUDIO DURÁN

[Inicio](#)

Proyecto apoyado por PAPIME 209012

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



ÍNDICE.

I. INTRODUCCIÓN.....	5
II. OBJETIVOS.....	7
III. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	8
IV. PROPÓSITO DEL EXAMEN	10
V. METODOLOGÍA.....	11
V.1 Fase Preanalítica	11
V.2. Fase Analítica.....	18
V.3. Fase Postanalítica	32
VI. REFERENCIAS	33
ANEXO I. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO TRADICIONAL.....	34
ANEXO II: FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO.....	35
ANEXO III. FORMATO DE INFORME DE LABORATORIO.....	36
ANEXO IV. PRINCIPIO DEL MÉTODO MODERNO: API 20C AUX Y MEDIOS CROMOGÉNICOS	37
ANEXO V. CUESTIONARIO.....	40



I. Introducción

Tiña de las uñas es el término para describir el compromiso de las uñas por hongos dermatofitos que debe diferenciarse de la onicomycosis la cual se refiere a las infecciones causadas por una amplia variedad de hongos que no pertenecen a los dermatofitos.

Entre los dermatofitos, el *Trichophyton rubrum* es el principal responsable, seguido por el *T. mentagrophytes var. interdigitale*, posteriormente por el *Epidermophyton floccosum*. Las tiñas de las uñas comienzan en el borde lateral o distal de la placa ungueal y producen inflamación paroniquial a medida que la lesión progresa, la uña se engrosa y se torna quebradiza, con la acumulación subungueal de detritos queratinizados (hiperqueratosis). ^(1,2)

La onicomycosis constituye una de las enfermedades más frecuentes de las uñas y en constante aumento. Es producida por levaduras o por hongos oportunistas no dermatofitos como las especies de *Aspergillus sp.*, especies de *Geotrichum sp.* En menor medida especies como *Acremonium spp.*, *Scopulariopsis brevicaulis* y *Fusarium spp.* Se puede presentar en forma aislada, pero en la mayoría de los casos se presenta asociada con tinea pedis o tinea manuum. ⁽¹⁾

Otros hongos capaces de invadir la lámina ungueal son levaduras como *Candida albicans* y *C. parapsilosis*. Los hongos filamentosos y las levaduras son generalmente invasores secundarios a enfermedades previas de la uña o traumatismos, mientras que los dermatofitos pueden causar infecciones primarias. ⁽³⁾

La incidencia de las onicomycosis aumenta con la edad, con una prevalencia neta por encima de los 55 años, con mayor predominio en los varones.

Los factores predisponentes son las distrofias ungueales, los microtraumatismos continuos, trabajos y deportes, los defectos circulatorios arteriales, venosos o linfáticos, las neuropatías periféricas, la diabetes mellitus, el tabaquismo, las deficiencias inmunitarias, las enfermedades preexistentes como psoriasis. También el envejecimiento de la población y el afán actual por el bienestar corporal (piscinas, saunas, etc.) tienen una participación importante para condicionar o favorecer la infección micótica de la uña. ⁽³⁾



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

La comprensión de la patogenia de las infecciones en la uña requiere el conocimiento de la anatomía y la fisiología de la misma. ⁽³⁾

La sospecha clínica de onicomycosis debe confirmarse siempre a través del examen microscópico directo y del examen por cultivo.

Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

Fase preanalítica: es importante, y de ella depende en gran medida el resultado final. Aquí se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma. Se indica las propiedades de los reactivos que serán empleados, y en este caso la correcta manipulación de las cepas ATCC, más representativas a utilizar para cada módulo.

Fase analítica: se describen los métodos de laboratorio empleados en esta área, los cuales son explicados de manera clara, precisa y sencilla para ser llevados a cabo por el personal del área que lo consulte y lograr la correcta ejecución de las pruebas ya que en esta etapa se exigen técnicas estandarizadas, equipos adecuados bien calibrados (en los manuales de procedimiento de operación de los equipos del laboratorio de microbiología médica y se describen las especificaciones y características de los instrumentos, sus normas de funcionamiento, calibración) y reactivos.

Se explica ampliamente como realizar un examen directo para poder efectuar una interpretación, de igual manera se explican las propiedades de los medios de cultivo selectivos, diferenciales, de transporte, medios de enriquecimiento y pruebas bioquímicas y especiales. También se explica los métodos actuales de diagnóstico como el sistema API 20 y el uso de los medios cromogénicos.

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

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

Sin embargo, aún establecidas estas tres etapas en escrito, el control de calidad es responsabilidad de la persona a cargo del área de microbiología, que debe asegurarse de que las pruebas realizadas sean procesadas con calidad y de que los resultados sean confiables, reproducibles y tan exactos como sea posible, siguiendo los procedimientos establecidos. Los resultados se deben de entregar en un informe que sea legible y fácil de comprender. ⁽⁴⁾

En el presente trabajo se establecen los métodos tradicionales y métodos modernos de diagnóstico (sistema API 20 y medios cromogénicos) empleados para el diagnóstico microbiológico de microorganismos causantes de onicomycosis en uña de pie, el estudio se realizará en el laboratorio microbiología médica de la FES Zaragoza y por último se pretende implementar estos métodos en la clínica multidisciplinaria de la FES Zaragoza. Debido a que no se cuenta con prácticas desde el punto de vista patológico, es decir, prácticas que permitan el diagnóstico de microorganismos que causan patologías en aparatos y sistemas del cuerpo humano. Para ello, se pretende diseñar prácticas encaminadas al diagnóstico microbiológico de microorganismos causantes de patologías diversas, con el objeto de una mejor comprensión de la identificación de los microorganismos por género y especie.

Cabe señalar que al final de la práctica se realizó un cuestionario que tiene por objetivo validar la utilidad de la misma, que con las opiniones de alumnos y profesores establecen un proceso de mejora continua de esta práctica.

II. Objetivos

- Utilizar los procedimientos de los métodos: tradicional y de los métodos modernos de diagnóstico microbiológico para la identificación de microorganismos probables de onicomycosis.
- Utilizar sistema API20 y medios cromogénicos como métodos modernos de diagnóstico.
- Utilizar cepas ATCC de *Candida albicans* como control de calidad en los métodos: tradicional y en los métodos modernos de diagnóstico.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



III. Medidas de bioseguridad

De acuerdo con la publicación de la OMS en 2005 se hace referencia a los peligros relativos que entrañan los microorganismos clasificándolos por grupos de riesgo. Y esta clasificación se utiliza exclusivamente para el trabajo de laboratorio. Existe una relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad y con ello la clasificación del tipo de laboratorio y el equipo de seguridad.

La asignación de un nivel de bioseguridad tiene en consideración el microorganismo (agente patógeno) utilizado, las instalaciones disponibles, el equipo, las prácticas para trabajar con seguridad en el laboratorio. Por ello el nivel de bioseguridad que tiene el laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza es nivel 1.

Grupo de riesgo	Nivel de bioseguridad	Tipo de laboratorio	Prácticas de laboratorio	Equipo de seguridad
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación	Técnicas microbiológicas apropiadas	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto

Grupo de riesgo 1 (riesgo individual y poblacional escaso o nulo): microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o en animales.

Cada laboratorio debe adoptar un manual de seguridad o de trabajo en el que identifiquen los riesgos conocidos y potenciales y se especifiquen las prácticas y los procedimientos encaminados a eliminar o reducir al mínimo esos riesgos.

A continuación, se mencionan algunos aspectos importantes.



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

**Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis**

Fecha: 30 /09 /2016

Protección personal:

- ✓ Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio. (Fig. 1)
- ✓ Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan entrañar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados. Una vez utilizados, los guantes se retirarán de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos. (Fig. 1)
- ✓ El personal deberá lavarse las manos después de manipular materiales y animales infecciosos, así como antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
- ✓ Se usarán gafas de seguridad, viseras u otros dispositivos de protección cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impactos y fuentes de radiación ultravioleta artificial.
- ✓ Estará prohibido usar prendas protectoras fuera de laboratorio.
- ✓ En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- ✓ La ropa protectora de laboratorio no se guardará en los mismos armarios que la ropa de calle.



Figura 1. Protección personal

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

Zonas de trabajo del laboratorio:

- El laboratorio se mantendrá ordenado y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso, al inicio y al final de cada jornada de trabajo

Manipulación de desechos:

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



IV. Propósito del examen

El diseño de esta práctica está encaminada al diagnóstico microbiológico de patógenos causantes de onicomycosis en uña de pie. Se utilizarán dos métodos: método tradicional y un método moderno de diagnóstico (medios cromogénicos y sistema API 20), empleando cepas ATCC de *C. albicans* como control de calidad. Con el objetivo de conocer los fundamentos y pasos a seguir de los mismos. Por último y de manera significativa se pretende mejorar el proceso de enseñanza y aprendizaje, así como mejorar la preparación académica de los alumnos que cursan el módulo de laboratorio de Microbiología Médica.

Los alumnos tendrán los conocimientos básicos teóricos y prácticos necesarios para cada una de las etapas de control de calidad de la práctica.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

V. Metodología

V.1 Fase Preanalítica

INDICACIONES Y PRECAUCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA

1) Se debe indicar al paciente las siguientes condiciones previas para la toma de muestra.

- No tomar tratamiento antifúngico previo a la toma de muestra, en caso afirmativo se retrasa la toma de muestra una o dos semanas
- Evitar cremas o pomadas en las uñas antes de la toma de muestra.
- No llevar barniz en uñas de los pies.



2) Antes y después de cada procedimiento lavarse las manos correctamente.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

3) Utilizar guantes y cubrebocas.



4) Limpiar la zona con alcohol al 70% o realizar un lavado con jabón, eliminando restos de pomadas, suciedad y restos epidérmicos.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none">Alicate para uñasBisturíAsa micológicaAsa bacteriológicaPortaobjetosCubreobjetosGuantesCubre bocasMechero Fisher	<ul style="list-style-type: none">Hidróxido de potasio (KOH) al 40%Azul de lactofenol	(3) Sabouraud



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

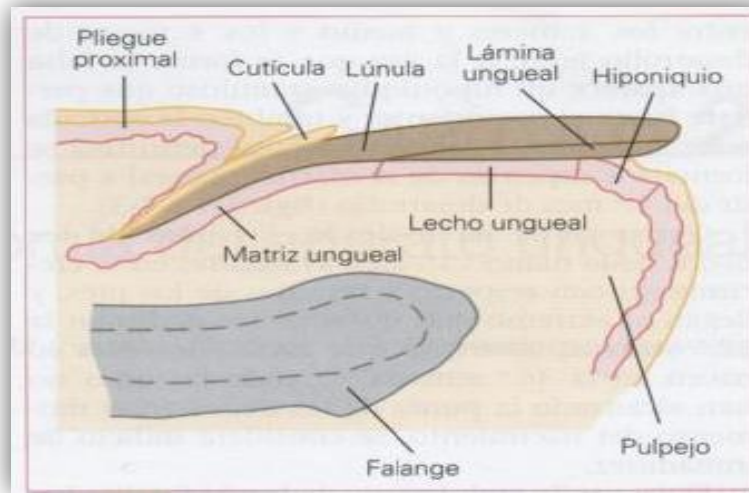
Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA

- 1) Identificar el tipo de lesión, según las modalidades de invasión del aparato ungular, las onicomicosis pueden presentarse en tres formas clínicas principales. Para ello se tendrá en cuenta que la comprensión de la patogenia de las infecciones en la uña requiere el conocimiento de la anatomía y la fisiología de la misma. ^(3,5)



Morfología de uña sana ⁽⁵⁾

Onicomicosis subungueal distal y lateral. Es la más frecuente. La infección se inicia en el borde libre y se extiende en sentido proximal hacia la matriz. Se observa un cambio de color, hiperqueratosis, engrosamiento e irregularidades en la superficie.





UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

Onicomiasis blanca superficial. El hongo invade directamente la lámina ungueal, pudiendo infectar el lecho ungueal y el hiponiquio. La uña muestra un color blanquecino y aspecto quebradizo. Se puede dar la destrucción de la uña.



Onicomiasis distrófica total. Suele tener varios años de evolución. Afecta a la totalidad de la uña, con una intensa hiperqueratosis en el hiponiquio. Lámina ungueal engrosada, abombada o curvada. Puede desprenderse total o parcialmente.



Onicomiasis por Cándida. Se da en uñas expuestas a humedad e hiperhidrosis y previamente alteradas. Los surcos periungueales pueden ser edematosos y dolorosos. Puede drenar una pequeña cantidad de pus blanquecino o amarillento. Por último, tiene lugar una infección crónica de toda la uña, con estrías longitudinales, irregularidades en la superficie, onicolisis y cambios de coloración.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

Onicomycosis subungueal proximal. La menos común en personas sanas. La infección se inicia en la cutícula o eponiquio y se extiende en sentido distal hacia el borde libre. Se observan lesiones blanquecinas en la zona de la lúnula. Es la forma más infrecuente, pero más significativa, por cuanto afecta casi con exclusividad a individuos inmunodeprimidos, sobre todo HIV+.



2) Una vez identificado el tipo de lesión en la uña se procede a recortar con tijeras o alicates de podólogo para uñas de pies, procurando llegar hasta la frontera entre la invasión fúngica y la zona de uña sana.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016



3) Raspar con el bisturí, procurando que la muestra quede en el portaobjetos (obtener suficiente muestra para el examen directo y para los medios de cultivo: Sabouraud).



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

V.2. Fase Analítica

En esta fase se describen los métodos: tradicional (A) y el método moderno de diagnóstico (B), los cuales son explicados a manera de resumen en la siguiente tabla (Tabla 2), mostrando el procedimiento a seguir para el diagnóstico microbiológico a partir de muestra clínica o partiendo de cepas ATCC. Posteriormente ambos métodos (A y B) serán detallados de forma clara, precisa y sencilla

Tabla 2. Procedimiento del método: tradicional y método moderno.

(A) Método tradicional		(B) Método moderno	
Origen de la muestra a analizar		Origen de la muestra a analizar	
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
<p>Realizar las siguientes actividades:</p> <p>Examen directo.</p> <p>Cultivo en agar Sabouraud.</p> <p>↓</p> <p>Incubar a 25 °C por dos semanas.</p> <p>↓</p> <p>Examen macroscópico y microscópico.</p> <p>↓</p> <p>Microcultivo para identificación de hongos filamentosos.</p> <p>↓</p> <p>Examen microscópico utilizando objetivos 10X y 40X.</p>		<p>Realizar las siguientes actividades:</p> <p>Manejo del sistema API20C:</p> <p>↓</p> <p>A partir de un cultivo joven de la levadura, realizar una suspensión en 2 ml de agua destilada estéril hasta obtener una turbidez igual a 2 de McFarland.</p> <p>↓</p> <p>Con la ayuda de la micropipeta, transferir 100 microlitros (2 gotas) de esta suspensión a una ampolla de C Médiu y homogeneizar evitando la formación de burbujas.</p> <p>↓</p> <p>Llenar las cúpulas con la suspensión evitando la formación de burbujas y apoyando la punta de la micropipeta sobre el borde de la cúpula.</p> <p>↓</p> <p>Cerrar las cámaras de incubación.</p> <p>↓</p> <p>Incubar a 30 °C durante 24-72 horas.</p> <p>Manejo de medios cromogénicos</p> <p>↓</p> <p>Extender la muestra para aislamiento en la superficie del medio.</p> <p>↓</p> <p>Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 20 – 48 horas en posición invertida. Se requiere una incubación de 42 horas para que se desarrolle por completo el color de las colonias <i>Candida</i>.</p> <p>↓</p> <p>Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella.</p>	

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

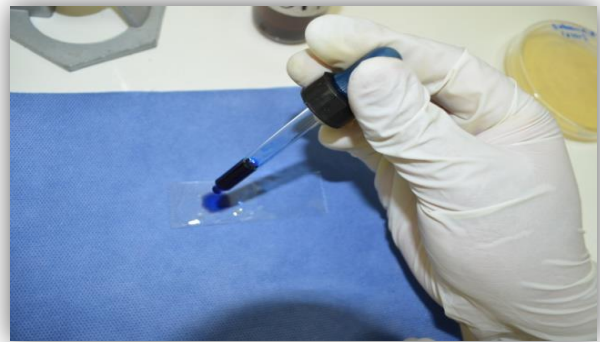
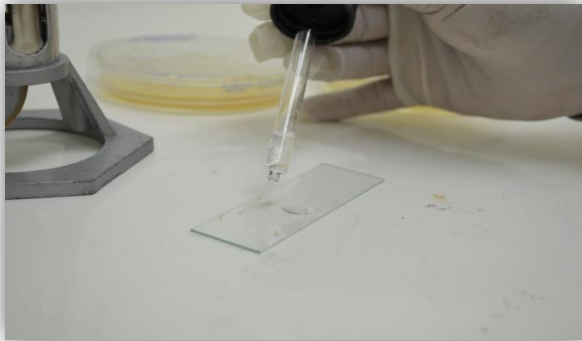
Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

A. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO TRADICIONAL

EXAMEN DIRECTO

- 4) A la muestra obtenida en el portaobjetos se le coloca una gota de KOH al 40% y una gota de colorante azul de lactofenol.



- 5) Cubrir con el cubreobjetos y calentar ligeramente la preparación a la llama de un mechero evitando la ebullición, hasta obtener una muestra completamente dissociada, es decir, hasta que el material queratinoso se haya disuelto bajo la acción del KOH al 40%.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

- 6) Observar la preparación al microscopio, utilizando los aumentos 10X y 40X e identificar las estructuras fúngicas.



CULTIVO

- 7) Depositar una pequeña cantidad de muestra de uña en la superficie del medio de cultivo Sabouraud en tubos o en cajas Petri (trabajar siempre junto a la llama del mechero).



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

- 8) Incubar las cajas o tubos inoculados a 25 °C. Cuando se prolonga más allá de dos semanas, es aconsejable disponer las placas en bolsas de plástico cerradas, para evitar la desecación del medio.



➤ **EXAMEN MACROSCÓPICO:**

- 9) Observar la morfología colonial característica del patógeno aislado en los medios de cultivo. Realizando la observación con el siguiente orden:
- Color: tanto anverso (micelio aéreo) como del reverso (micelio vegetativo).
 - Superficie: pulverulenta, vellosa, aterciopelada, algodonosa, etc.
 - Relieve: plano, crateriforme, elevado cupuliforme, radiado, etc.
 - Borde: entero, con vellosidades, etc.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016



Crecimiento a la semana de inoculación.



Crecimiento a las 2 semanas de inoculación.

10) Resembrar en medio Sabouraud en caso de obtener dos microorganismos (levaduras y hongo filamentoso), para la correcta identificación del hongo filamentoso.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

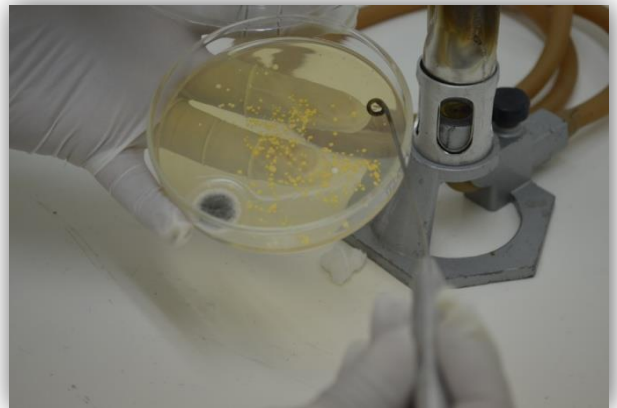
Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

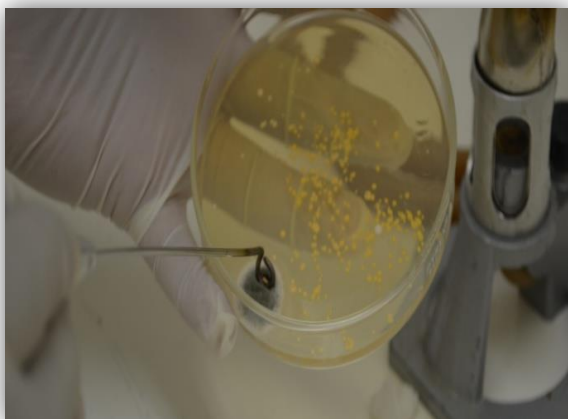
11) Quemar al rojo vivo el asa micológica a utilizar.



12) Enfriar el asa en el agar sin tocar las colonias.



13) Tocar con el asa la colonia del hongo filamentoso.



14) Tocar el nuevo agar con el asa que tocó la colonia del hongo filamentoso.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



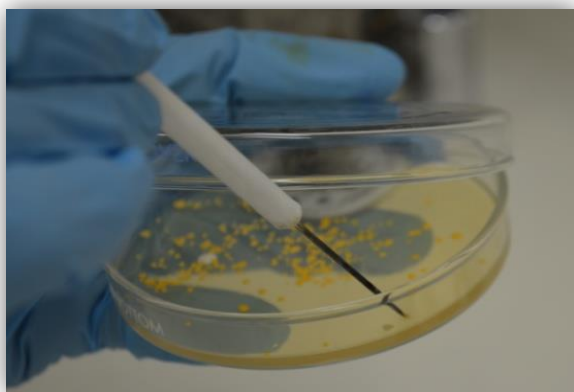
UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

➤ EXAMEN MICROSCÓPICO:

15) Obtener una pequeña muestra con una asa micológica y depositarla en un portaobjetos.



16) Colocar una gota de azul de lactofenol y colocar encima un cubreobjetos.



17) Observar la estructura fúngica en el microscopio utilizando objetivos 10X y 40X.

18) Realizar un microcultivo para la identificación correcta de hongos filamentosos.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



B. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO MODERNO

MEDIOS CROMOGÉNICOS

METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> Asa bacteriológica Guantes Cubrebocas 	-----	<ul style="list-style-type: none"> (3) CHROMagar Candida

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



- 2) Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 20 - 48 hrs en posición invertida. Se requiere una incubación de 42 horas para que se desarrolle por completo el color de las colonias *Candida*.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

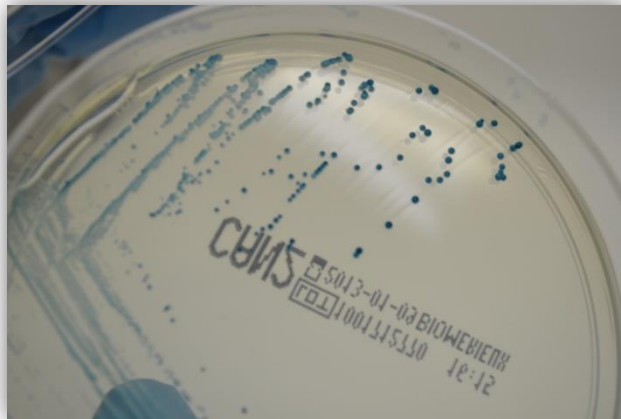


UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

- 3) Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella.
- 4) Después de la incubación, las placas de las muestras con hongos presentarán crecimiento. Se recomienda efectuar la lectura de las placas sobre un fondo blanco. Si están presentes. (17, 18)



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

API 20C AUX

METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Micropipeta ▪ Guantes ▪ Cubrebocas 	-----	-----

PREPARACIÓN DE LA TIRA

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



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016

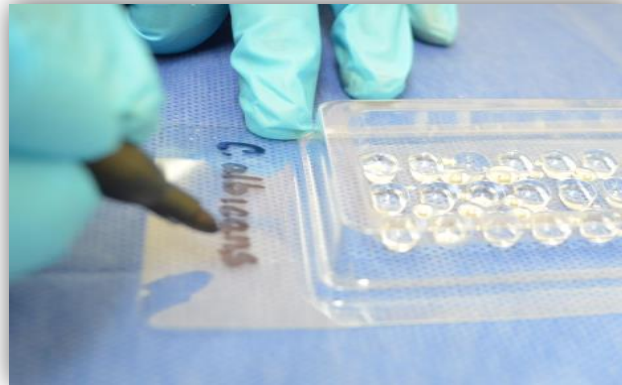


UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

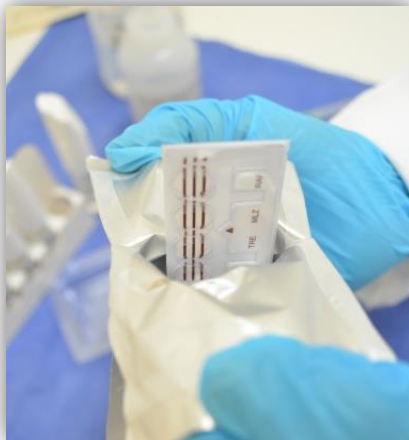
Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

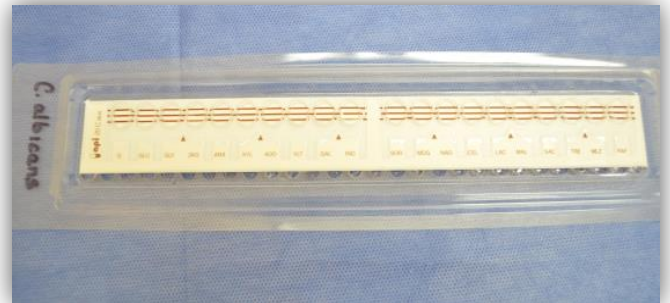
2) Escribir la referencia de las cepas en la lengüeta lateral de la cámara. (No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar extraviada durante la manipulación).



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



4) Colocar la galería en la cámara de incubación.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

5) Abrir una ampolla de API 20 Aux:

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



Ampolla y protector



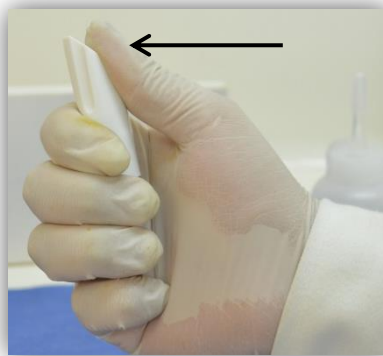
a)



b) y c)



d)



d)



e) y f)

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

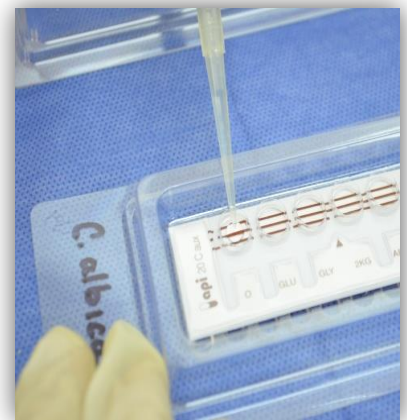
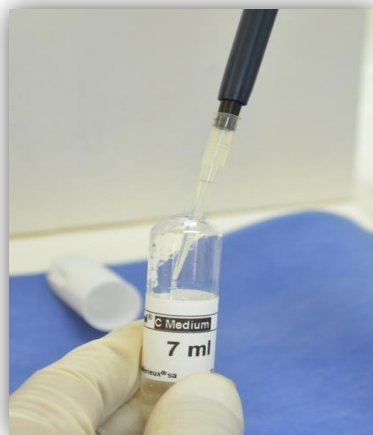
Fecha: 30 /09 /2016

6) A partir de un cultivo joven de la levadura a identificar, realizar una suspensión en 2 ml de agua destilada estéril hasta obtener una turbidez igual a 2 de McFarland. Se recomienda utilizar cultivos jóvenes (18-24 horas). Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación.



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

7) Con la ayuda de la micropipeta, transferir 100 microlitros (2 gotas) de esta suspensión a una ampolla de C Medium y homogeneizar evitando la formación de burbujas. Llenar las cúpulas con la suspensión evitando la formación de burbujas y apoyando la punta de la micropipeta sobre el borde de la cúpula.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016

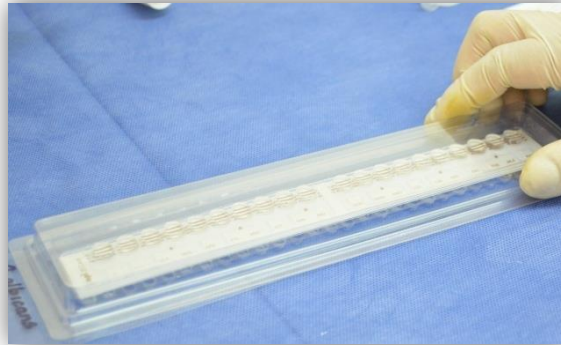


UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis

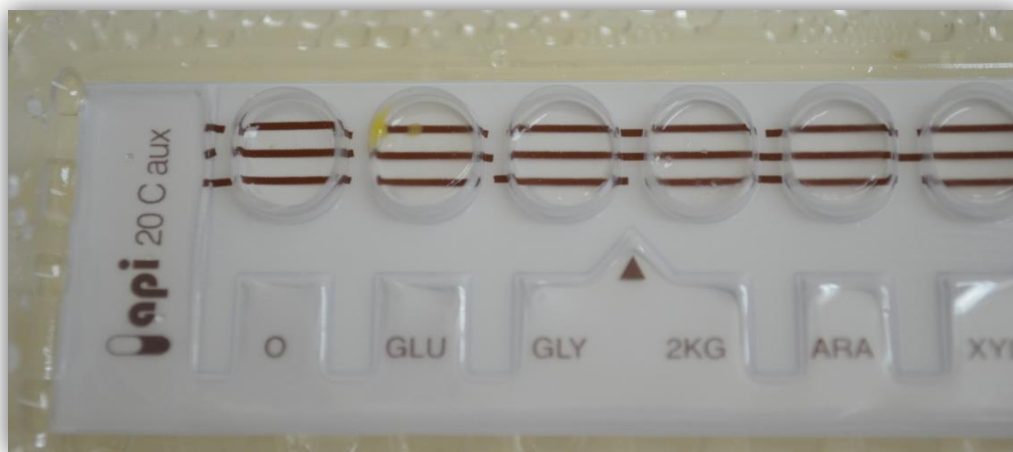
Fecha: 30 /09 /2016

8) Cerrar las cámaras de incubación e incubar a 30 °C durante 24-72 horas.



LECTURA DE LA GALERÍA

9) Tras la incubación observar el crecimiento de las levaduras en comparación con la cúpula del control negativo. Una cúpula más turbia que el testigo indica una reacción positiva que debe anotarse en la hoja de resultados. La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con las tablas de lectura que proporciona el proveedor, y anotando el resultado como positivo o negativo. (ANEXO I)



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

DETERMINACIÓN DEL PERFIL NUMÉRICO E IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO.

10) Del conjunto de reacciones y resultados se obtiene un perfil numérico de 7 cifras. Los pocillos están separados en grupos de tres, en total tenemos 7 grupos de tres tubos o triplete.

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

- ✓ Si la reacción es negativa se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva se pone: 1 si es el primer pocillo de un triplete (si hay presencia de turbidez o crecimiento de levaduras en el pocillo), 2 si es el segundo, 4 si es el tercero.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. ⁽⁹⁾



11) Reportar los resultados de las pruebas en el formato. (ANEXO I)

V.3. Fase Postanalítica

De acuerdo con los resultados de las pruebas realizadas, se colocará el nombre del microorganismo patógeno identificado, así como la susceptibilidad a antifúngicos en el formato de resultados: informe del laboratorio. (ANEXO II)

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

**Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis**

Fecha: 30 /09 /2016

VI. Referencias

1. Lepori L. Mini atlas micosis cutánea. Buenos Aires: E. C. S. A; 2005
2. Koneman E., Allen S., Janda W., Schreckenberger P., Winn W. Diagnóstico microbiológico texto y atlas color. 5ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2002.
3. Ballesté R., Mousqués N., Gezuele E. Onicomycosis. Revisión del tema. Rev Med Uruguay. 2003; 19: 93-106.
4. Fernández C, Mazziotta D. Gestión de la Calidad en el laboratorio clínico. Buenos Aires: Panamericana; 2005.
5. Martínez A. Podología atlas de cirugía ungueal. Madrid: Médica Panamericana; 2006.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

ANEXO I. Formato de resultados método tradicional

TINCIÓN DE GRAM

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

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

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

TINCIONES ESPECIALES

CLAVE CEPA			
NOMBRE TINCIÓN			
ESTRUCTURA DEL MICROORGANISMO			
PRESENCIA Y ABUNDANCIA			

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

ANEXO II: Formato de resultados método moderno

API 20 AUX

CEPA	O	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	Identificación	
1																						
2																						
3																						

MEDIO CROMOGENICO

MORFOLOGÍA COLONIAL

Clave Cepa			
Medio Cromogénico			
Tamaño			
Forma			
Borde			
Color			
Superficie			
Luz Reflejada			
Luz Transmitida			
Crecimiento			
Otras ¹			

¹ Características que dependen del medio de cultivo: halos.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 36 de 40

UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

**Práctica: Aislamiento de hongos de uñas
causantes de micosis**

Fecha: 30 /09 /2016

ANEXO III. Formato de informe de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

FOLIO: _____ EDAD: _____ SEXO: (M) (F)

LOCALIDAD: _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE: _____

ESTUDIOS REALIZADOS

VALORES DE REFERENCIA

OBSERVACIONES

SELLO DEL LABORATORIO

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



ANEXO IV. Principio del método moderno: API 20C AUX y medios cromogénicos

API 20C AUX

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

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

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

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

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

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

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

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

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

A partir de una colonia crecida en agar Sabouraud inocular una galería API 20C AUX. La galería API 20 C AUX se compone de 20 cúpulas con sustratos deshidratados que permiten realizar 19 pruebas de asimilación. Las cúpulas se inoculan con un medio mínimo semisólido y las levaduras sólo se reproducen si son capaces de utilizar el sustrato correspondiente. Permite identificar un total de 34 especies diferentes.

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

MEDIOS CROMOGÉNICOS

Medios selectivo-diferenciales

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

Para ese propósito se utilizan azúcares como el manitol, la lactosa, el sorbitol y otros, junto con un indicador de pH (rojo neutro, azul de bromotimol, etc.).

En la actualidad, los medios selectivo-diferenciales tienden a prepararse utilizando sustancias cromogénicas. Los sustratos enzimáticos cromogénicos son compuestos que actúan como sustratos para enzimas específicas y cambian de color debido a la acción de la enzima sobre el sustrato.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 2: Piel y músculo esquelético

Práctica: Aislamiento de hongos de uñas causantes de micosis

Fecha: 30 /09 /2016

Dichas sustancias son productos químicos de síntesis que son incoloros cuando se unen a sustratos naturales por enlaces que son hidrolizados por enzimas microbianas específicas.

Cuando la enzima microbiana hidroliza el enlace, se libera el enlace cromogénico, que adquiere un color intenso. Así, por ejemplo, la galactosa se une a un colorante, el ortonitrofenol (ONF), por un enlace químico que es reconocido por una enzima bacteriana, la β -galactosidasa, cuya función natural es reconocer e hidrolizar el enlace entre la galactosa y la glucosa (que constituyen la lactosa). El complejo galactosa-ONF es incoloro, pero cuando es hidrolizado por la β -galactosidasa y se libera el ONF, éste adquiere un intenso color amarillo. La aparición de ese color en la colonia y a su alrededor indica la presencia de la enzima. Algunas enzimas son específicas de un género, una especie o propias de un reducido número de especies, por lo que su detección permite su identificación. ^(9,16)

CHROMagar Candida Medium es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento e identificación para *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. Inhibe bacterias y también puede utilizarse como medio de aislamiento selectivo para otras especies de levaduras y para hongos filamentosos.

Después de la incubación, las placas de las muestras con hongos presentarán crecimiento. Las colonias de *C. albicans* presentan un color de verde claro a mediano, las colonias de *C. tropicalis*, de azul verdoso a azul metálico y las colonias de *C. krusei*, rosado claro con borde blancuzco.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



ANEXO V. Cuestionario

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 55

UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

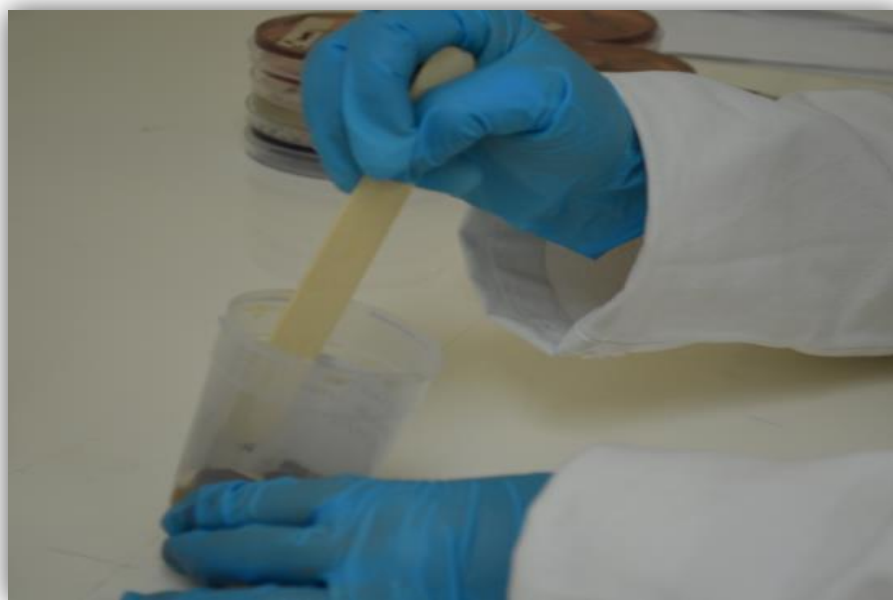
Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

PRÁCTICA

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES BACTERIANAS DE TRACTO GASTROINTESTINAL MEDIANTE COPROCULTIVO



ELABORADO POR:

Q.F.B. ANA LAURA LORETO PÉREZ

M. en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Q.F.B. MANUEL ORDUÑA SÁNCHEZ

Inicio

Proyecto apoyado por PAPIME 209012

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 3 de 55

UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	5
II. OBJETIVOS.....	10
III. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	10
IV. PROPÓSITO DEL EXAMEN	12
V. METODOLOGÍA.....	13
V.1. Fase Preanalítica.....	13
V.2. Fase Analítica.....	17
V.3. Fase Postanalítica	41
VI. REFERENCIAS	42
ANEXO I. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO TRADICIONAL.....	43
ANEXO II. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO.....	45
ANEXO III. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS.....	49
ANEXO IV. FORMATO DE INFORME DE LABORATORIO.....	51
ANEXO V. PRINCIPIO DEL MÉTODO MODERNO: API 20 Y MEDIOS CROMOGÉNICOS	52
ANEXO VI. CUESTIONARIO	55

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



I. Introducción

Alguna vez en la vida todos experimentamos una diarrea. En general es poco más que una deposición acuosa molesta. Sin embargo, en los países en desarrollo es una de las causas principales de mortalidad infantil.

La enfermedad diarreica es la tercera causa de muerte a nivel mundial, precedida solo por las infecciones respiratorias y las perinatales. Se estiman cuatro millones de muertes anuales por complicaciones de las diarreas, en niños menores de cinco años.

La diarrea se ubica en un extremo del espectro de las infecciones intestinales y consiste en la pérdida de electrolitos y líquido, algunas veces en grandes cantidades. El ejemplo extremo de este problema es el cólera; "la diarrea del viajero" es una forma más leve en los adultos. En el otro extremo del espectro se hallan la diarrea hemorrágica y la disentería, enfermedades que ocurren cuando ciertos microorganismos invaden la mucosa intestinal, lo cual lleva a la inflamación y al daño tisular local.

Se produce una diarrea secretora cuando los microorganismos causales son capaces de colonizar el tubo digestivo. En todos los casos estos agentes deben superar múltiples defensas del huésped en el intestino delgado o grueso. Los patógenos también pueden producir poderosas toxinas que actúan en el intestino, denominadas enterotoxinas. Está involucrada una amplia variedad de bacterias diferentes, convenientemente denominadas "patógenos entéricos".⁽¹⁾

La diarrea infecciosa (evacuaciones intestinales frecuentes o sueltas, o de ambos tipos) se da en seis síndromes clínicos:

- **Intoxicación alimentaria:** A menudo se usa para referirse a cualquier enfermedad gastrointestinal consecutiva a la ingestión de alimentos; estrictamente significa enfermedad causada por alimentos que contienen toxina preformada.



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

- **Gastroenteritis:** Produce náuseas, vómito y diarrea. Puede haber malestar abdominal, cólicos y fiebre. Las causas más comunes son *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, especies de *Salmonella* y virus, entre los que se incluyen Rotavirus y Norovirus. Son causas más raras *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Yersinia enterocolitica*.
- **Disentería:** Diarrea con sangre y moco. Son comunes el dolor abdominal, los cólicos y la fiebre. La causa habitual es la infección invasiva del intestino grueso (por *E. histolytica* o *Shigella spp.*).
- **Enterocolitis:** Inflamación del intestino grueso y del intestino delgado.
- **Diarrea del viajero:** Enfermedad diarreica relacionada con viajes.
- **Cólera:** Causas por *V. cholerae*; pérdida masiva de líquido por defecación. (2)

La mayoría de las bacterias que causan enfermedades diarreicas pertenece a una gran familia de bacilos gramnegativos, las Enterobacteriaceae, y algunos pertenecen a la familia Vibrionaceae.(1)

Las enterobacteriáceas son un vasto grupo heterogéneo de bacilos gramnegativos cuyo hábitat natural es el intestino de humanos y animales. Esta familia incluye muchos géneros (por ejemplo, *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* y otros). Algunos microorganismos entéricos, como *E. coli*, forman parte de la flora normal e incidentalmente causan enfermedad, en tanto que otros, salmonelas y shigelas, con gran frecuencia son patógenas para humanos.

La familia *Enterobacteriaceae* muestra las siguientes características: son bacilos gramnegativos dotados de motilidad por flagelos peritricos o carentes de motilidad; crecen sobre peptona o medios con extracto de carne sin adición de cloruro de sodio ni otros suplementos; crecen bien en agar de McConkey; crecen en condiciones aerobias y anaerobias (anaerobios facultativos); fermentan la glucosa en vez de oxidarla y con frecuencia producen gas; son catalasa positivos, oxidasa negativos y reducen el nitrato en nitrito; poseen una estructura antigénica compleja y producen varias toxinas y otros factores de virulencia. (3)

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

El diagnóstico definitivo de las infecciones gastrointestinales bacterianas pasa por aislamiento del microorganismo en un coprocultivo. Para identificar al patógeno hay que recurrir a medios de cultivos enriquecidos, selectivos o diferenciales debido al alto grado de contaminación de estas muestras.

El coprocultivo es una prueba diagnóstica para el aislamiento e identificación de bacterias patógenas causantes de diarrea acuosa, diarrea hemorrágica o disentería. Los casos en los que se realiza un coprocultivo son ante la sospecha de bacterias entéricas invasivas como *Salmonella* y *Shigella*, además *Yersinia* y *Vibrio*, mediante la observación del cuadro clínico, sobre todo de la presencia de fiebre.

Los leucocitos fecales son característicos de las diarreas inflamatorias. Suelen presentarse en infecciones bacterianas que invaden la pared intestinal como *E.coli enteroinvasiva*, *Shigella* y *Salmonella* spp, en colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn y en diarreas secundarias a antibióticos.

La ausencia de leucocitos fecales es típica de diarrea por virus, parásitos, bacterias enterotoxigénicas: *V. cholerae*, *B. cereus*, *E. coli* enterotoxigénica y portadores crónicos de *Salmonella*.

Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

Fase preanalítica: es importante, y de ella depende en gran medida el resultado final. Aquí se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma. Se indica las propiedades de los reactivos que serán empleados, y en este caso la correcta manipulación de las cepas ATCC, más representativas a utilizar para cada módulo.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

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

El control de estos sistemas se establece, y se describen las especificaciones y características de los instrumentos, sus normas de funcionamiento, calibración, o bien se hace referencia al manual de instrucciones del fabricante. Se explica ampliamente como realizar un examen directo para poder efectuar una interpretación, de igual manera se explican las propiedades de los medios cultivos selectivos, diferenciales, de transporte, medios de enriquecimiento y pruebas bioquímicas y especiales. También se explica los métodos modernos de diagnóstico como el sistema API 20 y el uso de los medios cromogénicos.

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

Sin embargo aún establecidas estas tres etapas en escrito, el control de calidad es responsabilidad de la persona a cargo del área de microbiología, que debe asegurarse de que las pruebas realizadas sean procesadas con calidad y de que los resultados sean confiables, reproducibles y tan exactos como sea posible, siguiendo los procedimientos establecidos. Los resultados se deben de entregar en un informe que sea legible y fácil de comprender. (4)

En el presente trabajo se establecen los métodos tradicionales y métodos modernos de diagnóstico (sistema API20 y medios cromogénicos) empleados para el diagnóstico microbiológico de enterobacterias patógenas que afectan el tracto gastrointestinal, el estudio se realizará en el laboratorio de la FES Zaragoza, para posteriormente implementarlo en el módulo de Microbiología Médica y en la clínica multidisciplinaria de la FES Zaragoza. Debido a que no se cuenta con prácticas desde el punto de vista anatómico, es decir, prácticas que permitan el diagnóstico de microorganismos que causan patologías en aparatos y sistemas del cuerpo humano.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 9 de 55

UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

Para ello, se pretende diseñar prácticas con un formato novedoso y entendible, siguiendo los criterios de control de calidad. Estas prácticas están encaminadas al diagnóstico microbiológico de microorganismos causantes de patologías diversas, con el objeto de una mejor comprensión de la identificación de los microorganismos por género y especie.

Cabe señalar que al final de la práctica se realizó un cuestionario que tiene por objetivo validar la utilidad de la misma, que con las opiniones de alumnos y profesores establecen un proceso de mejora continua de esta práctica.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



II. Objetivos

- Utilizar los procedimientos de los métodos: tradicional y de los métodos modernos de diagnóstico microbiológico para la identificación de enterobacterias patógenas que afectan el tracto gastrointestinal.
- Utilizar sistema API20 y medios cromogénicos como método moderno de diagnóstico.
- Utilizar cepas ATCC de enterobacterias patógenas (*Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sonnei*) como control de calidad en los métodos: tradicional y en los métodos modernos de diagnóstico.

III. Medidas de bioseguridad

De acuerdo con la publicación de la OMS en 2005 se hace referencia a los peligros relativos que entrañan los microorganismos clasificándolos por grupos de riesgo. Y esta clasificación se utiliza exclusivamente para el trabajo de laboratorio. Existe una relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad y con ello la clasificación del tipo de laboratorio y el equipo de seguridad.

La asignación de un nivel de bioseguridad tiene en consideración el microorganismo (agente patógeno) utilizado, las instalaciones disponibles, el equipo, las prácticas para trabajar con seguridad en el laboratorio (Tabla 1). Por ello el nivel de bioseguridad que tiene el laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza es nivel 1.

Tabla 1. Relación del grupo de riesgo con el nivel de bioseguridad, las prácticas y el equipo.

Grupo de riesgo	Nivel de bioseguridad	Tipo de laboratorio	Prácticas de laboratorio	Equipo de seguridad
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación	Técnicas microbiológicas apropiadas	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto

Grupo de riesgo 1 (riesgo individual y poblacional escaso o nulo): microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o en animales.



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

Cada laboratorio debe adoptar un manual de seguridad o de trabajo en el que identifiquen los riesgos conocidos y potenciales y se especifiquen las prácticas y los procedimientos encaminados a eliminar o reducir al mínimo esos riesgos.

A continuación se mencionan algunos aspectos importantes en cuanto a las medidas de bioseguridad.

Protección personal:

- ✘ Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
- ✘ Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan entrañar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados. Una vez utilizados, los guantes se retirarán de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos (Figura 1).
- ✘ El personal deberá lavarse las manos después de manipular materiales y animales infecciosos, así como antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
- ✘ Se usarán gafas de seguridad o viseras u otros dispositivos de protección cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impactos y fuentes de radiación ultravioleta artificial.
- ✘ Estará prohibido usar prendas protectoras fuera de laboratorio.
- ✘ En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- ✘ La ropa protectora de laboratorio no se guardará en los mismos armarios o taquillas que la ropa de calle.



Figura 1. Protección personal

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



Zonas de trabajo del laboratorio:

- El laboratorio se mantendrá ordenado y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso, al inicio y al final de cada jornada de trabajo. (5)

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



IV. Propósito del examen

El diseño de esta práctica va encaminado al diagnóstico microbiológico de enterobacterias patógenas que afectan el tracto gastrointestinal. Se utilizarán dos métodos: método tradicional y un método moderno de diagnóstico (medios cromogénicos y sistema API20), empleando cepas ATCC de enterobacterias patógenas, que se considerarán como control de calidad. Con el objetivo de conocer los fundamentos y pasos a seguir de los mismos. Por último y de manera significativa se pretende mejorar el proceso de enseñanza y aprendizaje, así como mejorar la preparación académica de los alumnos que cursan el módulo de laboratorio de Microbiología Médica. Los alumnos tendrán los conocimientos básicos teóricos y prácticos necesarios para cada una de las etapas de control de calidad de la práctica.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



V. Metodología

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

En esta primera sección de la metodología se hará mención de la fase preanalítica. La fase preanalítica es importante, y de ella depende en gran medida el resultado final. Aquí se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma.

V.1. Fase Preanalítica

INDICACIONES Y PRECAUCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA

Para detectar patógenos entéricos en el laboratorio es indispensable que se cumpla con las pautas apropiadas para la recolección y el transporte de la muestra. Se debe indicar al paciente las siguientes condiciones previas para la toma de muestra.

- 1 Primera muestra de heces de la mañana, se recogerá en un recipiente de plástico de boca ancha con tapa hermética, de preferencia que sea estéril, estos recipientes deberán estar libres de conservantes, detergentes o iones metálicos. Evitar la contaminación con orina y papel higiénico.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

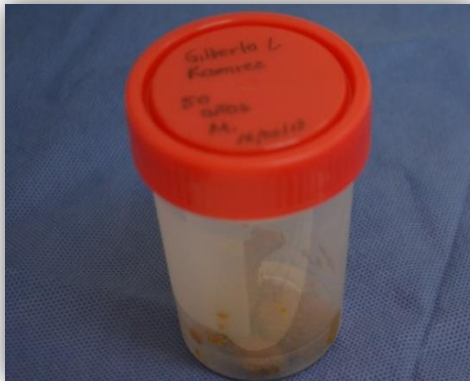
Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

2 Para la mayoría de los procedimientos el volumen de la muestra de heces líquidas debe ser menor o igual a 5 ml y de 1-2 gramos heces sólidas (del tamaño de una nuez). La muestra debe llevarse al laboratorio antes de 2 horas para su estudio.

3 Indicar siempre el juicio diagnóstico de presunción y los datos del paciente.

4 Solicitar las investigaciones especiales explícitamente (*C. difficile*, *Vibrio* spp., *E. coli* enterohemorrágico (O157: H7), etc.), acompañada de datos clínicos y epidemiológicos (Si con la primera muestra no se detecta la presencia de enteropatógenos, es necesario enviar en los días siguientes, dos muestras consecutivas adicionales). ⁽⁶⁾



5 Antes y después de cada procedimiento lavarse las manos correctamente.

6 Utilizar guantes de látex y cubrebocas.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	REACTIVOS PARA PRUEBAS BIOQUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Asa bacteriológica ▪ Portaobjetos ▪ Cubreobjetos ▪ Guantes ▪ Cubrebocas ▪ Mechero Fisher ▪ Gradilla 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colorantes para tinción de Gram: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Cristal violeta ✓ Lugol ✓ Alcohol-Cetona ✓ Safranina 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar McConkey ▪ Agar Salmonella-Shigella ▪ Agar Sulfito Bismuto ▪ Agar Verde brillante 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Citrato de Simmon's ▪ Fenilalanina desaminasa ▪ LIA ▪ MIO ▪ SIM ▪ TSI ▪ Urea de Christensen ▪ Caldo nitrato ▪ Caldo RM-VP ▪ Rojo de fenol + CHO's ▪ Lactosa ▪ Trehalosa ▪ Manitol ▪ O/F Hugh Leifson + maltosa con/sin sello de nujol 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fenilalanina desaminasa ▪ Indol ▪ Caldo nitrato ▪ RM-VP
				CEPAS ATCC
				<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>E. coli</i> ▪ <i>S. typhi</i> ▪ <i>S. sonnei</i> ▪ <i>K. pneumoniae</i>



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

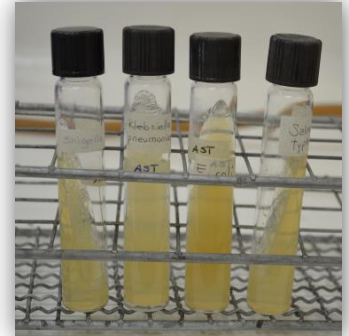
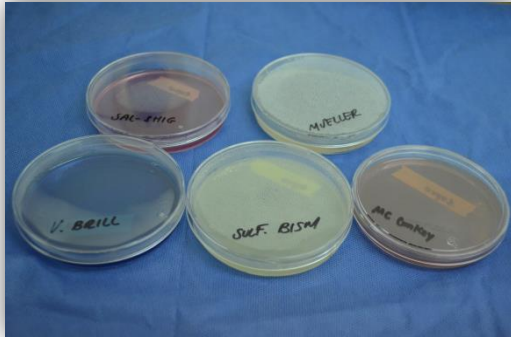
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016



PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA.

Se deben seguir las indicaciones establecidas para la recolección de la muestra, tal como se mencionó en las indicaciones y precauciones para la toma de muestra, de igual manera se deben tomar en cuenta los siguientes puntos:

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

- Si el procesamiento se retrasa más de dos horas para la realización de los cultivos bacterianos, se debe mantener en refrigeración a 4 °C para evitar el sobrecrecimiento de la flora normal que puede enmascarar o destruir a los enteropatógenos.
- También se puede utilizar un medio de transporte. El medio de transporte de **Cary-Blair** mantiene en forma óptima la viabilidad de los patógenos bacterianos intestinales, incluidos *Campylobacter* y especies de *Vibrio* (Algunos fabricantes producen un frasco ampolla pequeño con medio de Cary-Blair y una cuchara de plástico en su interior adecuada para la recolección de las muestras).
- Como las especies de *Shigella* son frágiles, un medio de transporte constituido por partes iguales de glicerol y amortiguador fosfato 0.033M (pH 7.0) favorece la viabilidad de *Shigella* mejor que el medio de Cary-Blair. Para este propósito el mantenimiento en el medio de transporte con glicerol a temperaturas bajas en refrigeración o congelador brinda mejores resultados.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



- Si no se dispone de heces, es posible usar un hisopo rectal, en particular en recién nacidos y en adultos severamente debilitados. Si se sospecha de una infección por *Campylobacter* el hisopo debe colocarse de inmediato en el medio de transporte de Cary-Blair para evitar la desecación.



V.2. Fase Analítica

En esta fase se describen los métodos: tradicional (A) y el método moderno de diagnóstico (B), los cuales son explicados a manera de resumen en la siguiente tabla (tabla 2), mostrando el procedimiento a seguir para el diagnóstico microbiológico a partir de muestra clínica o partiendo de cepas ATCC. Posteriormente ambos métodos(A y B) serán detallados de forma clara, precisa y sencilla.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera


FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



Tabla 2. Procedimiento del método: tradicional y método moderno.

(A) Método tradicional		(B) Método moderno	
Origen de la muestra a analizar		Origen de la muestra a analizar	
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
Realizar las siguientes actividades: 1.- Examen macroscópico: aspecto, color, consistencia, etc. 2.- Examen microscópico: -Examen en fresco -Tinción de Gram 		Realizar las siguientes actividades: Manejo de medios cromogénicos Extender la muestra para aislamiento en la superficie del medio. ↓ Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 24 hrs. ↓ En caso de resultado negativo a las 24 hrs, incubar nuevamente durante 24 hrs. ↓ Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella. ↓ Observar colonias después de la incubación.	
Inocular en medios selectivos: <ul style="list-style-type: none"> • McConkey • S-S • SB • VB Incubar placas a 37 °C, 24-48 horas. ↓ Describir morfología colonial de cada uno de los medios inoculados. ↓ Realizar tinción de Gram. ↓ Examen microscópico utilizando objetivos 40X y 100X. ↓ Identificación de bacterias mediante pruebas bioquímicas.		Manejo del sistema API20E: ↓ A partir de una colonia aislada, realizar una suspensión en 5 ml de agua estéril. ↓ Llenar con la suspensión de bacterias los tubos, no la cúpula. ↓ Llenar la cúpula de los pocillos CIT, VP, GEL. ↓ Cubrir con parafina las cúpulas de los pocillos ADH, LDC, ODC, URE, H ₂ S para obtener anaerobiosis. ↓ Poner la tira en su propia cámara húmeda de incubación. ↓ Colocar agua en panal de pocillos de la cámara para proporcionar una atmósfera húmeda durante la incubación. ↓ Cerrar las cámaras de incubación.	

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

Incubar a 37 °C durante 18-24 horas.

↓
Tras la incubación se anotan los resultados inmediatos, determinadas pruebas requieren ser reveladas. Tomando en cuenta el siguiente criterio:

↓
Si la glucosa es positiva y/o tres o más test son positivos se revelan los test que requieren reactivos:

- ↓
- TDA: añadir una gota de FeCl₃ 10%
 - VP: añadir una gota del reactivo 1 (KOH al 40%) y una gota del reactivo 2 (C₂H₅OH).
 - IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs o dimetilamino-cinamaldehído.
 - Oxidasa: es la prueba número 21 y se realiza de forma independiente a la tira. Añadir una gota del reactivo (tetrafenilendiamina) recién preparado.
- ↓

La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo (con las tablas de lectura que proporciona el proveedor).

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

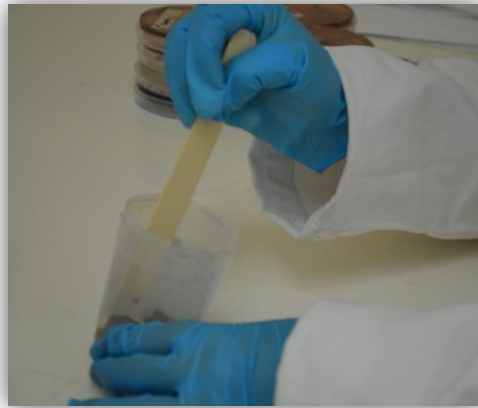
FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



A. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO TRADICIONAL

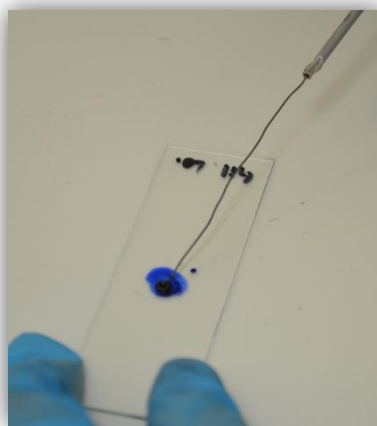
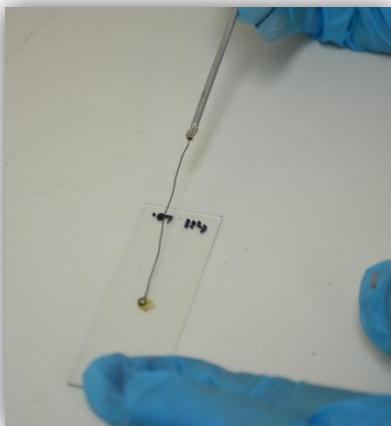
- 1) Realizar un examen macroscópico a la muestra, observando su aspecto, color, consistencia, etc.



- 2) Realizar un examen microscópico: examen en fresco y tinción de Gram.

2.1) EXAMEN EN FRESCO

Se toma con el asa bacteriológica una pequeña cantidad de un área con sangre o moco y con el agregado de una porción igual de azul de metileno, es útil para la detección de leucocitos, que en ocasiones ayudan a diferenciar entre los diversos tipos de síndromes diarreicos. Observar la preparación en el microscopio, utilizando objetivos 10X y 40X.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

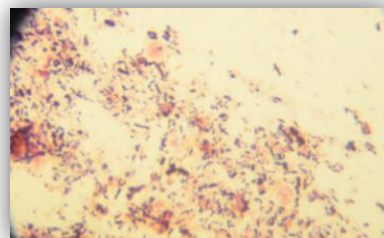
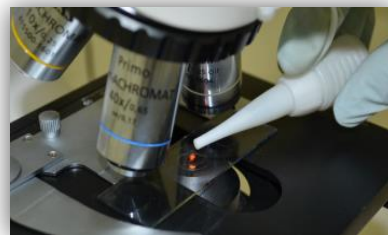
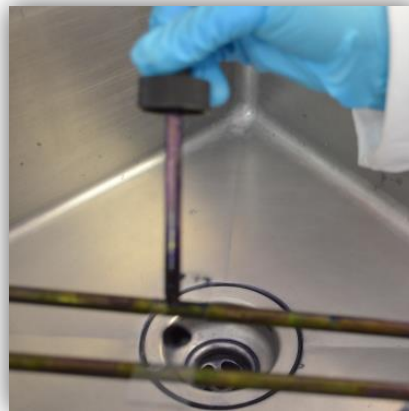
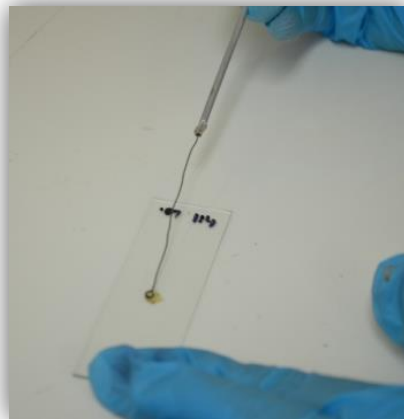
FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



2.2) TINCIÓN DE GRAM

Tomar una pequeña porción de muestra y colocarla en un portaobjetos, posteriormente teñir con la técnica de Gram para la detección de algunos agentes etiológicos y además para detectar leucocitos polimorfonucleares. Observar la preparación en el microscopio, utilizando objetivos 10X y 40X.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

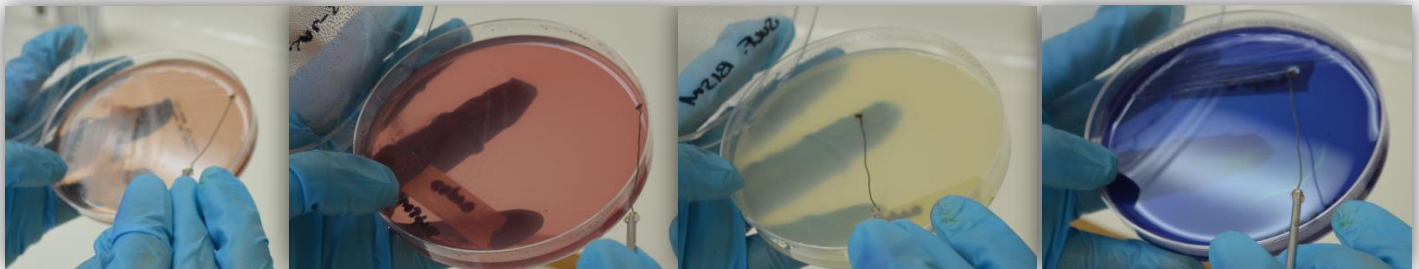
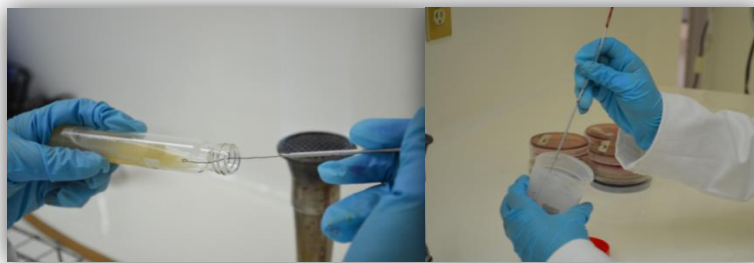
FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



- 3) Inocular la cepa ATCC o la muestra de materia fecal (preferentemente material mucoso, purulento o sanguinolento) directamente en los medios de cultivo: McConkey, S-S, SB, VB por estría cruzada.



- 4) Incubar las placas a 37 °C durante 24 horas.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

5) Observar las características más relevantes de la morfología colonial en cada uno de los medios inoculados, a fin de seleccionar el crecimiento del posible patógeno.

Cepas ATCC inoculadas en:

S. thyphi

S. sonnei

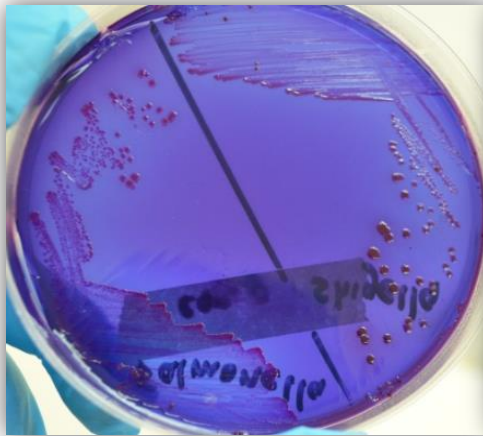
1-agar V.B

2-agar McConkey

3-agar S.B

4-agar S-S

Crecimiento a las 24 horas.



1



2



3



4

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

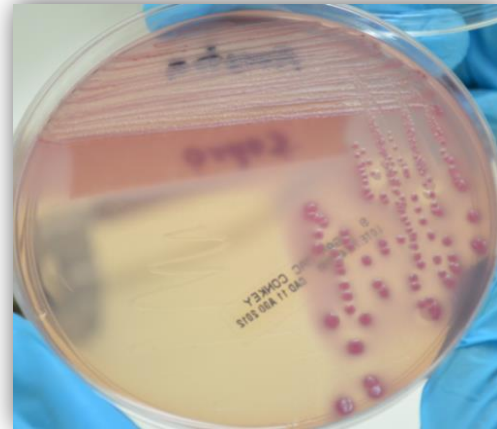
Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

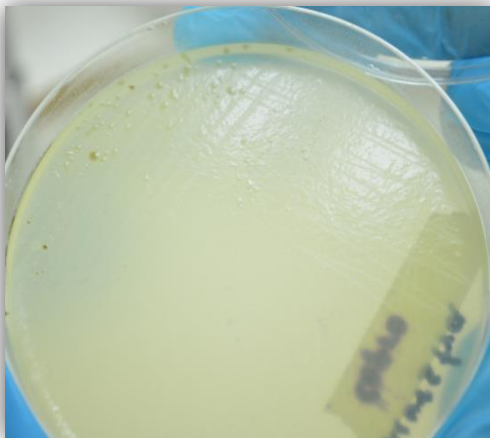
Muestra biológica inoculada en:



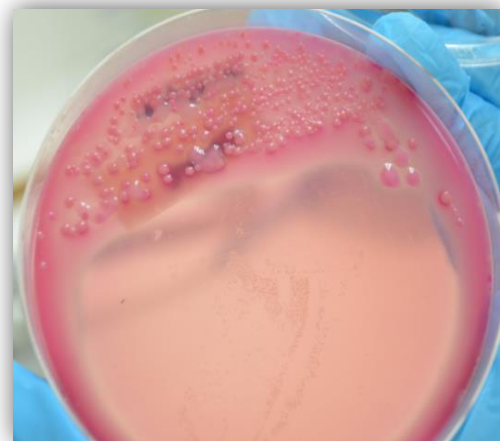
1-agar V.B



2-agar McConkey



3-agar S.B



4-agar S-S

Crecimiento a las 24 horas.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

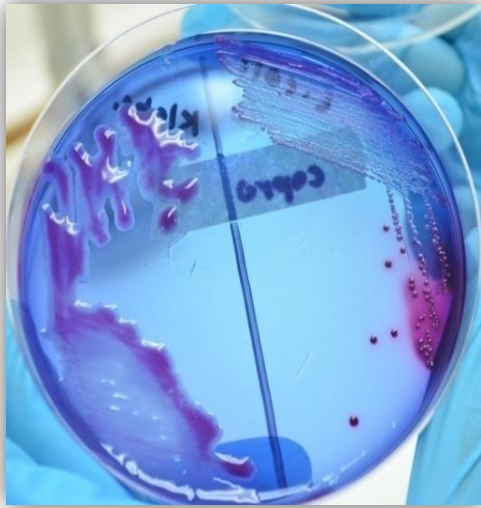
Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016

Cepas ATCC inoculadas en:

K. pneumoniae

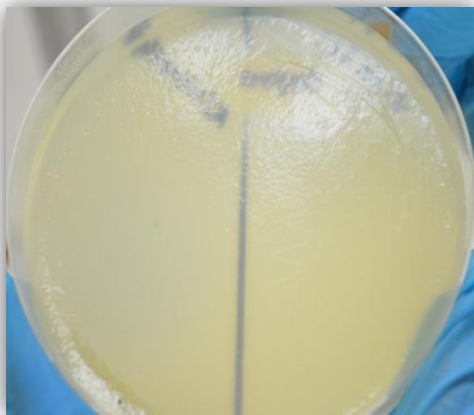
E. coli



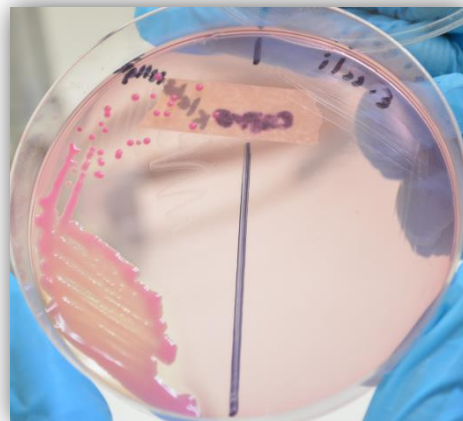
agar V.B



agar McConkey



agar S.B



agar S-S

Crecimiento a las 24 horas.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

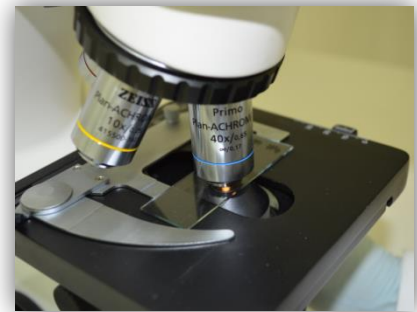
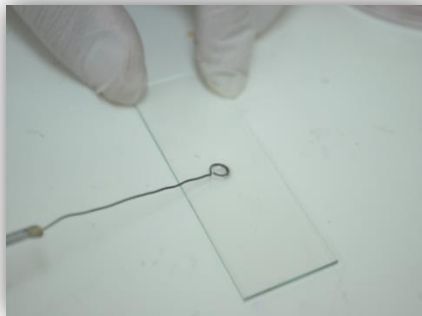


UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

6) Realizar tinción de Gram de todos los medios inoculados. Observar la preparación en el microscopio, utilizando objetivos 10X y 40X.



7) Realizar la inoculación a las pruebas bioquímicas, a partir de colonias bien aisladas de los medios de cultivo utilizados, de acuerdo al criterio y resultado sugerente al tipo de microorganismo aislado en los mismos.



8) Reportar todos los resultados en los formatos, para tinción, morfología colonial, pruebas bioquímicas y pruebas especiales. (ANEXO I)

9) Realizar una discusión de los resultados y conclusiones, con ayuda de la tabla de identificación de pruebas bioquímicas. (ANEXO I)

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



B. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO MODERNO

MEDIOS CROMOGENICOS

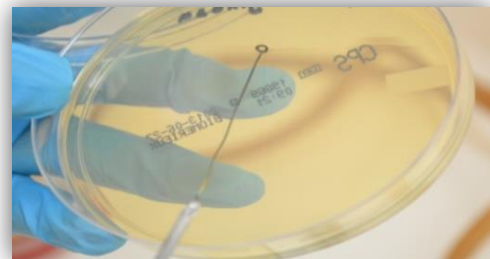
METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Asa bacteriológica ▪ Guantes ▪ Cubrebocas 	-----	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar cromogénico para <i>Salmonella</i> ▪ Agar cromogénico CPS ID

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



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



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

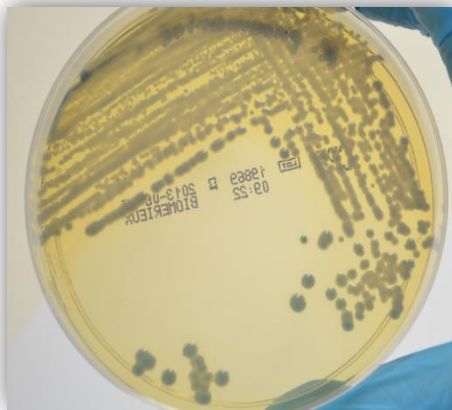
Fecha:30/09 /2016

- 3) Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella, ya que la luz puede destruir los cromógenos.
- 4) Una vez que los colores de las colonias se hayan desarrollado, el agar se puede exponer a la luz.
- 5) Anotar el resultado correspondiente en el formato de reporte de resultados. (ANEXO I)

Cepas ATCC inoculadas en:



agar cromogénico Salmonella ID



agar cromogénico CPS

Crecimiento a las 24 horas.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS: Identificación inmediata y directa de los microorganismos más habituales tras 18-24 horas de incubación:

El medio cromogénico para *Salmonella* permite la detección de los serotipos *typhi*, *paratyphi* y la mayoría de *Salmonella* Lactosa +.

- ✓ Detección específica de la actividad enzimática de esterasa: colonias de color rosa claro o malva son *Salmonella*.
- ✓ Diferenciación de otras bacterias: colonias de un color diferente.
- ✓ Inhibición de bacterias grampositivas y levaduras.

En el medio cromogénico CPS permite la detección de:

- ✓ *K. pneumoniae*: colonias verdes
- ✓ *P. aeruginosa*: colonias pigmentadas (marrón-amarillas)
- ✓ *E. coli*: colonias rosas-borgoña
- ✓ *P. mirabilis*: colonias café claro
- ✓ *Staphylococcus aureus*: colonias amarillas
- ✓ *Candida albicans*: colonias blancas
- ✓ *Streptococcus agalactiae*: colonias violetas
- ✓ Enterococos: colonias turquesa



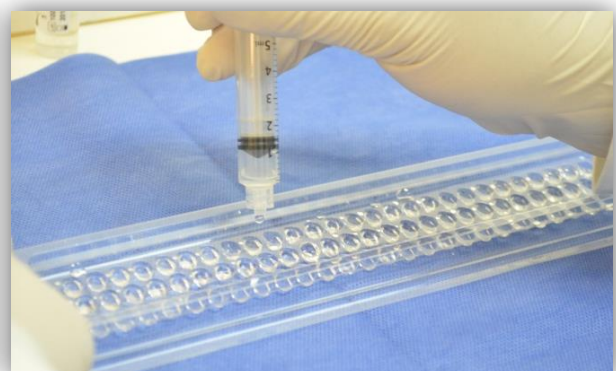
API 20E

METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS PARA REVELADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Micropipeta ▪ Guantes ▪ Cubrebocas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ FeCl₃ 10% (TDA) ▪ KOH al 40% (VP1) ▪ Naftol (VP2) ▪ Kovacs o dimetilamino-cinamaldehído o reactivo de James. ▪ Tetrafenilendiamina ▪ NIT 1 y NIT 2 ▪ Zn 	-----

PREPARACIÓN DE LA TIRA

- 1) Prepare una caja de incubación (bandeja y tapa) y distribuir aproximadamente 5 ml de agua destilada o agua desmineralizada en el panel de pocillos de la bandeja para crear una atmósfera húmeda.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

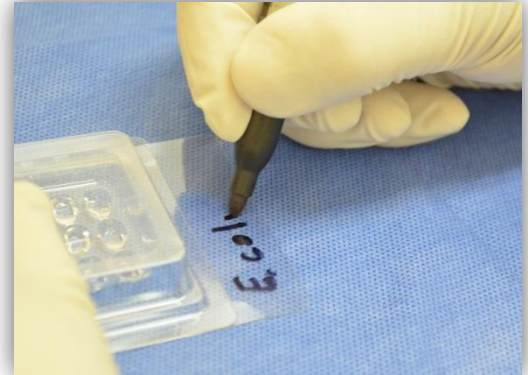


UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

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



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



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



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

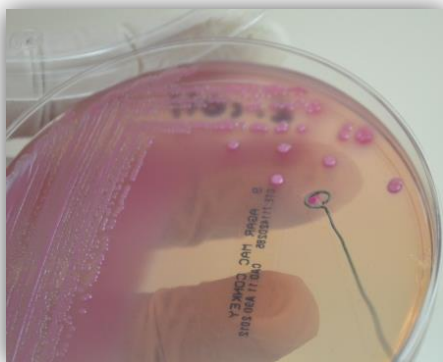


PREPARACIÓN DEL INÓCULO

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



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



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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



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



*CIT= utilización del citrato
 *VP= producción de acetoina (Voges Proskauer)
 *GEL= gelatinasa (gelatina)

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
 Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

9) Para las otras pruebas, llenar únicamente los tubos (no las cúpulas).



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



*ADH= Arginina-dihidrolasa

*URE= Ureasa

*LDC =Lisina Decarboxilasa

*H₂S= Producción de H₂S

*ODC=Ornitina Decarboxilasa

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



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



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



LECTURA E INTERPRETACIÓN

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



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015



FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



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

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

<p>TDA: añadir una gota de FeCl₃ 10% (una gota del reactivo TDA)</p> <p>Positivo= color marrón oscuro.</p>	
<p>VP: añadir una gota del reactivo VP1 y una gota del reactivo VP2</p> <p>Positivo= color rosa fuerte o rojo en 5-10 minutos.</p> <p>Negativo= color rosa débil después de los 10 minutos.</p>	



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs¹ o dimetilamino-cinamaldehído². O reactivo de James ³ Dependiendo del reactivo utilizado pueden darse las posibilidades siguientes:

¹Positivo= aparece un anillo rosa-rojo.

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

³Positivo= rosa

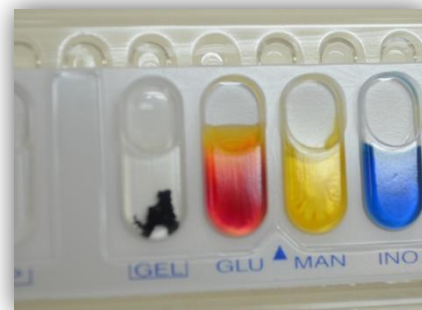


Reducción de los nitratos en nitritos (NO₂) y en nitrógeno (N₂): añadir una gota de los reactivos NIT 1 y NIT 2 en el tubo GLU. Esperar de 2 a 5 minutos.

Positivo (NO₂)= coloración roja

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

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



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016

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

Positivo= color azul que aparece inmediatamente.

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

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

- ✓ Si la reacción es negativa se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva se pone: 1 si es el primer pocillo de un triplete, 2 si es el segundo, 4 si es el tercero.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete triplete se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. (8,9,10)



16) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato. (ANEXO I)

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016



ONP GADH LDC



ODC CIT H2S



URE TDA IND



VP GEL GLU



MAN INO SOR



RHA SAC MEL



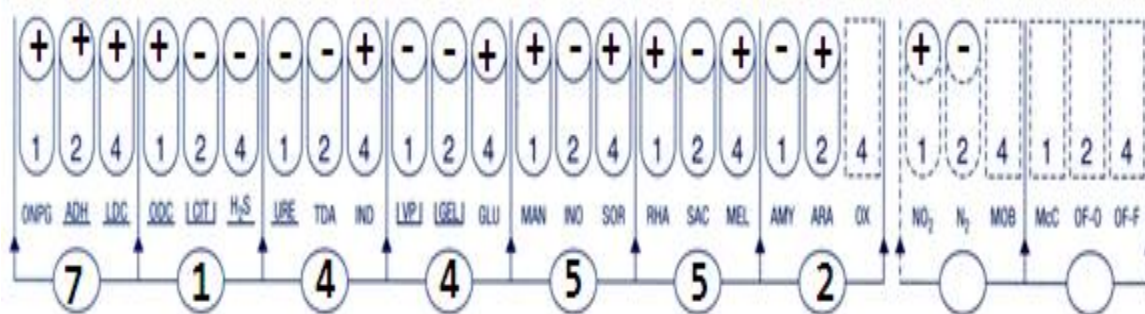
AMY ARA OX



NO2 N2

PERFIL NUMÉRICO DE 7 CIFRAS: 7144552

IDENTIFICACIÓN:



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



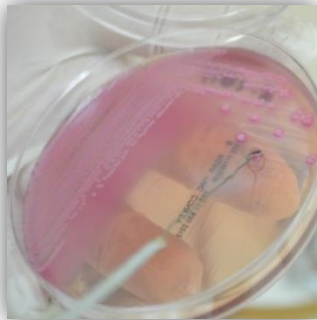
SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

METODOLOGÍA

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Asa bacteriológica ▪ Portaobjetos ▪ Cubreobjetos ▪ Guantes ▪ Cubrebocas ▪ Mechero 	-----	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Müeller Hinton

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



2) Incubar la placa a 35 °C por 24 horas.



Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

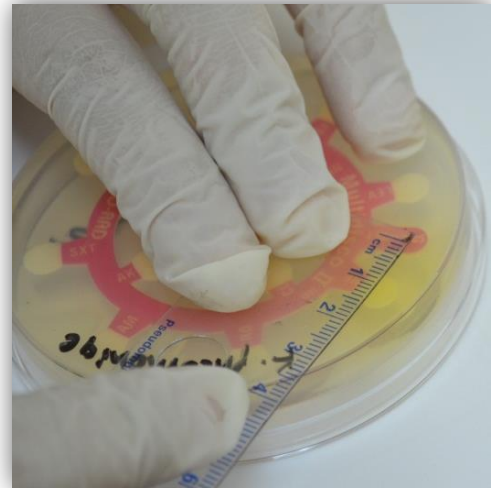


UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

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



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

V.3. Fase Postanalítica

En la fase postanalítica se refieren los resultados obtenidos y se especifican en el informe del laboratorio, al cual se llega partiendo de las fases preanalítica y analítica. Los resultados se deben de entregar en un informe que sea legible y fácil de comprender: informe de laboratorio. (ANEXO II)

De igual manera se debe reportar la susceptibilidad a antibióticos del microorganismo identificado, para ello se realizará el antibiograma, siguiendo los criterios establecidos por el proveedor.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



VI. Referencias

1. Schaechter M., Medoff G., Eisenstein B. Guerra H. Microbiología mecanismos de las enfermedades infecciosas. Enfoque mediante resolución de problemas. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1994.
2. Spicer W. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas. Texto y atlas en color. 2ª ed. Barcelona: Elsevier; 2009
3. Brooks G., Morse S., Butel J. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 17ª ed. México D.F: El manual moderno; 2002
4. Ingraham J. Introducción a la microbiología. Barcelona: Reverte; 1998.
5. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3º ed. Organización mundial de la salud: Ginebra, 2005. [223 páginas]. Disponible en:
http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf
6. Forbes B., Sahm D., Weissfeld A. Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009
7. Catálogo de medios de cultivo. Biomérieux. 2010. [79 páginas]. Disponible en:
<http://ebookbrowse.com/catalogo-medios-de-cultivo-2010-es-pdf-d52553760>
8. Koneman E., Allen S., Janda W., Schreckenberger P., Winn W. Diagnóstico microbiológico texto y atlas color. 5ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2002.
9. API20 E. Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes. 2009; [56 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/4.pdf>
10. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid; Médica Panamericana; 2005
11. Multidiscos ^{MR} II. Biorad 2010; [2 páginas]. Disponible en:
<http://sdpmexico.com.mx/files/MULTIDISCOS.pdf>



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

ANEXO I. Formato de resultados método tradicional

TINCIÓN DE GRAM

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

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

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

TINCIONES ESPECIALES

CLAVE CEPA			
NOMBRE TINCIÓN			
ESTRUCTURA DEL MICROORGANISMO			
PRESENCIA Y ABUNDANCIA			

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Clave de la cepa

Clave de la cepa

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

² O = Oxidativo

F = Fermentativo

N = No utiliza el carbohidrato

³ A = Ácido

C = Coágulo

F = Fermentativo

G = Gas

P = Peptonización

K = Alcalino

R = Reducción

PRUEBAS ESPECIALES

Clave de la cepa

Clave de la cepa

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

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016

ANEXO II. Formato de resultados método moderno

API 20E

CEPA	O N P G	A D H	L D C	O D C	C I T	H 2 S	U R E	T D A	I D D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A	O X	N O 2	N 2	Identificación	
1																									
2																									
3																									
4																									
5																									

MEDIO CROMOGÉNICO

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

¹ Características que dependen del medio de cultivo: halos.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN PRUEBAS BIOQUÍMICAS

	KIA	GAS	H ₂ S	RM	VP	IND	CIT	PAD	URE	MOV	LIS	ARG	ORN	ONPG
Tribu I: Escherichieae														
Género: Escherichia														
<i>E. coli</i>	A/A	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-/+	+/-	+
Género: Shigella														
Grupos A, B, C														
<i>S. sonnei</i>	Alc/A	-	-	+	-	-/+	-	-	-	-	-	-	+	+
Tribu II: Edwardsielleae														
Género: Edwardsiella														
<i>E. tarda</i>	Alc/A	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
Tribu III: Salmonelleae														
Género: Salmonella														
	Alc/A	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+/-	+	-
Tribu IV: Citrobactereae														
Género: Citrobacter														
<i>C. freundii</i>	Alc/A	+	+	+	-	-	+	-	+/-	+	-	+/-	-/+	+
<i>C. koseri</i>	Alc/A	+	-	+	-	+	+	-	+/-	+	-	+/-	+	+
Tribu V: Klebsielleae														
Género: Klebsiella														
<i>K. pneumoniae</i>	A/A	++	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+
<i>K. axytoca</i>	A/A	++	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
Género: Enterobacter														
<i>E. aerogenes</i>	A/A	++	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+
<i>E. cloacae</i>	A/A	++	-	-	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	+
Género: Hafnia														
<i>H. alvei</i>	Alc/A	+	-	-/+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+
Género: Pantoea														
<i>P. agglomerans</i>	Alc/A	-/+	-	-/+	+/-	-/+	+/-	-/+	-/+	+	-	-	-	+
Género: Serratia														
<i>S. marcescens</i>	Alc/A	+	-	-/+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+
Tribu VI: Proteae														
Género: Proteus														
<i>P. vulgaris</i>	Alc/A	+/-	+	+	-	+	-/+	+	++	+	-	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>	Alc/A	+	+	+	+/-	-	+/-	+	++	+	-	-	+	-
Género: Morganella														
<i>M. morganii</i>	Alc/A	+	-	+	-	+	-	+	++	+	-	-	+	-
Género: Providencia														
<i>P. rettgeri</i>	Alc/A	-	-	+	-	+	+	+	++	+	-	-	-	-
<i>P. stuartii</i>	Alc/A	-	-	+	-	+	+	+	-/+	+/-	-	-	-	-
<i>p. alcalifaciens</i>	Alc/A	+/-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
Tribu VII: Yersinieae														
Género: Yersinia														
<i>Y. enterocolitica</i>	Alc/A	-	-	+	-	+/-	-	-	+/-	-†	-	-	+	+

Tabla Características claves para la identificación de las *Enterobacteriaceae* más comunes. **KIA**, agar hierro de Kliegler; **H₂S**, sulfuro de hidrógeno; **RM**, rojo de metilo; **VP**, Voges-Proskauer; **IND**, indol; **CIT**, citrato; **PAD**, fenilalanina desaminasa; **URE**, ureasa; **MOV**, movilidad; **Lis**, lisina; **ARG**, arginina; **ORN**, ornitina; **ONPG**, o-nitrofenil-β D-galactopiranosido; **++**, fuerte reacción positiva; **+**, 90% o más de cepas positivas; **-**, 90% o más de cepas negativas; **+/-**, 50%-90% de cepas positivas; **-/+**, 50%-90% de cepas negativas; las áreas sombreadas indican las reacciones claves. * Movilidad dispersa demostrada en medio no inhibidor. † No móvil a 36°C, móvil a 22°C. (6)

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 E

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANTIDAD (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
ONPG	2-nitro-fenil- β Dgalactopiranosida	0.223	β -galactosidasa (orto-nitrofenil- β Dgalactopiranosidasa)	Incoloro	Amarillo (1)
ADH	L-arganina	1.9	Arginina-dihidrolasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
LDC	L-lisina	1.9	Lisina Decarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
ODC	L-ornitina	1.9	Ornitina Decarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
CIT	Citrato trisódico	0.756	Utilización del Citrato	Verde pálido/ amarillo	Azul-verde/azul (3)
H2S	Tiosulfato sódico	0.075	Producción de H ₂ S	Incoloro/ grisáceo	Depósito negro/ fin liserado
URE	Urea	0.76	Ureasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
TDA	L-triptófano	0.38	Tryptófano Desaminasa	TDA/ inmediato	
				Amarillo	Marrón-rojizo
IND	L-triptófano	1,9	Producción de Índol	James/ inmediato	
				Incoloro Verde pálido/amarillo	Rosa
VP	Piruvato sódico	1,9	Producción de acetoína (Voges Proskauer)	VP1 + VP2/10 min	
				Incoloro/rosa pálido	Rosa/rojo (5)
GEL	Gelatina (origen bovino)	0.6	Gelatinasa (Gelatina)	No difusión	Difusión pigmento negro
GLU	D-glucosa	1,9	Fermentación/oxidación (Glucosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo/amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	1,9	Fermentación/oxidación (Manitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
INO	Inositol	1,9	Fermentación/oxidación (Inositol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentación/oxidación (Sorbitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1,9	Fermentación/oxidación (Rhamnosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1,9	Fermentación/oxidación (sacarosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1,9	Fermentación/oxidación (Melibiosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación/oxidación (Amygdalina) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,9	Fermentación/oxidación (Arabinosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 48 de 55

UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

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

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016

ANEXO III. Sensibilidad a antibióticos

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm

ANTIBIÓTICO	CONCENTRACIÓN	R (≤ 0)	I	S (≥ 0)
AMIKACINA	30 µg	14	15 - 16	17
AMPICILINA	10 µg			
ENTEROBACTERIACEAE		11	12 - 13	14
STAPHYLOCOCCUS SPP		28		29
ENTEROCOCOS		16		
OTROS ESTREPTOCOCOS		21		30
CARBENICILINA	100 µg			
ENTEROBACTERIACEAE		17	18 - 22	23
PSEUDOMONAS SPP		13	14 - 16	17
CEFALOTINA	30 µg	14	15 - 17	18
CEFOTAXIMA	30 µg	14		23
CEFTAZIDIMA	30 µg	14	15 - 17	18
CEFTRIAJONA	30 µg	13		21
CEFUROXIMA	30 µg	14	15 - 17	18
CLORANFENICOL	30 µg	12	13 - 17	18
DICLOXACILINA	1 µg			
STAPHYLOCOCCUS SPP		10	11 - 12	13
PENICILINA VS NEUMOCOCOS		19		20
ENOXACINA	10 µg	14	15 - 17	18
ERITROMICINA	15 µg	13	14 - 17	18
GENTAMICINA	10 µg	12	13 - 14	15
NETILMICINA	30 µg	12	13 - 14	15
NITROFURANTOÍNA	300 µg	14	15 - 16	17
PEFLOXACINA	5 µg	14	15 - 22	23
PENICILINA	10 U			
STAPHYLOCOCCUS SPP		28		29
NEISSERIA GONORRHOEAE		19		20
ENTEROCOCOS		14		
OTROS ESTREPTOCOCOS		19		28
TETRACICLINA	30 µg	14	15 - 18	19
TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	25 µg	10	11 - 15	16

R= resistente I= intermedio S=sensible

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

FORMATO DE REPORTE SE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS (ANTIBIOGRAMA)

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

R= resistente I= intermedio S=sensible

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 51 de 55

UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha: 30/09 /2016

ANEXO IV. Formato de informe de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

FOLIO: _____ EDAD: _____ SEXO: (M) (F)

LOCALIDAD: _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE: _____

ESTUDIOS REALIZADOS

VALORES DE REFERENCIA

OBSERVACIONES

SELLO DEL LABORATORIO

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

Elaboró: Q.F.B. Ana La ura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



ANEXO V. Principio del método moderno: API 20 y medios cromogénicos

API 20

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

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

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

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

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

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

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

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

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

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

MEDIOS CROMOGÉNICOS

Medios selectivo-diferenciales

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

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

Dichas sustancias son productos químicos de síntesis que son incoloros cuando se unen a sustratos naturales por enlaces que son hidrolizados por enzimas microbianas específicas. Cuando la enzima microbiana hidroliza el enlace, se libera el enlace cromogénico, que adquiere un color intenso. Así, por ejemplo, la galactosa se une a un colorante, el ortonitrofenol (ONF), por un enlace químico que es reconocido por una enzima bacteriana, la β -galactosidasa, cuya función natural es reconocer e hidrolizar el enlace entre la galactosa y la glucosa (que constituyen la lactosa). El complejo galactosa-ONF es incoloro, pero cuando es hidrolizado por la β -galactosidasa y se libera el ONF, éste adquiere un intenso color amarillo. La aparición de ese color en la colonia y a su alrededor indica la presencia de la enzima. Algunas enzimas son específicas de un género, una especie o propias de un reducido número de especies, por lo que su detección permite su identificación. (6, 8)

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 54 de 55

UNIDAD 3: Aparato Gastrointestinal

Práctica: Coprocultivo

Fecha:30/09 /2016

El agar cromogénico para *Salmonella* es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento e identificación presuntiva de especies de *Salmonella* de entre otras bacterias coliformes y no coliformes en muestras fecales clínicas y en diversas muestras de alimentos.

Tras la incubación oportuna, leer las placas contra un fondo blanco. La *Salmonella typhimurium* y otras especies de *Salmonella* presentarán colonias de color malva claro a malva, con la excepción de *Salmonella* entérica subespecie *arizonae* y otras especies de *Salmonella* positivas para la lactosa y la betaglucosidasa. Estos aislados presentarán colonias de color violeta azulado o moradas.

Citrobacter y otros coliformes presentarán colonias de color verde azulado claro a verde azulado. Algunos organismos que no hidrolizan ninguno de los compuestos cromógenos pueden presentar colonias incoloras.

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



ANEXO VI. Cuestionario

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

10. ¿Qué propondrías para mejorar el diseño de la práctica?

Elaboró: Q.F.B. Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 58

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

PRÁCTICA

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR MEDIANTE EL EXUDADO ÓTICO



ELABORADO POR:

Q. F. B. ANGÉLICA RAMÓN OLIVERA

Q. F. B. STHEFANY LILIANA ORTEGA CORTÉS

M. EN C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

[Inicio](#)

Realizado con apoyo del proyecto PAPIME PE 209012

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	5
II. OBJETIVOS.....	10
III. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	10
IV. PROPÓSITO DEL EXAMEN.....	14
V. METODOLOGÍA.....	14
V.1. Fase Preanalítica	14
V.2. Fase Analítica.....	20
V.3. Fase Post analítica.....	39
VI. REFERENCIAS.....	40
ANEXO I. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO TRADICIONAL.....	43
ANEXO II. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO.....	46
ANEXO III. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS.....	52
ANEXO IV. FORMATO DE INFORME DE LABORATORIO.....	54
ANEXO V. PRINCIPIO DEL MÉTODO MODERNO: API 20 Y MEDIOS CROMOGENICOS	55
ANEXO VI. CUESTIONARIO	58

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

I. Introducción

El sistema respiratorio está constituido por un conjunto de órganos cuya función es la de conducir el oxígeno hasta los glóbulos rojos de la sangre. Estos órganos pueden agruparse en dos categorías:

- ❖ Las vías respiratorias superiores (la boca, la cavidad nasal, la faringe y la laringe, además del oído medio y externo).
- ❖ Las vías respiratorias inferiores (la tráquea, los bronquios, los bronquiolos y los alveolos pulmonares) (**Figura 1**). (1,2)

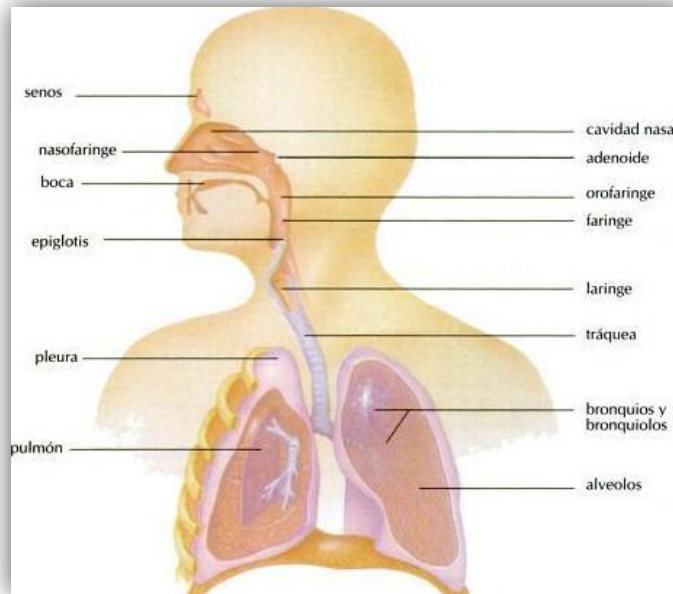


Figura 1. Anatomía del sistema respiratorio. (3)

Las vías respiratorias superiores se encuentran alojadas en la cara y en la parte superior del cuello, y las vías inferiores en la parte inferior del cuello y en el interior del tórax. (1)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

El tracto respiratorio superior esta colonizado por muchos microorganismos, la mayoría considerados parte de la biota normal. Pero también podemos encontrar microorganismos potencialmente patógenos como son: Estreptococos grupo A (β -hemolíticos), *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, especies de *Klebsiella*, *Bacteroides*, Enterobacterias, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Bordetella pertussis*. Siendo de esta forma las bacterias los patógenos más virulentos de las vías respiratorias superiores, aunque la mayoría de las infecciones que causan pueden ser prevenidas o tratadas eficazmente. Cabe mencionar que estos microorganismos patógenos pueden estar presentes en la biota normal y no ser la principal causa de la infección. (3, 4, 5)

La mayor parte de las infecciones del oído se pueden asociar a infecciones respiratorias mal cuidadas y en niños pequeños son muy comunes por la introducción de objetos extraños; las cuales afectan el conducto auditivo externo (otitis externa) o la porción media del oído (otitis media), en la cual se encuentran los huesecillos y están rodeadas por estructuras óseas y por la membrana timpánica. (5, 6)

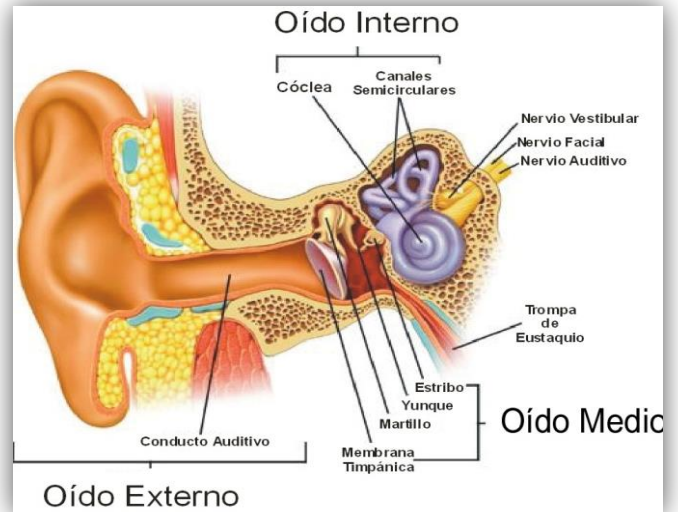


Figura 2. Estructura del oído. (7)

El oído medio y los senos paranasales se comunican con la vía aérea superior por medio de conductos. Las infecciones, causadas principalmente por virus y bacterias, se producen cuando los patógenos que se encuentran en la nariz y la garganta acceden a los oídos o los senos que suelen ser estériles. (4)

La otitis se manifiesta por la secreción de un exudado seroso o purulento (otorrea), otalgia y pérdida de audición, principalmente; puede haber fiebre y rotura de la membrana si la presión del fluido es intensa (perforación timpánica). (8)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

La otitis externa se debe a un fallo de los mecanismos defensivos locales (integridad del epitelio, pH y cerumen) por alteración a causa de factores ambientales (calor o humedad) o microtraumatismos (rascado). Los problemas específicos relacionados con dicha infección se deben a la presencia de un conducto estrecho en el que los líquidos y cuerpos extraños pueden entrar y quedar atrapados, provocando irritación y maceración de los tejidos superficiales; el dolor y el prurito se debe al escaso espacio disponible para la expansión de los tejidos inflamados además de manifestarse con exudado purulento. En ocasiones la otitis externa ocurre como una extensión de la infección del oído medio, con secreción purulenta a través de una membrana timpánica perforada. (5, 8, 9, 10)

La otitis externa es similar a una infección de la piel y de los tejidos blandos en cualquier otra parte del cuerpo debido a que posee una biota bacteriana parecida a esta. El medio ambiente húmedo y templado favorece la proliferación de microorganismos saprofitos de esta región que se comportan como patógenos, entre ellos se encuentran el *S. aureus*, hongos como *Aspergillus niger*, *Candida albicans* y gramnegativos como *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* siendo esta última la más común. (5, 8, 9, 10, 11)

La otitis externa puede subdividirse en cuatro categorías:

- ❖ Otitis externa localizada aguda: puede manifestarse como una lesión pustulosa o un forúnculo con folículos pilosos; es causada por *S. aureus*. Las erisipelas provocadas por los estreptococos del grupo A pueden afectar el pabellón auricular y el conducto auditivo externo. El dolor puede ser severo y a veces se observan ampollas hemorrágicas de un color rojizo azulado en las paredes de la porción ósea del conducto y sobre la membrana timpánica. (9)
- ❖ Otitis externa difusa aguda (oído del nadador): se observa principalmente en un clima caluroso y húmedo además de asociarse con la natación en aguas que pueden estar contaminados por microorganismos gramnegativos aerobios, es causada principalmente por *P. aeruginosa*. Se caracteriza por prurito del conducto auditivo externo y un dolor creciente. La piel del conducto se encuentra edematosa y eritematosa. (5, 9)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

- ❖ Otitis externa crónica: es consecuencia de la irritación provocada por el drenaje del oído medio en pacientes con una otitis media supurativa crónica. El prurito es intenso. Algunas causas raras de esta consisten en tuberculosis, sífilis, lepra y sarcoides. ⁽⁹⁾
- ❖ Otitis externa invasiva (maligna): es una infección necrotizante severa que se propaga desde el epitelio escamoso del conducto auditivo externo hacia los tejidos blandos, los vasos sanguíneos, el cartílago y el hueso circundantes, en ocasiones produciendo parálisis nerviosa y muerte. Presenta dolor severo e hipersensibilidad de los tejidos vecinos a la oreja. Afecta principalmente a las personas de edad avanzada y a los pacientes diabéticos e inmunocomprometidos. Es causada principalmente por *P. aeruginosa*. ^(5,9)

El exudado ótico está indicado para el diagnóstico de la otitis externa y en ningún caso resulta representativo de los microorganismos existentes en el oído medio. ⁽⁸⁾

Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

Fase preanalítica: es importante, y de ella depende en gran medida el resultado final. Aquí se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma. Se indica los reactivos que serán empleados, y en este caso la correcta manipulación de las cepas ATCC más representativas a utilizar para cada módulo.

Fase analítica: se describen los métodos de laboratorio empleados en esta área, los cuales son explicados de manera clara, precisa y sencilla para ser llevados a cabo por el personal del área que lo consulte y lograr la correcta ejecución de las pruebas ya que en esta etapa se exigen técnicas estandarizadas, equipos adecuados bien calibrados (en El Manual de PNO's de los Equipos del Laboratorio de Microbiología Médica, se describen las especificaciones y características de estos, sus normas de funcionamiento, calibración, etc.) y reactivos.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

Se explica el uso de los medios de cultivos selectivos, diferenciales, de transporte, de enriquecimiento, pruebas bioquímicas y pruebas especiales; así como también de los métodos actuales de diagnóstico como el sistema API® 20 y de los medios cromogénicos.

Fase postanalítica: se refiere a los resultados obtenidos los cuales se especifican en el informe del laboratorio de forma que sea legible y fácil de comprender. A esta fase se llega partiendo de que las fases preanalítica y analítica son realizadas con el rigor técnico y científico exigido por un sistema de gestión de la calidad.

El control de calidad es responsabilidad de la persona a cargo del área de microbiología, la cual debe asegurarse de que las pruebas realizadas sean procesadas con calidad y de que los resultados sean confiables, reproducibles y tan exactos como sea posible, siguiendo los procedimientos establecidos. ⁽¹²⁾

En el presente trabajo se establecen los métodos tradicionales y métodos modernos (sistema API® 20 y medios cromogénicos) de diagnóstico microbiológico empleados para microorganismos causantes de infecciones del sistema respiratorio y el estudio se realizará en el laboratorio de microbiología médica de la FES Zaragoza. Estas prácticas se pretenden implementar en la clínica multidisciplinaria de la FES Zaragoza de tal forma que nos permitan el diagnóstico de microorganismos causantes de patologías en los sistemas del cuerpo humano y así tener un mejor conocimiento en cuanto a la identificación de los microorganismos por género y especie.

Cabe señalar que al final de la práctica se realizó un cuestionario que tiene por objetivo validar la utilidad de la misma, y con las opiniones de alumnos y profesores establecer un proceso de mejora continua de esta práctica.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

II. Objetivos

- Utilizar los procedimientos de los métodos tradicionales y modernos de diagnóstico microbiológico para identificar a los microorganismos patógenos que se encuentran en un exudado ótico.
- Utilizar el sistema API® 20 y medios cromogénicos como métodos modernos de diagnóstico.
- Utilizar cepas ATCC de bacterias frecuentemente encontradas en un exudado ótico como control de calidad en los métodos tradicionales y modernos de diagnóstico.

III. Medidas de bioseguridad

De acuerdo con la publicación de la OMS en 2005, se hace referencia a los peligros relativos que entrañan los microorganismos infecciosos clasificados por grupos de riesgo, la cual se utilizará exclusivamente para el trabajo de laboratorio (**Cuadro 1**).

CUADRO 1. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS INFECCIOSOS POR GRUPOS DE RIESGO. (13)

Grupo de riesgo 1	Riesgo individual y poblacional escaso o nulo. Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales.
Grupo de riesgo 2	Riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo. Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales pero que tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, el ganado o el medio ambiente. La exposición en el laboratorio puede provocar una infección grave, pero existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es limitado.
Grupo de riesgo 3	Riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo. Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que de ordinario no se propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.
Grupo de riesgo 4	Riesgo individual y poblacional elevado. Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

Las designaciones del nivel de bioseguridad se basan en el tipo de instalaciones (características de diseño, construcción, medios de contención), el equipo a utilizar, las prácticas y procedimientos de operación necesarios para trabajar con los agentes patógenos de los distintos grupos de riesgo (**Cuadro 2**). Por ello el nivel de bioseguridad que tiene el laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza es de nivel 1. De tal forma que existe una relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad y con ello la clasificación del tipo de laboratorio y el equipo de seguridad.

Inicio

CUADRO 2. RELACIÓN DEL GRUPO DE RIESGO CON EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD, LAS PRÁCTICAS Y EL EQUIPO. ⁽¹³⁾

Grupo de riesgo	Nivel de bioseguridad	Tipo de laboratorio	Prácticas de laboratorio	Equipo de seguridad
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación.	Técnicas microbiológicas apropiadas.	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto.

Por ello cada laboratorio debe adoptar un manual de seguridad o de trabajo en el que identifiquen los riesgos conocidos y potenciales, y se especifiquen las prácticas y los procedimientos encaminados a eliminar o reducir al mínimo esos riesgos.

A continuación se mencionan algunos aspectos importantes en cuanto a las medidas de bioseguridad.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

Protección personal:

- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio (**Figura 3**).
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan entrañar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados. Una vez utilizados, los guantes se retirarán de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos.
- El personal deberá lavarse las manos después de manipular materiales y animales infecciosos, así como antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán gafas de seguridad u otros dispositivos de protección cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impactos y fuentes de radiación ultravioleta artificial.
- Estará prohibido usar prendas protectoras fuera de laboratorio.
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- La ropa protectora de laboratorio no se guardará en los mismos armarios que la ropa de calle. ⁽¹³⁾



Figura 3. Protección personal.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

Zonas de trabajo del laboratorio:

- El laboratorio se mantendrá ordenado y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso, al inicio y al final de cada jornada de trabajo. ⁽¹³⁾

Manipulación de desechos:

Todos los materiales, muestras y cultivos contaminados deberán ser descontaminados antes de eliminarlos o de limpiarlos para volverlos a utilizar. ⁽¹³⁾

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



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

IV. Propósito del examen

El diseño de esta práctica va encaminado al diagnóstico microbiológico de *Pseudomonas aeruginosa* y otras bacterias aisladas de un exudado ótico, que según el criterio clínico puedan interpretarse como patógenas.

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y método moderno de diagnóstico (sistema API® 20 y medios cromogénicos), empleando cepas ATCC de bacterias patógenas que se considerarán como control de calidad, con el objetivo de conocer los fundamentos y pasos a seguir de los mismos. De manera que se pretende mejorar el proceso de enseñanza y aprendizaje, así como la preparación académica de los alumnos que cursan el módulo de laboratorio de Microbiología Médica; ya que estos tendrán los conocimientos teóricos y prácticos necesarios para cada una de las etapas de control de calidad de la práctica.

V. Metodología

V.1. Fase Preanalítica

INDICACIONES Y PRECAUCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA

Se debe indicar al paciente las siguientes condiciones previas a la toma de muestra.

- 1 No usar gotas óticas de 18 a 24 horas antes de la toma de muestra.
- 2 No tomar o aplicar antibióticos de 24 a 48 horas antes de la toma de muestra.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

NOTA: si lo anterior no es posible se debe obtener la muestra justo antes de la administración de la dosis.

3 No lavar los oídos una noche anterior.

4 No se recomienda el cultivo rutinario, sino en aquellos casos crónicos que no responden a la terapia instaurada. (4, 12, 14)

5 Antes y después de cada procedimiento lavarse las manos correctamente.



6 El personal de laboratorio deberá usar bata (a fin de evitar que la ropa de calle se pueda contaminar o ensuciar), guantes y cubrebocas.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

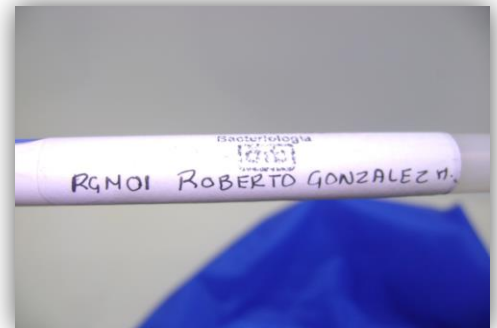
7 Tener preparado hisopos y medio de transporte para el Exudado Ótico.



8 Tener encendido el mechero pues éste dará el área de esterilidad para realizar la toma de muestra.



9 Etiquetar el medio del transporte con los datos del paciente. (13, 14)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

En el siguiente cuadro se enlistan los materiales que se ocuparán durante la práctica:
Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

CUADRO 3. MATERIAL NECESARIO PARA LA PRÁCTICA DEL EXUDADO ÓTICO. (4, 6, 8, 12, 13, 14, 15, 16)

MATERIAL	CEPAS ATCC	MEDIOS	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Guantes ▪ Cubreboca ▪ Mechero Bunsen ▪ Gradilla ▪ Hisopos de algodón ▪ Jeringa ▪ Algodón ▪ Cloruro de benzalconio 1:1000 o solución jabonosa ▪ Portaobjetos ▪ Asa bacteriológica ▪ Pipeta ▪ Aceite de inmersión 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>P. aeruginosa</i> ▪ <i>S. aureus</i> ▪ <i>E. coli</i> ▪ <i>P. mirabilis</i> 	<p><u>Transporte</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Stuar Amies <p><u>Cultivo</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Sangre de Carnero (ASC) 5% ▪ Agar Chocolate ▪ Agar Saly Manitol ▪ Agar McConkey ▪ Agar Cetrimida ▪ Agar Sabouraud + Cloranfenicol <p><u>Susceptibilidad antibióticos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Müller Hinton 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rojo de Fenol más CHO's: ▪ Lactosa ▪ Maltosa ▪ Sacarosa ▪ Trehalosa ▪ Glucosa ▪ Manitol ▪ Adonitol ▪ Arabinosa ▪ Sorbitol ▪ Inositol ▪ Xilosa ▪ Prueba de catalasa ▪ Prueba de coagulasa ▪ Hugh-Leifson: Manitol con y sin sello Glucosa con y sin sello ▪ Urea de Christensen ▪ Citrato de Simmons ▪ Caldo Nitrato ▪ Fenilalanina desaminasa ▪ RMVP ▪ SIM ▪ TSI ▪ MIO ▪ LIA 	<p><u>Tinción de Gram</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cristal violeta ▪ Lugol ▪ Alcohol-Cetona ▪ Safranina <p><u>Tinción de Flagelos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Colorante de Leifson <p><u>Prueba de catalasa</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Peróxido de hidrógeno <p><u>Caldo Nitrato</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ácido sulfanílico ▪ α-naftilamina <p><u>Fenilalanina desaminasa</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cloruro férrico <p><u>RMVP</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Indicador Rojo de Metilo ▪ KOH 40% ▪ α-naftol <p><u>SIM y MIO</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Kovacs

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

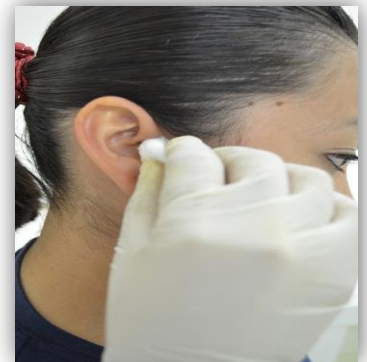
PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA DEL EXUDADO ÓTICO

1) Informar al paciente sobre el procedimiento a realizar. (17)

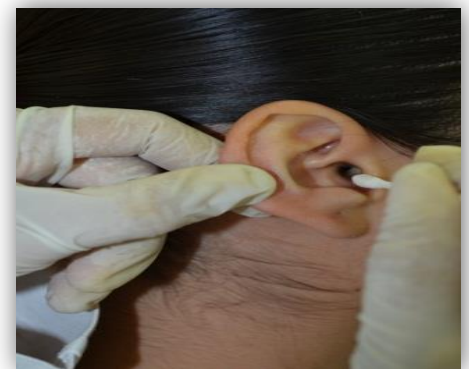
2) Colocar al paciente en una silla ergonómica y bajo una buena fuente de luz.



3) Realizar limpieza de la parte externa del oído con un algodón humedecido con un antiséptico suave (Cloruro de benzalconio 1:1000, solución jabonosa, alcohol 70°). (6, 8, 15)



4) Introducir el hisopo teniendo cuidado de no lastimar (indicando al paciente hasta donde soporta el hisopo), en el caso de abscesos aspirar el fluido con la jeringa.



NOTA: Se debe emplear un hisopo para cada oído. (6, 15, 18)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

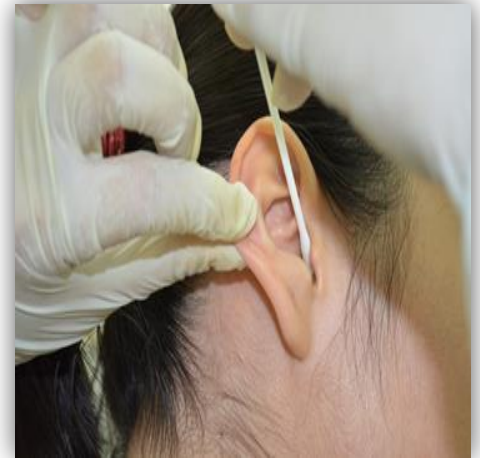


UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

5) Se obtendrá la muestra frotando el hisopo contra las paredes del conducto auditivo externo. (18)



6) Retirar el hisopo con suavidad y ponerlo en el medio de transporte adecuado a la etiología que se sospeche. Utilizar un segundo hisopo para el otro oído y repetir el procedimiento sin olvidar diferenciar las muestras (derecha e izquierda).



NOTA: Transportar durante los primeros 15 minutos de la recolección y a temperatura ambiente. Si no se puede trabajar de inmediato la muestra mantener entre 4-10 °C (no exceder de 2 horas). (6, 12, 14, 17, 18)

7) Todos los materiales utilizados deberán desecharse como Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos. (13)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha: 30/09/2016

V.2. Fase Analítica

En esta fase se describen los métodos: tradicional y moderno de diagnóstico, los cuales son explicados a manera de resumen en el siguiente cuadro (**Cuadro 4**), mostrando el procedimiento a seguir para el diagnóstico microbiológico a partir de la muestra clínica o partiendo de cepas ATCC. Posteriormente ambos métodos serán detallados de forma clara, precisa y sencilla.

CUADRO 4. PROCEDIMIENTO DEL MÉTODO: TRADICIONAL Y MODERNO. (4, 5, 14, 19)

A. Método tradicional		B. Método moderno	
Origen de la muestra a analizar			
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
Realizar las siguientes actividades:			
<p><u>Cultivo</u> De la muestra del exudado ótico para aislamiento en la superficie del medio.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><u>Incubar placas</u> 35-37 °C / 24-48 horas.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><u>Tinción de Gram</u></p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><u>Examen microscópico</u> Objetivo 100X</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><u>Pruebas bioquímicas</u></p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><u>Susceptibilidad a antibióticos</u> (Antibiograma)</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><u>Identificación de bacterias</u></p>		<p><u>Sistema API® 20</u> <u>Preparación de la galería</u> Colocar 5 ml de agua en el panel de pocillos de la cámara para proporcionar una atmósfera húmeda durante la incubación.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><u>Preparación del inóculo</u> A partir de una colonia aislada del microorganismo, preparar una suspensión bacteriana homogénea.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><u>Inoculación de la galería</u> Llenar con la suspensión bacteriana los microtubos.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;">Cubrir con parafina las cúpulas ADH, LDC, ODC, H₂S y URE.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;">Cerrar la cámara de incubación.</p>	

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

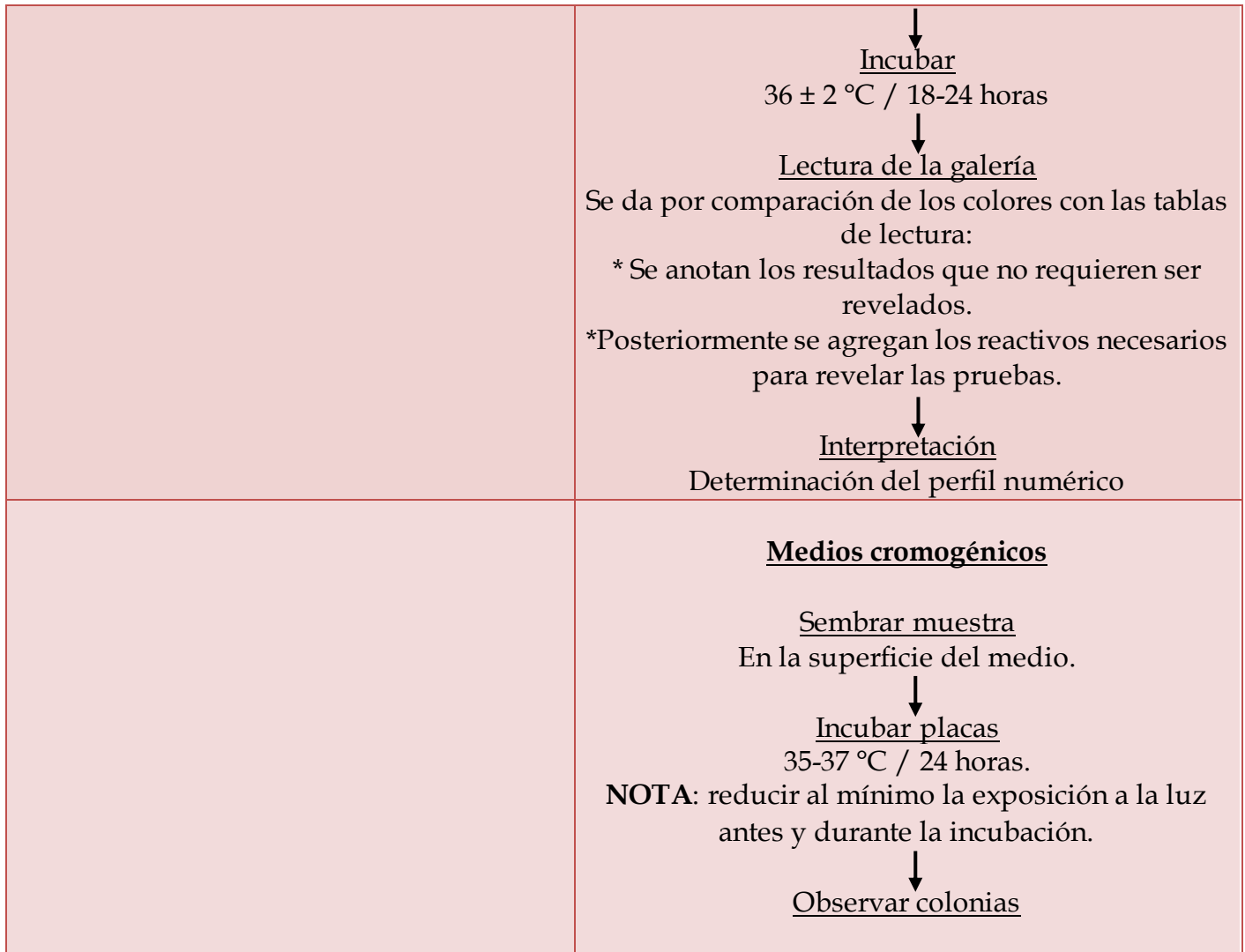
FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

A. DESCRIPCIÓN MÉTODO TRADICIONAL

La sospecha clínica de una infección ótica debe confirmarse a través del examen por cultivo y posteriormente microscópico de las colonias aisladas.

CULTIVO

1) Sembrar la muestra obtenida por estría cruzada (**Figura 4**) en las placas de:

- ASC 5%
- Agar Chocolate
- Agar Sal y Manitol
- Agar Mac Conkey
- Agar Cetrimida
- Agar Sabouraud + cloranfenicol (hongos).

NOTA: dividir cada placa de agar en dos, en una mitad sembrar la muestra del oído izquierdo y en la otra la muestra del oído derecho. (4, 8, 15)

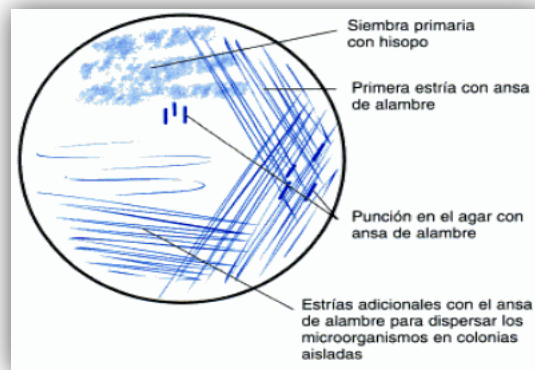


Figura 4. Técnica de estría, punción y aislamiento de la muestra. (4)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

2) Incubar 24 a 48 horas a 37 ° C.



3) Observar la morfología colonial de las bacterias en cada uno de los medios inoculados, a fin de seleccionar el crecimiento del posible patógeno. (4, 15)



4) Realizar las preparaciones de las colonias aisladas en cada una de las placas y teñir con la técnica de Gram.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

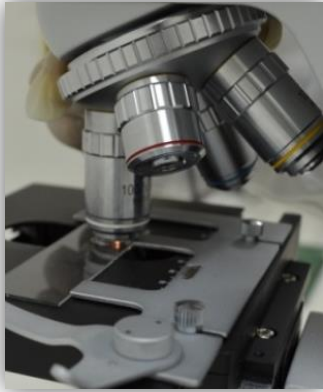


UNIDAD 4: Aparato respiratorio

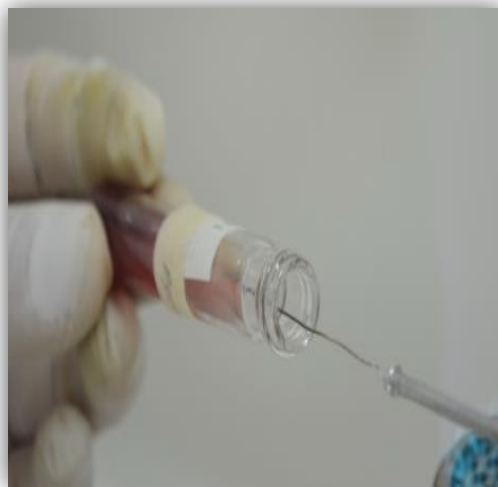
Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

5) Observar las preparaciones al microscopio utilizando el objetivo 100X. (4)



6) Realizar la inoculación de las pruebas bioquímicas seleccionadas a partir de las colonias aisladas del medio de cultivo utilizado, de acuerdo al criterio y resultado sugerente al tipo de microorganismo aislado en los mismos.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

7) Incubar 24 a 48 horas a 35-37 °C.



8) Realizar las lecturas de las pruebas realizadas. (4)

SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

9) Realizar el antibiograma del agente etiológico. En una placa de Agar Müeller Hinton inocular en todo el medio el microorganismo identificado, a partir de una colonia aislada y colocar el multidisco.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

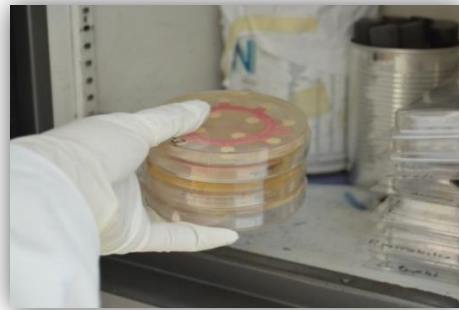


UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

10) Incubar la placa a 35-37 °C por 24 horas.



11) Realizar la lectura del antibiograma, utilizando la hoja para sensibilidad a antibióticos. (ANEXO III) (4)

12) Reportar todos los resultados en los formatos, para tinción, morfología colonial, pruebas bioquímicas y pruebas especiales. (ANEXO I)

13) Realizar la discusión de los resultados y las conclusiones.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

B. DESCRIPCIÓN MÉTODO MODERNO

SISTEMA API® 20

1) Una vez identificado el agente etiológico a partir del cultivo y la observación al microscopio, inocular el sistema API® 20 correspondiente:

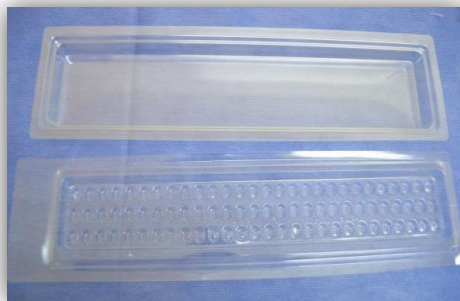
- API® 20 E: *P. aeruginosa*
- API® 20 Staph: *S. aureus*
- API® 20 E: *E. coli*
- API® 20 E: *P. mirabilis*

2) Todas las instrucciones para la preparación de la suspensión, así como para la inoculación de cada uno de los microtubos, y las condiciones de incubación se pueden encontrar claramente especificadas en los instructivos de uso señalados por el fabricante para cada tipo de galería.
(20)

NOTA: para ilustrar esta práctica utilizaremos *P. aeruginosa* como agente etiológico.

PREPARACIÓN DE LA GALERÍA

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



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

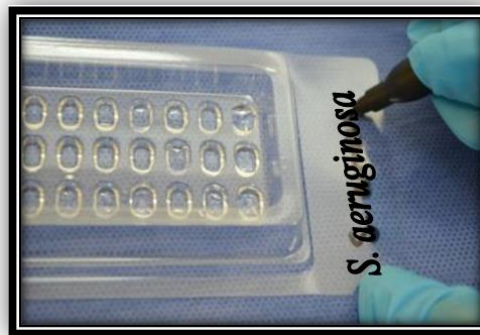


UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

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



- 5) Sacar una galería API® 20 E de su envase individual y colocar la galería en la cámara de incubación. ⁽¹⁹⁾



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

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

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



7) A partir de la cepa ATCC o de una colonia bien aislada del microorganismo, preparar una suspensión bacteriana homogénea en 5 ml de solución salina (0,85% de NaCl) o agua estéril.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

NOTA: La mayoría de las especies de *Vibrio* son halófilas. En caso de sospechar la presencia de un *Vibrio* realizar la suspensión bacteriana en el API NaCl 0,85% Medium.

8) Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación. (19)



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

9) Con ayuda de una pipeta, introducir la suspensión bacteriana en los tubos de la galería. Para evitar la formación de burbujas, inclinar la cámara de incubación hacia delante y colocar la punta de la pipeta en el borde de la cúpula.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

10) Llenar el tubo y la cúpula para las pruebas CIT, VP y GEL. Llenar únicamente los tubos (no las cúpulas) para las otras pruebas.



11) Crear anaerobiosis en las pruebas ADH, LDC, ODC, H₂S y URE llenando las cúpulas con aceite de parafina para formar un menisco convexo.



12) Cerrar la cámara de incubación.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

13) Incubar durante 18-24 horas a 36 °C ± 2 °C. (19)



LECTURA DE LA GALERÍA

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

15) Después del periodo de incubación, el desarrollo de las reacciones se dará por la adición de 1 gota de cada uno de los siguientes reactivos y a continuación se interpretan todas las reacciones conforme a la tabla de identificación. (ANEXO II)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016






UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

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

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

<p>TDA: añadir una gota de FeCl₃ 10% (una gota del reactivo TDA). Positivo= color marrón oscuro</p>	
<p>VP: añadir una gota del reactivo VP1 y una gota del reactivo VP2.</p> <p>Positivo= color rosa fuerte o rojo en 5-10 minutos.</p> <p>Negativo= color rosa débil después de los 10 minutos.</p>	 

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs¹ o dimetilamino-cinamaldehído². O reactivo de James³ dependiendo del reactivo utilizado pueden darse las posibilidades siguientes:

- ¹Positivo= aparece un anillo rosa-rojo.
- ²Positivo= color de rosa a morado en todo el pocillo.
- ³Positivo= rosa



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

Positivo (NO₂)= coloración roja



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

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



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

NOTA: La prueba de Indol y Nitratos deben realizarse en último lugar, ya que liberan gases que pueden alterar la interpretación de otras pruebas. No colocar la tapa después de agregar los reactivos. ⁽¹⁹⁾

- 17) Reportar en el formato los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos. (ANEXO II)

INTERPRETACIÓN

- 18) Determinación del perfil numérico

En la hoja de resultados, los ensayos se separan en grupos de 3 y se asigna para cada uno un valor 0, 1, 2 ó 4, de acuerdo a los siguientes criterios:

- ✓ Si la reacción es negativa se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva se pone: 1 si es el primer pocillo de un triplete, 2 si es el segundo o 4 si es el tercero.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete y con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras que constituye el perfil numérico (Cuadro 5). ⁽¹⁹⁾



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha: 30/09/2016

CUADRO 5. DETERMINACIÓN DEL PERFIL NUMÉRICO API® 20 E (19)

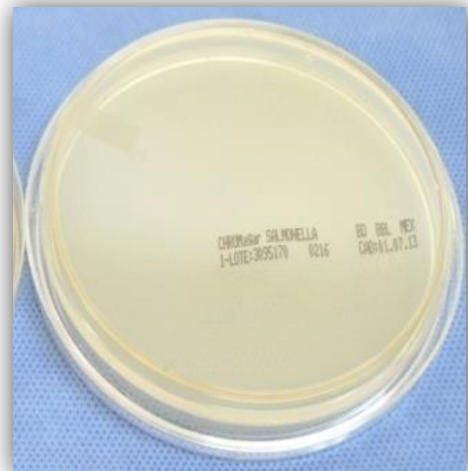
-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	IND	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX
	2			2			0			6			0			0			4	
2 206 004 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>																				

19) La identificación se realiza a partir de la base de datos. (19)

MEDIOS CROMOGENICOS

Una vez identificado el agente etiológico inocular el medio cromogénico correspondiente:

- chromID™ *P. aeruginosa*: *P. aeruginosa*
- chromID™ *S. aureus*: *S. aureus*
- chromID™ ESBL: *E. coli*
P. mirabilis



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

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



- 2) Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35-37 °C durante 24 horas en posición invertida. En caso de resultado negativo a las 24 horas, incubar nuevamente durante 24 horas más para registrar los resultados finales.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

NOTA: Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella, ya que la luz puede destruir los cromógenos. (4, 21)

- 3) Una vez que los colores de las colonias se hayan desarrollado, el agar cromogénico se puede exponer a la luz, para efectuar la lectura de las placas contra un fondo blanco.
- 4) Anotar el resultado correspondiente en el formato de reporte de resultados. (ANEXO II)
- 5) El medio cromogénico chromID™ *P. aeruginosa* permite la detección de:
 - *P. aeruginosa*: colonias de color rosa-violeta (**Figura 5**), específicas de las colonias productoras de aminopeptidasa.



Figura 5. Placa de Agar PAID en donde se puede observar la identificación de *P. aeruginosa* (colonias rosa-violeta). (21)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

6) El medio cromogénico chromID™ *S. aureus* permite la detección de:

- *S. aureus*: colonias de color verde, de las colonias productoras de glucosidasa.
- *S. epidermidis*: colonias de color blancas.
- *S. saprophyticus*: colonias de color rosas.
- *S. xylosus*: colonias de color malva.

7) El medio cromogénico chromID™ ESBL permite la detección de bacterias productoras de β -Lactamasa de espectro extendido:

- *E. coli*: colonias de color rosa a burdeos, de cepas productoras de β -glucoronidasa (β -GUR).
- *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*: colonias de color marrón oscuro a marrón claro de cepas que expresan una desaminasa.
- *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (KESC): colonias de color verde, marrón verdoso o azul de cepas que expresan β -glucoronidasa (β -GUR). (21)

V.3. Fase Postanalítica

Se refiere a los resultados obtenidos, los cuales se especifican en el informe de laboratorio de forma que sea legible y fácil de comprender. (ANEXO IV) (12)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

VI. Referencias

1. Rodríguez Pinto M. Anatomía, Fisiología e Higiene. México DF: Progreso; 1999.
2. Procedimientos microbiológicos. Disponible en:
<http://procedimientosmicrobiologicos.wikispaces.com/EXUDADO+FAR%C3%8DNGEO>
3. Ingraham JL, Ingraham CA. Introducción a la microbiología. Vol. II. Barcelona: Reverte; 1998.
4. Koneman EW, Allen S. Diagnóstico Microbiológico: texto y atlas en color. 6 ed. Médica Panamericana: Buenos Aires; 2008.
5. Ryan KJ, Ray CG. Microbiología médica. 5 ed. México DF: Mc Graw Hill; 2010.
6. Escobedo López AB, Cabrera Maldonado C, Álvarez López JM, Pazos Salazar NJ, Suárez Albores PG, Pérez Fernández MS. Manual de Bacteriología II. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla: México; 2002. Disponible en:
http://www.facultadcienciasquimicas.buap.mx/ligas/acredita/QFB/data/4_2%20Curriculum/4.2.10%20Actas%20de%20C3%A1reas%20Programas%20de%20asig%20y%20Manuales%20Lab/Manuales%20de%20Laboratorio/Microbiolog%C3%ADaLab-pdf/Manual%20Bacteriolog%C3%ADa%20II.pdf
7. Anatomía de la audición. Disponible en:
<http://gonzalo-del-rio.webnode.es/products/referencia-1/>
8. García Martos P, Paredes Salido F, Fernández del Barrio MT. Microbiología clínica práctica. 2 ed. Barcelona: Servicio Publicaciones de la Universidad de Cadis; 1994.
9. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Enfermedades infecciosas, principios y práctica. 4 ed. Buenos Aires: Panamericana; 1997.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

10. Mc Phee SJ, Papadakis MA. Diagnóstico clínico y tratamiento. 50 ed. México DF: Mc Graw-Hill Interamericana; 2012.

11. Mims CA, Playfair J, Raitt IM, Wakelin D, Williams R, Anderson RM. Microbiología médica. Madrid: Mosby; 1995.

12. Fernández C, Mazziotta D. Gestión de la Calidad en el laboratorio clínico. Buenos Aires: Panamericana; 2005.

13. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3 ed. Ginebra: OMS; 2005. Disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf

14. Secretaria Distrital de Salud de Bogotá, D.C. Manual para la toma de muestras para análisis microbiológico. Bogotá: Linotipia Bolívar y Cía; 2008. Disponible en: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/.../Manual%20Toma%20Muestras.pdf>; 2008.

15. Manual de Muestras del tracto respiratorio. Disponible en: http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/mues_trac.pdf

16. MacFaddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2003.

17. Delaat A. Microbiología. 2 ed. México DF: Interamericana; 1983.

18. Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital de clínicas. Manual de toma de muestras para estudio bacteriológico, parasitológico y micológico. Montevideo: Facultad de Medicina; 2004.

19. bioMérieux. API® 20 E, Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes. bioMérieux; 2010. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/4.pdf>

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

20. bioMérieux. Sistemas miniaturizados API®. bioMérieux; 2010. Disponible en: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_anexo2.pdf

21. bioMérieux. Catálogo de medios de cultivo. México: bioMérieux; 2010. Disponible en: <http://ebookbrowse.com/catalogo-medios-de-cultivo-2010-es-pdf-d52553760>

22. bioMérieux. API® 20 Staph, Sistema de identificación de estafilococos, micrococos y géneros relacionados. bioMérieux; 2009. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/6.pdf>

23. Prats G. Microbiología clínica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

ANEXO I. Formato de resultados método tradicional

TINCIÓN DE GRAM

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

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

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

TINCIONES ESPECIALES

CLAVE CEPA			
NOMBRE TINCIÓN			
ESTRUCTURA DEL MICROORGANISMO			
PRESENCIA Y ABUNDANCIA			

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha: 30/09/2016

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

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

² O = Oxidativo

F = Fermentativo

N = No utiliza el carbohidrato

³ A = Ácido

C = Coágulo

F = Fermentativo

G = Gas

P = Peptonización

K = Alcalino

R = Reducción

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

PRUEBAS ESPECIALES

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

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

ANEXO II. Formato de resultados método moderno

API® 20 E

Cepa	O N P G	A D H	L D C	O D C	C I T	H 2 S	U R E	T D A	I N D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A	N O 2	N 2	Identificación	
1																								
2																								
3																								
4																								
5																								

API® 20 Staph

Cepa	0	G L U	F R U	M N E	M A L	L A C	T R E	M A N	X L T	M E L	N I T	P A L	V P	R A F	X Y L	S A C	M D G	N A G	A D H	U D R	Identificación	
1																						
2																						
3																						
4																						
5																						

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

MEDIO CROMOGENICO

MORFOLOGÍA COLONIAL				
CLAVE DE LA CEPA				
MEDIO CROMOGENICO				
TAMAÑO				
FORMA				
BORDE				
COLOR				
SUPERFICIE				
LUZ REFLEJADA				
LUZ TRANSMITIDA				
CRECIMIENTO				
OTRAS ¹				

¹ Características que dependen del medio de cultivo.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha: 30/09/2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN API® 20

API® 20 E

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
ONPG	2-nitro-fenil-β-D-galactopiranosida	0,223	β-galactosidasa (orto-nitrofenil-βD-galactopiranosidasa)	Incoloro	Amarillo (1)
ADH	L-arginina	1,9	Arginina-dihidrolasa	Amarillo	Rojo/Amaranjado (2)
LDC	L-lisina	1,9	Lisina Descarboxilasa	Amarillo	Rojo/Amaranjado (2)
ODC	L-ornitina	1,9	Ornitina Descarboxilasa	Amarillo	Rojo/Amaranjado (2)
CIT	Citrato trisódico	0,756	Utilización del CITrato	Verde pálido/Amarillo	Azul-verde/Azul (3)
H ₂ S	Tiosulfato sódico	0,075	Producción de H ₂ S	Incoloro/Grisáceo	Deposito negro/fin liserado
URE	Urea	0,76	UREasa	Amarillo	Rojo/Amaranjado (2)
TDA	L-triptófano	0,38	Tryptófano DesAminasa	TDA / inmediato	
				Amarillo	Marrón-rojizo
IND	L-triptófano	0,19	Producción de INDole	JAMES / Inmediato	
				Incoloro Verde pálido/Amarillo	Rosa
VP	Piruvato sódica	1,9	Producción de acetoina (Voges Proskauer)	VP1 +VP2 /10 min	
				Incoloro / Rosa pálido	Rosa / Rojo (5)
GEL	Gelatina (origen bovino)	0,6	Gelatinasa (GELatina)	No difusión	Difusión pigmento negro
GLU	D-glucosa	1,9	Fermentación / oxidación (GLUCosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo / Amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	1,9	Fermentación / oxidación (MANitol) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
INO	Inositol	1,9	Fermentación / oxidación (INOsitol) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentación / oxidación (SORbitol) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1,9	Fermentación / oxidación (RHAmnosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1,9	Fermentación / oxidación (SACarosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1,9	Fermentación / oxidación (MELibiosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación / oxidación (AMYgdalina) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,9	Fermentación / oxidación (ARAbinosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

- (1) Un color amarillo muy ligero también implica resultado positivo.
- (2) La aparición de un color naranja tras 36-48 horas de incubación debe considerarse negativa.
- (3) Lectura en la cúpula (zona aerobia).
- (4) La fermentación comienza en la parte inferior de los tubos, mientras que la oxidación empieza en la cúpula.
- (5) Una ligera coloración rosa, que aparece tras 10 minutos, debe ser leída como negativa.¹⁹

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha: 30/09/2016

API® 20 Staph

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
0	Sin sustrato		Testigo negativo	Incoloro	Rosa/Rojizo
GLU	D-glucosa	1,56	(Testigo positivo) (D- glucosa)	Rojo *	Amarillo
FRU	D-fructuosa	1,4	Acidificación (D-FRUctuosa)		
MNE	D-manosa	1,4	Acidificación (D-MANosa)		
MAL	D-maltosa	1,4	Acidificación (MALtosa)		
LAC	D-lactosa (origen bovino)	1,4	Acidificación (LACtosa)		
TRE	D-trehalosa	1,32	Acidificación (D-TREhalosa)		
MAN	D-manitol	1,36	Acidificación (D-MANitol)		
XLT	Xilitol	1,4	Acidificación (XiLiTol)		
MEL	D-melibiosa	1,32	Acidificación (D-MELibiosa)		
NIT	Nitrato de potasio	0,08	Reducción de NITratos a nitritos		
				Incoloro – Rosa claro	Rojo
PAL	β -nafti fosfato	0,0244	Fosfatasa ALcalina	ZYM A + ZYM B / 10 min	
				Amarillo	Violeta
VP	Piruvato de sodio	1,904	Producción de acetil-metil-carbinol (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				Incoloro-Rosa claro	Violeta-Rosáceo

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

RAF	D-rafinosa	1,56	Acidificación (RAFinosa)		
XYL	D-xilosa	1,4	Acidificación (XYLosa)		
SAC	D-sacarosa (sucrosa)	1,32	Acidificación (SACarosa)		
MDG	Metil- α D-glucopiranosida	1,28	Acidificación (Metil- α D-Glucopiranosida)	Rojo	Amarillo
NAG	N-acetil-glucosamina	1,28	Acidificación (N-Acetil-Glucosamina)		
<u>ADH</u>	L-arginina	1,904	Arginina DiHidrolasa	Amarillo	Naranja-Rojo
<u>URE</u>	Urea	0,76	UREasa	Amarillo	Rojo-Violeta

Los ensayos de acidificación deberían compararse con los testigos negativo (0) y positivo (GLU).

* Cuando MNE y XLT van precedidos o seguidos por ensayos positivos, la prueba naranja debería considerarse negativa. (22)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

ANEXO III. Sensibilidad a antibióticos

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

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha: 30/09/2016

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm

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

R = Resistente I = Intermedio S = Sensible

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 54 de 58

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

ANEXO IV. Formato de informe de laboratorio

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA</p>	
FECHA: / /		
NOMBRE DEL PACIENTE: _____		
FOLIO: _____	EDAD: _____	SEXO: (M) (F)
LOCALIDAD: _____		
NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE: _____		
ESTUDIOS REALIZADOS	VALORES DE REFERENCIA	
OBSERVACIONES		

SELLO DEL LABORATORIO	NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE	

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

ANEXO V. Principio del método moderno: API 20 y medios cromogenicos

API® 20

Los sistemas miniaturizados API® 20 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.

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

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

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

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

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

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

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

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

La lectura de estas reacciones se hace por comparación con un control de crecimiento y la identificación se obtiene, a partir de un código numérico, mediante un catálogo analítico o un programa informático. ⁽²⁰⁾

MEDIOS CROMOGÉNICOS

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

Para este propósito se utilizan azúcares como el manitol, la lactosa, el sorbitol y otros, junto con un indicador de pH (rojo neutro, azul de bromotimol, etc.).

En la actualidad los medios selectivos – diferenciales tienden a prepararse utilizando sustancias cromogénicas. ⁽²³⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

Medio cromogénico: Los sustratos enzimáticos cromogénicos son compuestos que actúan como sustratos para enzimas específicas y cambian de color debido a la acción de la enzima sobre el sustrato. (4)

Dichas sustancias son productos químicos de síntesis que son incoloros cuando se unen a sustratos naturales por enlaces que son hidrolizados por enzimas microbianas específicas. Cuando la enzima microbiana hidroliza el enlace, se libera el compuesto cromogénico, que adquiere un color intenso. Así, por ejemplo, la galactosa se une a un colorante, el ortonitrofenol (ONF), por un enlace químico que es reconocido por una enzima bacteriana, la β -galactosidasa, cuya función natural es reconocer e hidrolizar el enlace entre la galactosa y la glucosa (que constituyen la lactosa). El complejo galactosa-ONF es incoloro, pero cuando es hidrolizado por la β -galactosidasa y se libera el ONF, éste adquiere un intenso color amarillo. La aparición de ese color en la colonia y a su alrededor indica la presencia de la enzima. Algunas enzimas son específicas de un género, una especie o propias de un reducido número de especies, por lo que su detección permite su identificación. (23)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado ótico.

Fecha:30/09/2016

ANEXO VI. Cuestionario

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

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 59

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

PRÁCTICA

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR MEDIANTE EL EXUDADO FARÍNGEO



ELABORADO POR:

Q. F. B. ANGÉLICA RAMÓN OLIVERA

Q. F. B. STEFANY LILIANA ORTEGA CORTÉS

M. EN C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Inicio

Realizado con apoyo del proyecto PAPIME PE 209012

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	5
II. OBJETIVOS.....	9
III. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	10
IV. PROPÓSITO DEL EXAMEN	13
V. METODOLOGÍA.....	14
V.1. Fase Preanalítica	14
V.2. Fase Analítica.....	21
V.3. Fase Post analítica.....	37
VI. REFERENCIAS	38
ANEXO I. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO TRADICIONAL.....	41
ANEXO II. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO.....	44
ANEXO III. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS.....	53
ANEXO IV. FORMATO DE INFORME DE LABORATORIO.....	55
ANEXO V. PRINCIPIO DEL MÉTODO MODERNO: API 20 Y MEDIOS CROMOGENICOS	56
ANEXO VI. CUESTIONARIO	59

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

I. Introducción

El sistema respiratorio está constituido por un conjunto de órganos cuya función es la de conducir el oxígeno hasta los glóbulos rojos de la sangre. Estos órganos pueden agruparse en dos categorías:

- ❖ Las vías respiratorias superiores (la boca, la cavidad nasal, la faringe y la laringe, además del oído medio y externo).
- ❖ Las vías respiratorias inferiores (la tráquea, los bronquios, los bronquiolos y los alveolos pulmonares) (Figura 1). (1,2)

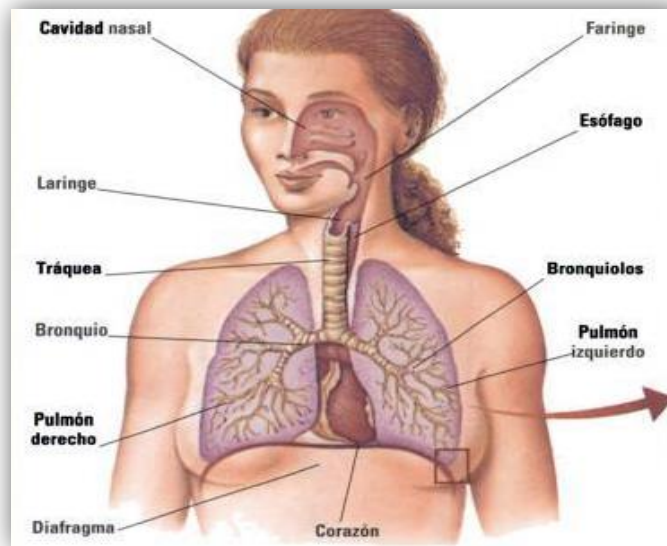


Figura 1. Anatomía del sistema respiratorio. (3)

Las vías respiratorias superiores se encuentran alojadas en la cara y en la parte superior del cuello, y las vías inferiores en la parte inferior del cuello y en el interior del tórax. (1)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

El tracto respiratorio superior esta colonizado por muchos microorganismos, la mayoría considerados parte de la biota normal. Pero también podemos encontrar microorganismos potencialmente patógenos como son: Estreptococos grupo A (β -hemolíticos), *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, especies de *Klebsiella*, *Bacteroides*, Enterobacterias, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Bordetella pertussis*. Siendo de esta forma las bacterias los patógenos más virulentos de las vías respiratorias superiores, aunque la mayoría de las infecciones que causan pueden ser prevenidas o tratadas eficazmente. Cabe mencionar que estos microorganismos patógenos pueden estar presentes en la biota normal y no ser la principal causa de la infección. (4, 5, 6)

La faringitis es la inflamación de la faringe causada por varios grupos de distintos microorganismos que se propagan de persona a persona por contacto directo o en aerosol y es considerada la infección de vías respiratorias superiores más frecuente. Las dos causas más comunes de esta infección son:

- ❖ Virus (rinovirus, adenovirus, Coxsackievirus, virus de Epstein-Barr, VIH, virus gripales y para gripales, casi en un 70%).
- ❖ Bacterias: *Streptococcus pyogenes* (grupo A, β -hemolítico) siendo el más importante de diagnosticar debido a que puede causar complicaciones, *Corynebacterium diphtheriae*, *Haemophilus influenzae* (tipo B) que ocasiona epiglotitis grave con obstrucción de la vía aérea especialmente en niños pequeños y *Neisseria gonorrhoeae*. Las cuales se adhieren a la superficie mucosa y en ocasiones invaden los tejidos locales.
- ❖ Mientras que el *Mycoplasma sp.* o *Chlamydia pneumoniae* pueden ocasionar gran parte del 30% de los cultivos negativos restantes. (7, 8, 9)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

La faringitis por *S. pyogenes* (**Figura 2**) varía desde leve a grave y se caracteriza por fiebre, adenomegalia regional, una faringe y úvula de color rojo brillante, exudado purulento en la pared faríngea o amigdalitis con pus en los folículos. Las complicaciones son raras si el tratamiento es inmediato, estas son:

- ❖ Diseminación local para producir periamigdalitis o absceso periamigdalino e infecciones del espacio facial.
- ❖ Diseminación distante para producir sinusitis, otitis media, mastoiditis, sepsis consecutiva o extensión a lo largo de la vaina carotidea para producir infección mediastínica.
- ❖ Producción de toxina: fiebre escarlatina.
- ❖ Lesión inmunitaria: fiebre reumática y glomerulonefritis. ⁽⁸⁾



Figura 2. Amigdalitis estreptocócica debida a *S. pyogenes* β -hemolítico grupo A, con eritema intenso en las amígdalas y un exudado cremoso amarillento. ⁽⁹⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

El cultivo y el examen microscópico de las muestras de las secreciones del exudado faríngeo son importantes para el diagnóstico de las infecciones de vías respiratorias superiores; ya que nos permite la identificación de las bacterias patógenas, principalmente al *S. pyogenes*.⁽⁸⁾

Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

Fase preanalítica: es importante, y de ella depende en gran medida el resultado final. Aquí se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma. Se indican los reactivos que serán empleados, y en este caso la correcta manipulación de las cepas ATCC más representativas a utilizar para cada módulo.

Fase analítica: se describen los métodos de laboratorio empleados en esta área, los cuales son explicados de manera clara, precisa y sencilla para ser llevados a cabo por el personal del área que lo consulte y lograr la correcta ejecución de las pruebas ya que en esta etapa se exigen técnicas estandarizadas, equipos adecuados bien calibrados (en El Manual de PNO's de los Equipos del Laboratorio de Microbiología Médica, se describen las especificaciones y características de estos, sus normas de funcionamiento, calibración, etc.) y reactivos.

Se explica el uso de los medios de cultivos selectivos, diferenciales, de transporte, de enriquecimiento, pruebas bioquímicas y pruebas especiales; así como también de los métodos modernos de diagnóstico como el sistema API® 20 y de los medios cromogénicos.

Fase postanalítica: se refiere a los resultados obtenidos los cuales se especifican en el informe del laboratorio de forma que sea legible y fácil de comprender. A esta fase se llega partiendo de que las fases preanalítica y analítica son realizadas con el rigor técnico y científico exigido por un sistema de gestión de la calidad.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

El control de calidad es responsabilidad de la persona a cargo del área de microbiología, la cual debe asegurarse de que las pruebas realizadas sean procesadas con calidad y de que los resultados sean confiables, reproducibles y tan exactos como sea posible, siguiendo los procedimientos establecidos. ⁽¹⁰⁾

En el presente trabajo se establecen los métodos tradicionales y métodos modernos (sistema API® 20 y medios cromogénicos) de diagnóstico microbiológico empleados para microorganismos causantes de infecciones del sistema respiratorio y el estudio se realizará en el laboratorio Microbiología Médica de la FES Zaragoza.

Estas prácticas se pretenden implementar en la clínica multidisciplinaria de la FES Zaragoza de tal forma que nos permitan el diagnóstico de microorganismos causantes de patologías en los sistemas del cuerpo humano y así tener un mejor conocimiento en cuanto a la identificación de los microorganismos por género y especie.

Cabe señalar que al final de la práctica se realizó un cuestionario que tiene por objetivo validar la utilidad de la misma, y con las opiniones de alumnos y profesores establecer un proceso de mejora continua de esta práctica.

II. Objetivos

- ❖ Utilizar los procedimientos de los métodos tradicionales y modernos de diagnóstico microbiológico para identificar a los microorganismos patógenos que se encuentran en un exudado faríngeo.
- ❖ Utilizar el sistema API® 20 y medios cromogénicos como métodos modernos de diagnóstico.
- ❖ Utilizar cepas ATCC de bacterias frecuentemente encontradas en un exudado faríngeo como control de calidad en los métodos tradicionales y modernos de diagnóstico.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

III. Medidas de bioseguridad

De acuerdo con la publicación de la OMS en 2005, se hace referencia a los peligros relativos que entrañan los microorganismos infecciosos clasificados por grupos de riesgo, la cual se utilizará exclusivamente para el trabajo de laboratorio (**Cuadro 1**).

CUADRO 1. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS INFECCIOSOS POR GRUPOS DE RIESGO. (11)

Grupo de riesgo 1	Riesgo individual y poblacional escaso o nulo. Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales.
Grupo de riesgo 2	Riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo. Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales pero que tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, el ganado o el medio ambiente. La exposición en el laboratorio puede provocar una infección grave, pero existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es limitado.
Grupo de riesgo 3	Riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo. Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que de ordinario no se propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.
Grupo de riesgo 4	Riesgo individual y poblacional elevado. Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

Las designaciones del nivel de bioseguridad se basan en el tipo de instalaciones (características de diseño, construcción, medios de contención), el equipo a utilizar, las prácticas y procedimientos de operación necesarios para trabajar con los agentes patógenos de los distintos grupos de riesgo (**Cuadro 2**). Por ello el nivel de bioseguridad que tiene el laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza es de nivel 1. De tal forma que existe una relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad y con ello la clasificación del tipo de laboratorio y el equipo de seguridad.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilia Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

CUADRO 2. RELACIÓN DEL GRUPO DE RIESGO CON EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD, LAS PRÁCTICAS Y EL EQUIPO. ⁽¹¹⁾

Grupo de riesgo	Nivel de bioseguridad	Tipo de laboratorio	Prácticas de laboratorio	Equipo de seguridad
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación.	Técnicas microbiológicas apropiadas.	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto.

Por ello cada laboratorio debe adoptar un manual de seguridad o de trabajo en el que identifiquen los riesgos conocidos y potenciales, y se especifiquen las prácticas y los procedimientos encaminados a eliminar o reducir al mínimo esos riesgos.

A continuación se mencionan algunos aspectos importantes en cuanto a las medidas de bioseguridad.

Protección personal:

- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan entrañar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados. Una vez utilizados, los guantes se retirarán de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos (**Figura 3**).
- El personal deberá lavarse las manos después de manipular materiales y animales infecciosos, así como antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán gafas de seguridad u otros dispositivos de protección cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impactos y fuentes de radiación ultravioleta artificial.
- Estará prohibido usar prendas protectoras fuera de laboratorio.
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- La ropa protectora de laboratorio no se guardará en los mismos armarios que la ropa de calle. ⁽¹¹⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016



Figura 3. Protección personal.

Zonas de trabajo del laboratorio:

- El laboratorio se mantendrá ordenado y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso, al inicio y al final de cada jornada de trabajo. ⁽¹¹⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

Manipulación de desechos:

Todos los materiales, muestras y cultivos contaminados deberán ser descontaminados antes de eliminarlos o de limpiarlos para volverlos a utilizar. ⁽¹¹⁾

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



IV. Propósito del examen

El diseño de esta práctica va encaminado al diagnóstico microbiológico de *Streptococcus* β -hemolíticos y otras bacterias aisladas de un exudado faríngeo, que según el criterio clínico puedan interpretarse como patógenas.

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y un método moderno de diagnóstico (sistema API® 20 y medios cromogénicos), empleando cepas ATCC de bacterias patógenas que se considerarán como control de calidad, con el objetivo de conocer los fundamentos y pasos a seguir de los mismos. De manera que se pretende mejorar el proceso de enseñanza y aprendizaje, así como la preparación académica de los alumnos que cursan el módulo de laboratorio de Microbiología Médica; ya que los alumnos tendrán los conocimientos teóricos y prácticos necesarios para cada una de las etapas de control de calidad de la práctica.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

V. Metodología

V.1. Fase Preanalítica

INDICACIONES Y PRECAUCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA

Se debe indicar al paciente las siguientes condiciones previas a la toma de muestra.

- 1 No haber estado en tratamiento con antibióticos al menos 7 días antes de la toma de muestra.

NOTA: si lo anterior no es posible se debe obtener la muestra justo antes de la administración de la dosis, o tras 48 horas de finalizar el tratamiento.



- 2 No deberá lavarse los dientes antes de la toma de muestra.
- 3 No hacer gárgaras ni limpieza con ninguna solución bucofaríngea.
- 4 Presentarse al laboratorio en ayuno total (no tomar agua). (4, 12, 13)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

5 Antes y después de cada procedimiento lavarse las manos correctamente.



6 El personal de laboratorio deberá usar bata (a fin de evitar que la ropa de calle se pueda contaminar o ensuciar), guantes y cubreboca. ⁽¹¹⁾



7 Tener preparado hisopos, abate lenguas, portaobjetos y medio de transporte para el Exudado Faríngeo.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

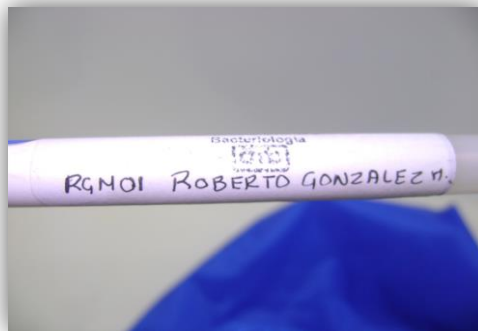
Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

- 8 Tener encendido el mechero pues éste dará el área de esterilidad para realizar la toma de muestra.



- 9 Etiquetar el medio del transporte con los datos del paciente. (11, 12, 14)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

En el siguiente cuadro se enlistan los materiales que se ocuparán durante la práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

CUADRO 3. MATERIAL NECESARIO PARA LA TOMA DE MUESTRA DEL EXUDADO FARÍNGEO. (4, 11, 12, 15, 16)

MATERIAL	CEPAS ATCC	MEDIOS	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Guantes ▪ Cubreboca ▪ Mechero de Bunsen ▪ Gradilla ▪ Hisopos de dacrón o alginato de calcio ▪ Abate lenguas ▪ Portaobjetos ▪ Asa bacteriológica ▪ Pipeta ▪ Aceite de inmersión 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>S. pyogenes</i> ▪ <i>S. aureus</i> ▪ <i>K. pneumoniae</i> ▪ <i>C. diphtheriae</i> 	<p><u>Transporte</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Stuar Amies <p><u>Cultivo</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Sangre de Carnero (ASC) 5% ▪ Agar Chocolate ▪ Agar Soya ▪ Tripticasa (AST) ▪ Agar Sal y Manitol ▪ Agar EMB ▪ Agar Loeffler <p><u>Susceptibilidad antibióticos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Müeller Hinton 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sensibilidad a la Bacitracina ▪ Rojo de Fenol más CHO's: ▪ Lactosa ▪ Trehalosa ▪ Sacarosa ▪ Glucosa ▪ Maltosa ▪ Salicina ▪ Leche Tornasol ▪ Azul de Metileno ▪ Prueba de coagulasa ▪ Hugh-Leifson: Manitol con y sin sello ▪ Urea de Christensen ▪ Citrato de Simmons ▪ Caldo Nitrato ▪ RMVP ▪ SIM ▪ TSI ▪ LIA ▪ MIO ▪ Prueba de Elek 	<p><u>Tinción de Gram</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cristal violeta ▪ Lugol ▪ Alcohol-Cetona ▪ Safranina <p><u>Tinción de Cápsula</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Tinta China o Rojo Congo ▪ Mordiente de cápsula <p><u>Tinción de Albert</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Colorante de Albert ▪ Lugol <p><u>Prueba de catalasa</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Peróxido de hidrógeno <p><u>SIM</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Kovacs <p><u>RMVP</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Indicador Rojo de Metilo ▪ KOH 40% ▪ α-naftol <p><u>Caldo Nitrato</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ácido sulfanílico ▪ α-naftilamina

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA DEL EXUDADO FARÍNGEO

1) Informar al paciente sobre el procedimiento a realizar. (17)

2) Colocar al paciente en una silla ergonómica y bajo una buena fuente de luz.



3) Se debe enfocar una luz brillante, dentro de la cavidad bucal del paciente, por encima del hombro de la persona que va a tomar la muestra.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

- 4) Se indica al paciente que incline la cabeza hacia atrás, respire profundo y abra la boca. La lengua se presiona con suavidad con un abate lenguas para visualizar las fosas amigdalinas y la faringe posterior para localizar el área de inflamación, ulceración y exudado.



- 5) Se dirige el hisopo (alginato de calcio o de dacrón) sobre la lengua hacia la porción posterior de la faringe, entre los pilares amigdalinos y por detrás de la úvula. La emisión de un "ah" por parte del paciente sirve para elevar la úvula y ayuda a reducir el reflejo del vómito.

NOTA: se debe tener cuidado de no tocar las paredes laterales de la cavidad bucal, úvula o la lengua para reducir al mínimo la contaminación con bacterias comensales.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

6) Se pasa el hisopo con un movimiento de barrido suave y haciéndolo rotar entre los pilares amigdalinos, la parte posterior de la faringe y por todo el exudado purulento y/o membranas formadas sobre las lesiones. (4, 10, 12, 14, 15)



7) Introducir el hisopo con la muestra en el medio de transporte adecuado a la etiología que se sospeche.

NOTA: Transportar durante los primeros 15 minutos de la recolección y a temperatura ambiente. Si no se puede trabajar de inmediato la muestra mantener entre 4-10 °C (no exceder de 2 horas). (12, 14, 17)



8) Todos los materiales utilizados deberán desecharse como Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos. (11)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

V.2. Fase Analítica

En esta fase se describen los métodos: tradicional y moderno de diagnóstico, los cuales son explicados a manera de resumen en el siguiente cuadro (**Cuadro 4**), mostrando el procedimiento a seguir para el diagnóstico microbiológico a partir de muestra clínica o partiendo de cepas ATCC. Posteriormente ambos métodos serán detallados de forma clara, precisa y sencilla.

CUADRO 4. PROCEDIMIENTO DEL MÉTODO: TRADICIONAL Y MODERNO DE DIAGNÓSTICO. (4, 7, 9, 12, 19, 21)

Método tradicional		Método moderno	
Origen de la muestra a analizar			
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
Realizar las siguientes actividades:			
<u>Cultivo</u> De la muestra del exudado faríngeo para aislamiento en la superficie del medio. ↓ <u>Incubar placas</u> 35-37 °C / 24-48 horas. ↓ <u>Tinción de Gram</u> ↓ <u>Examen microscópico</u> Objetivo 100X ↓ <u>Pruebas bioquímicas</u> ↓ <u>Susceptibilidad a antibióticos</u> (Antibiograma) ↓ <u>Identificación de bacterias</u>		<u>Sistema API® 20</u> <u>Preparación de la galería</u> Colocar 5 ml de agua en el panel de pocillos de la cámara para proporcionar una atmósfera húmeda durante la incubación. ↓ <u>Preparación del inóculo</u> A partir de una colonia aislada del microorganismo, preparar una suspensión bacteriana con 2 ml de agua. ↓ <u>Inoculación de la galería</u> Llenar con la suspensión bacteriana desde el ensayo VP al ADH. ↓ Con el sobrante de la suspensión anterior preparar una nueva, y repartir desde el ensayo RIB al GLYG. ↓	

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

Cubrir con parafina las cúpulas desde el ensayo ADH al GLYG.

↓
Cerrar la cámara de incubación.

↓
Incubar

35-37 °C / 18-24 horas

↓
Lectura de la galería

Se da por comparación de los colores con las tablas de lectura:

* Se anotan los resultados que no requieren ser revelados.

*Posteriormente se agregan los reactivos necesarios para revelar las pruebas.

↓
Interpretación

Determinación del perfil numérico

Medios cromogénicos

Sembrar muestra

En la superficie del medio.

↓
Incubar placas

35-37 °C / 24 horas.

Nota: reducir al mínimo la exposición a la luz antes y durante la incubación.

↓
Observar colonias

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

A. DESCRIPCIÓN MÉTODO TRADICIONAL

La sospecha clínica de faringitis debe confirmarse a través del examen por cultivo y posteriormente microscópico de las colonias aisladas.

CULTIVO

1) Sembrar la muestra obtenida por estría cruzada (**Figura 4**) en las placas de:

- ASC 5%
- Agar Chocolate
- AST
- Agar Sal y Manitol
- Agar EMB
- Agar Loeffler (*C. diphtheriae*).
- Agar Thayer-Martín (*N. gonorrhoeae*).
- Agar Regan-Lowe (*B. pertusis*). (4, 7, 9, 12, 18, 19)

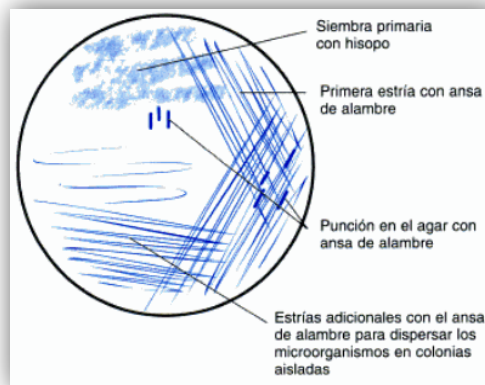


Figura 4. Técnica de estría, punción y aislamiento de estreptococos β -hemolíticos. (4)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

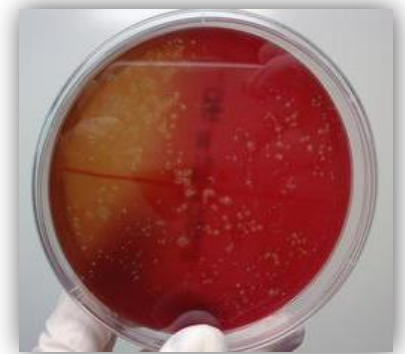
Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

2) Incubar 24 a 48 horas a 37 °C.

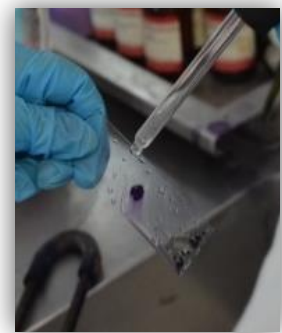


3) Observar la morfología colonial de las bacterias en cada uno de los medios inoculados, a fin de seleccionar el crecimiento del posible patógeno. ⁽⁴⁾



4) Realizar las preparaciones de las colonias aisladas en cada una de las placas y teñir con la técnica de Gram.

NOTA: si se requiere, realizar la tinción de cápsula o de Albert.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

5) Observar las preparaciones al microscopio utilizando el objetivo 100X. (4)



6) Realizar la inoculación de las pruebas bioquímicas seleccionadas a partir de las colonias aisladas del medio de cultivo utilizado, de acuerdo al criterio y resultado sugerente al tipo de microorganismo aislado en los mismos.



7) Incubar 24 a 48 horas a 37 °C.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

8) Realizar las lecturas de las pruebas realizadas. (4)

SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

9) Realizar antibiograma (Figura 5) del agente etiológico.

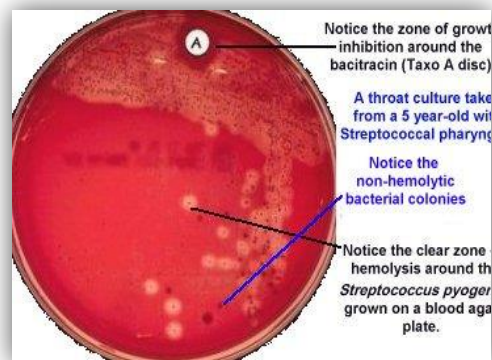


Figura 5. Placa de Agar Sangre en donde se puede observar la inhibición de *S. pyogenes* alrededor del disco "A" de Bacitracina. (2)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

- 10) En una placa de Agar Müeller Hinton inocular en todo el medio el microorganismo identificado, a partir de una colonia aislada.



- 11) Incubar la placa a 35-37 °C por 24 horas.



- 12) Realizar la lectura del antibiograma, utilizando la hoja para sensibilidad a antibióticos. (ANEXO III) (4)

RESULTADOS

- 13) Reportar todos los resultados en los formatos, para tinción, morfología colonial, pruebas bioquímicas y pruebas especiales. (ANEXO I).

- 14) Realizar la discusión de los resultados y las conclusiones.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



B. DESCRIPCIÓN MÉTODO MODERNO

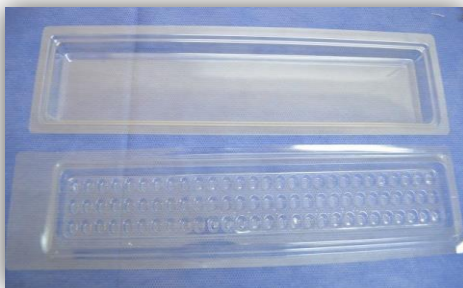
SISTEMA API® 20

- 1) Una vez identificado el agente etiológico a partir del cultivo y la observación al microscopio, inocular el sistema API® 20 correspondiente:
 - API® 20 Strep: *S. pyogenes*
 - API® 20 Staph: *S. aureus*
 - API® 20 E: *K. pneumoniae*
 - API® 20 Coryne: *C. diphtheriae*
- 2) Todas las instrucciones para la preparación de la suspensión, así como para la inoculación de cada uno de los microtubos, y las condiciones de incubación se pueden encontrar claramente especificadas en los instructivos de uso señalados por el fabricante para cada tipo de galería. ⁽²⁰⁾

NOTA: para ilustrar esta práctica utilizaremos *S. pyogenes* como agente etiológico.

PREPARACIÓN DE LA GALERÍA

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



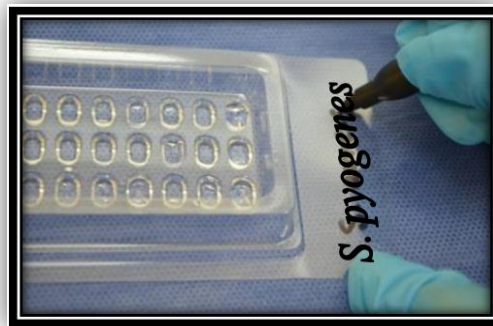


UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

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



- 5) Sacar una galería API® 20 Strep de su envase individual y colocar la galería en la cámara de incubación. ²¹



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

6) Abrir una ampolla de API Suspensión Medium (2 ml) o bien utilizar un tubo que contenga 2 ml de agua destilada:

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



7) A partir de la cepa ATCC o una colonia bien aislada del microorganismo, preparar una suspensión bacteriana homogénea y muy densa con una turbidez superior a 4 de McFarland.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

8) Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación. (21)



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

9) Con ayuda de una pipeta, rellenar la primera mitad de la galería (desde el ensayo VP al ADH) con la suspensión anterior. Para evitar la formación de burbujas, inclinar la cámara de incubación hacia delante y colocar la punta de la pipeta en el borde de la cúpula.

- ✓ Para los ensayos desde VP al LAP, agregar aproximadamente 100 µl en cada cúpula.
- ✓ Para el ensayo ADH: llenar únicamente el tubo.



10) En la segunda mitad de la galería (desde el ensayo RIB al GLYG):

- ✓ Abrir una ampolla de API GP Medium y transferir allí el resto de la suspensión (0,5 ml como mínimo). Homogeneizar bien.
- ✓ Repartir esta nueva suspensión sólo en los tubos.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

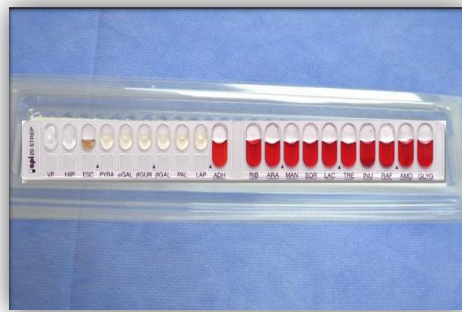


UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

- 11) Crear anaerobiosis llenando las cúpulas de las pruebas subrayadas desde la ADH a la GLYG con aceite de parafina, provocando un menisco convexo.



- 12) Cerrar la cámara de incubación.

- 13) Incubar durante 18-24 horas a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ en aerobiosis. ⁽²¹⁾



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

LECTURA DE LA GALERÍA

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

15) Después del periodo de incubación, el desarrollo de las reacciones se dará por la adición de 1 gota de cada uno de los siguientes reactivos y a continuación se interpretan todas las reacciones conforme a la tabla de identificación (ANEXO II):

❖ **VP:** Añadir una gota de VP1 y una de VP2.

Positivo: color rosa fuerte o rojo en 10 minutos.

Negativo: incoloro o color rosa débil después de 10 minutos.

❖ **HIP:** Añadir dos gotas de NIN.

Positivo: color azul oscuro o violeta en 10 minutos.

Negativo: incoloro, color azul pálido o gris azulado después de 10 minutos.

❖ **PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP:** Añadir una gota de ZYM A y ZYM B (*).

Positivo: PYRA (naranja), α GAL (violeta), β GUR (azul), β GAL (violeta), PAL (violeta), LAP (naranja) en 10 minutos.

Negativo: PYRA (incoloro o naranja muy pálido), α GAL (incoloro), β GUR (incoloro), β GAL (incoloro o violeta muy pálido), PAL (incoloro o violeta muy pálido), LAP (incoloro) después de 10 minutos.

(* Se recomienda controlar cada ampolla de reactivo ZYM B antes de la 1era utilización. ⁽²¹⁾

16) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato. (ANEXO II)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliána Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

INTERPRETACIÓN

17) Determinación del perfil numérico

En la hoja de resultados, los ensayos se separan en grupos de 3 y se asigna para cada uno un valor 0, 1, 2 ó 4, de acuerdo a los siguientes criterios:

- ✓ Si la reacción es negativa se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva se pone: 1 si es el primer pocillo de un triplete, 2 si es el segundo o 4 si es el tercero.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete y con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras que constituye el perfil numérico (Cuadro 5).⁽¹⁹⁾



CUADRO 5. DETERMINACIÓN DEL PERFIL NUMÉRICO API® 20 STREP⁽²¹⁾

+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	
VP	HIP	ESC	PYRA	αGAL	βGUR	βGAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG	βHEM
5			2			4			0			7			7			0		
5 240 770 <i>Streptococcus mutans</i>																				

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

NOTA: La reacción hemolítica constituye el ensayo n° 21; la β -hemólisis se considera como positiva y su valor numérico es 4. Cualquier otra reacción hemolítica se considera como negativa y su valor numérico es 0. (21)

18) La identificación se realiza a partir de la base de datos. (21)

MEDIOS CROMOGÉNICOS

Una vez identificado el agente etiológico y si se tratará de *S. aureus*, inocular el medio cromogénico correspondiente:

- chromID™ *S. aureus* (SAID): *S. aureus*



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



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

2) Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35-37 °C durante 24 horas en posición invertida. En caso de resultado negativo a las 24 horas, incubar nuevamente durante 24 horas más para registrar los resultados finales.



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

3) Una vez que los colores de las colonias se hayan desarrollado, el agar cromogénico se puede exponer a la luz, para efectuar la lectura de las placas contra un fondo blanco.



Figura 6. Placa de Agar SAID en donde se puede observar la identificación de *S. aureus* (colonias verdes). (22)

4) Anotar el resultado correspondiente en el formato de reporte de resultados. (ANEXO II)

5) El medio cromogénico para *S. aureus* permite la detección de:

- *S. aureus* (colonias de color verde). Basada en el desarrollo espontáneo del color verde de las colonias productoras de glucosidasa. (Figura 6)
- *S. epidermidis* (colonias blancas)
- *S. saprophyticus* (colonias rosas)
- *S. xylosus* (colonias malva).
- Inhibición de otras bacterias (Gram+ y Gram-) y levaduras. (22)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

V.3. Fase Postanalítica

Se refiere a los resultados obtenidos, los cuales se especifican en el informe de laboratorio de forma que sea legible y fácil de comprender. (ANEXO IV) ⁽¹⁰⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

VI. Referencias

1. Rodríguez Pinto M. Anatomía, Fisiología e Higiene. México DF: Progreso; 1999.
2. Procedimientos microbiológicos. Disponible en: <http://procedimientosmicrobiologicos.wikispaces.com/EXUDADO+FAR%C3%8DNGEO>
3. Campos P. Biología 2. Barcelona: Limusa; 2002.
4. Koneman EW, Allen S. Diagnóstico Microbiológico: texto y atlas en color. 6 ed. Médica Panamericana: Buenos Aires; 2008.
5. Ingraham JL, Ingraham CA. Introducción a la microbiología. Vol. II. Barcelona: Reverte; 1998.
6. Ryan KJ, Ray CG. Microbiología médica. 5 ed. México DF: Mc Graw Hill; 2010.
7. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Enfermedades infecciosas, principios y práctica. 4 ed. Buenos Aires: Panamericana; 1997.
8. Spicer WJ. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas (Texto y atlas en color). 2 ed. Barcelona: Elsevier; 2009.
9. Mims CA, Playfair J, Raitt IM, Wakelin D, Williams R, Anderson RM. Microbiología médica. Madrid: Mosby; 1995.
10. Fernández C, Mazziotta D. Gestión de la Calidad en el laboratorio clínico. Buenos Aires: Panamericana; 2005.
11. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3 ed. Ginebra: OMS; 2005. Disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

12. Secretaria Distrital de Salud de Bogotá, D.C. Manual para la toma de muestras para análisis microbiológico. Bogotá: Linotipia Bolívar y Cía; 2008. Disponible en: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/.../Manual%20Toma%20Muestras.pdf>; 2008.
13. Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital de clínicas. Manual de toma de muestras para estudio bacteriológico, parasitológico y micológico. Montevideo: Facultad de Medicina; 2004.
14. Hernando Moreno A, Gutiérrez López E. Higiene del medio hospitalario y limpieza de material. Madrid: Editex; 2009.
15. Manual de Muestras del tracto respiratorio. Disponible en: http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/mues_trac.pdf
16. bioMérieux. Catalogo de medios de cultivo. México: bioMérieux; 2010. Disponible en: <http://ebookbrowse.com/catalogo-medios-de-cultivo-2010-es-pdf-d52553760>
17. Delaat A. Microbiología. 2 ed. México DF: Interamericana; 1983.
18. López García MJ, Cárdenas Povedano M, Urbano Felices A. Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones respiratorias. Barcelona: OmniaScience; 1995.
19. Lynch MJ, Raphael SS, Mellor LD, Spare PD, Inwood MJ. Métodos de laboratorio. 2 ed. México DF: Interamericana; 1972.
20. bioMérieux. Sistemas miniaturizados API®. bioMérieux; 2010. Disponible en: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_anexo2.pdf
21. bioMérieux. API® 20 Strep, Sistema de identificación de los *Streptococcaceae* y otros gérmenes emparentados. bioMérieux; 2009. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/7.pdf>

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

22. bioMérieux. Catalogo de medios de cultivo. bioMérieux; 2010. Disponible en: <http://ebookbrowse.com/catalogo-medios-de-cultivo-2010-es-pdf-d52553760>
23. bioMérieux. API® 20 Staph, Sistema de identificación de estafilococos, micrococos y géneros relacionados. bioMérieux; 2009. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/6.pdf>
24. bioMérieux. API® 20 E, Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes. bioMérieux; 2010. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/4.pdf>
25. Manual de procedimientos del laboratorio médico de Toronto, Identificación de *Corynebacterium* (API Coryne). 2000. Disponible en: http://microbiology.mtsinai.on.ca/manual/tech/tech04_01.pdf
26. Prats G. Microbiología clínica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

ANEXO I. Formato de resultados método tradicional

TINCIÓN DE GRAM

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

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

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

TINCIONES ESPECIALES

CLAVE CEPA			
NOMBRE TINCIÓN			
ESTRUCTURA DEL MICROORGANISMO			
PRESENCIA Y ABUNDANCIA			

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

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

² O = Oxidativo

F = Fermentativo

N = No utiliza el carbohidrato

³ A = Ácido

C = Coágulo

F = Fermentativo

G = Gas

P = Peptonización

K = Alcalino

R = Reducción

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

PRUEBAS ESPECIALES

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

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

ANEXO II. Formato de resultados método moderno

API® 20 Strep

Cepa	V P	H I P	E S C	P Y R A	α G A L	β G U R	β G A L	P A L	L A P	A D H	R I B	A R A	M A N	S O R	L A C	T R E	I N U	R A F	A M D	G L Y G	Identificación	
1																						
2																						
3																						
4																						
5																						

API® 20 Staph

Cepa	0	G L U	F R U	M N E	M A L	L A C	T R E	M A N	X L T	M E L	N I T	P A L	V P	R A F	X Y L	S A C	M D G	N A G	A D H	U R E	Identificación	
1																						
2																						
3																						
4																						
5																						

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilia Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

API® 20 E

Cepa	O N P G	A D H C	L D C	O D C	C I T	H 2 S	U R E	T D A	I N D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A	N 2 O	N 2	Identificación	
1																								
2																								
3																								
4																								
5																								

API® 20 Coryne

Cepa	N I T	P Y Z	P y r A	P A L	β G U R	β G A L	α G L U	β N A G	E S C	U R E	G E L	0	G L U	R I B	X Y L	M A N	M A L	L A C	S A C	G L Y G	Identificación	
1																						
2																						
3																						
4																						
5																						

MEDIO CROMOGÉNICO

MORFOLOGÍA COLONIAL			
CLAVE DE LA CEPA			
MEDIO CROMOGÉNICO			
TAMAÑO			
FORMA			
BORDE			
COLOR			
SUPERFICIE			
LUZ REFLEJADA			
LUZ TRANSMITIDA			
CRECIMIENTO			
OTRAS ¹			

¹ Características que dependen del medio de cultivo.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

* TABLA DE IDENTIFICACIÓN API® 20

API® 20 Strep

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS			
				NEGATIVO		POSITIVO	
VP	Piruvato sódico	1,9	Producción de acetoína (Voges Proskauer)	VP1 + VP2 / hasta 10 min (3)			
				Incoloro		Rosa/Rojizo	
HIP	Ácido hipúrico	0,4	Hidrólisis (ácido HIPúrico)	NIN/ hasta 10 min			
				Incoloro / Azul pálido / Gris azulado		Azul oscuro / Violeta	
ESC	Esculina citrato de hierro	1,16 0,152	Hidrólisis β-glucosidasa (ESCulina)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Incoloro Amarillo pálido	Incoloro Amarillo Pálido Gris claro	Negro Gris	Negro
PYRA	Ácido piroglutámico-β-naftilamida	0,256	PIRolidonil Arilamidasa	ZYM A + ZYM B / 10 min (del PYRA al LAP) (1) decolorar en caso necesario mediante luz intensa			
				Incoloro o Naranja muy pálido		Naranja	
αGAL	6-bromo-2-naftil-α-Dgalactopiranosida	0,0376	α-GALactosidasa	Incoloro		Violeta	
β-GUR	Ácido naftol-ASBI-glucurónico	0,537	β-GIUcuRonidasa	Incoloro		Azul	
β-GAL	2-naftil-βD-galactopiranosida	0,0306	β-GALactosidasa	Incoloro o Violeta muy pálido		Violeta	
PAL	2-naftil fosfato	0,0244	Fosfatasa ALcalina	Incoloro o Violeta muy pálido		Violeta	
LAP	L-leucina-β-naftilamida	0,0256	Leucina AminoPeptidasa	Incoloro		Naranja	
ADH	L-arginina	1,9	Arginina DiHidrolasa	Amarillo		Rojo	
RIB	D-ribosa	1,4	Acidificación (RIBosa)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Rojo	Naranja / Rojo	Naranja /Amarillo	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,4	Acidificación (ARAbinosa)	Rojo	Naranja / Rojo	Naranja /Amarillo	Amarillo
MAN	D-manitol	1,36	Acidificación (MANitol)	Rojo	Naranja / Rojo	Naranja /Amarillo	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1,36	Acidificación (SORbitol)	Rojo	Naranja / Rojo	Naranja /Amarillo	Amarillo
LAC	D-lactosa (origen bovino)	1,4	Acidificación (LACtosa)	Rojo	Naranja / Rojo	Naranja /Amarillo	Amarillo
TRE	D-trehalosa	1,32	Acidificación (TREhalosa)	Rojo	Naranja / Rojo	Naranja /Amarillo	Amarillo
INU	Inulina	5,12	Acidificación (INUlina)	Rojo	Naranja / Rojo	Naranja /Amarillo	Amarillo

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

<u>RAF</u>	D-rafinosa	3,12	Acidificación (RAFinosa)	Rojo	Naranja / Rojo	Naranja /Amarillo	Amarillo
<u>AMD</u>	Almidón (2)	2,56	Acidificación (AlMiDón)	Rojo	Naranja / Rojo	Naranja /Amarillo	Amarillo
<u>GLYG</u>	Glicógeno	1,28	Acidificación (GLIcógeno)	Rojo o Naranja		Amarillo franco	

- (1)** Durante una segunda lectura después de 24 horas de incubación, se puede observar un depósito en los tubos a los cuales se han añadido reactivos ZYM A y ZYM B. Este fenómeno es normal y no debe ser tomado en consideración.
- (2)** La acidificación del almidón es con frecuencia menos intensa que la de otros azúcares.
- (3)** Una coloración rosa pálido obtenida después de 10 minutos debe ser considerada negativa. ⁽²¹⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

API® 20 Staph

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
0	Sin sustrato		Testigo negativo	Incoloro	Rosa/Rojizo
GLU	D-glucosa	1,56	(Testigo positivo) (D- glucosa)	Rojo *	Amarillo
FRU	D-fructuosa	1,4	Acidificación (D-FRUctuosa)		
MNE	D-manosa	1,4	Acidificación (D-MaNos)		
MAL	D-maltosa	1,4	Acidificación (MALtosa)		
LAC	D-lactosa (origen bovino)	1,4	Acidificación (LACtosa)		
TRE	D-trehalosa	1,32	Acidificación (D-TREhalosa)		
MAN	D-manitol	1,36	Acidificación (D-MANitol)		
XLT	Xilitol	1,4	Acidificación (XILiTol)		
MEL	D-melibiosa	1,32	Acidificación (D-MELibiosa)		
NIT	Nitrato de potasio	0,08	Reducción de NITratos a nitritos		
PAL	β -nafti fosfato	0,0244	Fosfatasa ALcalina	ZYM A + ZYM B / 10 min Amarillo Violeta	
VP	Pirivato de sódio	1,904	Producción de acetil-metil-carbinol (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min Incoloro-Rosa claro Violeta-Rosáceo	

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

RAF	D-rafinosa	1,56	Acidificación (RAFinosa)		
XYL	D-xilosa	1,4	Acidificación (XYLosa)		
SAC	D-sacarosa (sucrosa)	1,32	Acidificación (SACarosa)		
MDG	Metil- α D-glucopiranosida	1,28	Acidificación (Metil- α D-Glucopiranosida)	Rojo	Amarillo
NAG	N-acetil-glucosamina	1,28	Acidificación (N-Acetil-Glucosamina)		
<u>ADH</u>	L-arginina	1,904	Arginina DiHidrolasa	Amarillo	Naranja-Rojo
<u>URE</u>	Urea	0,76	UREasa	Amarillo	Rojo-Violeta

Los ensayos de acidificación deberían compararse con los testigos negativo (0) y positivo (GLU).

* Cuando MNE y XLT van precedidos o seguidos por ensayos positivos, la prueba naranja debería considerarse negativa. (23)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

API® 20 E

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
ONPG	2-nitro-fenil-β D-galactopiranosida	0,223	β-galactosidasa (orto-nitrofenil-βD-galactopiranosidasa)	Incoloro	Amarillo (1)
<u>ADH</u>	L-arginina	1,9	Arginina-dihidrolasa	Amarillo	Rojo/Amarillo (2)
<u>LDC</u>	L-lisina	1,9	Lisina Descarboxilasa	Amarillo	Rojo/Amarillo (2)
<u>ODC</u>	L-ornitina	1,9	Ornitina Descarboxilasa	Amarillo	Rojo/Amarillo (2)
<u>CIT</u>	Citrato trisódico	0,756	Utilización del CITrato	Verde pálido/Amarillo	Azul-verde/Azul (3)
<u>H₂S</u>	Tiosulfato sódico	0,075	Producción de H ₂ S	Incoloro/Grisáceo	Deposito negro/fin liserado
<u>URE</u>	Urea	0,76	UREasa	Amarillo	Rojo/Amarillo (2)
TDA	L-triptófano	0,38	Tryptófano DesAminasa	TDA / inmediato	
				Amarillo	Marrón-rojizo
IND	L-triptófano	0,19	Producción de INDole	JAMES / Inmediato	
				Incoloro Verde pálido/Amarillo	Rosa
<u>VP</u>	Piruvato sódica	1,9	Producción de acetoina (Voges Proskauer)	VP1 +VP2 /10 min	
				Incoloro / Rosa pálido	Rosa / Rojo (5)
<u>GEL</u>	Gelatina (origen bovino)	0,6	Gelatinasa (GELatina)	No difusión	Difusión pigmento negro
GLU	D-glucosa	1,9	Fermentación / oxidación (GLUcosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo / Amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	1,9	Fermentación / oxidación (MANitol) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
INO	Inositol	1,9	Fermentación / oxidación (INOsitol) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentación / oxidación (SORbitol) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1,9	Fermentación / oxidación (RHAMnosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1,9	Fermentación / oxidación (SACarosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1,9	Fermentación / oxidación (MELibiosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación / oxidación (AMYgdalina) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,9	Fermentación / oxidación (ARABinosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 51 de 59

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

- (1) Un color amarillo muy ligero también implica resultado positivo.
- (2) La aparición de un color naranja tras 36-48 hrs de incubación debe considerarse negativa.
- (3) Lectura en la cúpula (zona aerobia).
- (4) La fermentación comienza en la parte inferior de los tubos, mientras que la oxidación empieza en la cúpula.
- (5) Una ligera coloración rosa, que aparece tras 10 minutos, debe ser leída como negativa.⁽²⁴⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha: 30/09/2016

API® 20 Coryne

TEST	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
		NEGATIVO	POSITIVO
NIT	Reducción de NITrato	NIT A + NIT B / 10 min	
		Incoloro / Rosa muy pálido	Rosa oscuro / Rojo
PYZ	PYraZinamidasa	PYZ / 10 min	
		Incoloro / Café muy pálido / Anaranjado muy pálido	Café / Anaranjado
PyrA	PIRolidonil Arilamidasa	ZYM A + ZYM B / 10 min	
		Incoloro / Anaranjado pálido	Anaranjado
PAL	Fosfatasa alcalina	Incoloro / Purpura pálido / Anaranjado pálido	Purpura
β GUR	β -GIUCuRonidasa	Incoloro / Gris pálido / Beige pálido	Azul
β GAL	β -GALactosidasa	Incoloro / Purpura pálido	Purpura
α GLU	A-GLUCosidasa	Incoloro / Purpura pálido / Verde pálido	Purpura
β NAG	N-Acetyl- β -Glucosamina	Incoloro / Purpura pálido / Café pálido / Gris pálido	Café
ESC	Hidrólisis β -glucosidasa (ESCuлина)	Incoloro / Gris	Negro
URE	UREasa	Amarillo / Anaranjado	Rojo / Rosa
GEL	Hidrólisis de la GELatina	No difusión	Difusión de pigmento negro
<u>Q</u>	Testigo negativo		
<u>GLU</u>	Fermentación GLUCosa		
<u>RIB</u>	Fermentación RIBosa		
<u>XYL</u>	Fermentación XYLosa		
<u>MAN</u>	Fermentación MANitol		
<u>MAL</u>	Fermentación MALtosa		
<u>LAC</u>	Fermentación LACTosa	Rojo / Anaranjado	Amarillo / Amarillo naranja
<u>SAC</u>	Fermentación SACarosa		
<u>GLYG</u>	Fermentación GLYcoGeno		

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

ANEXO III. Sensibilidad a antibióticos

Clave de la cepa _____

R, I, S

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

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm

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

R = Resistente I = Intermedio S = Sensible

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 55 de 59

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

ANEXO IV. Formato de informe de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

FOLIO: _____ EDAD: _____ SEXO: (M) (F)

LOCALIDAD: _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE: _____

ESTUDIOS REALIZADOS VALORES DE REFERENCIA

OBSERVACIONES

SELLO DEL LABORATORIO

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



ANEXO V. Principio del método moderno: API 20 y medios cromogenicos

API 20

Los sistemas miniaturizados API® 20 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.

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

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

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

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



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

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

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

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

La lectura de estas reacciones se hace por comparación con un control de crecimiento y la identificación se obtiene, a partir de un código numérico, mediante un catálogo analítico o un programa informático. (20)

MEDIOS CROMOGÉNICOS

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

Para este propósito se utilizan azúcares como el manitol, la lactosa, el sorbitol y otros, junto con un indicador de pH (rojo neutro, azul de bromotimol, etc.).

En la actualidad los medios selectivos – diferenciales tienden a prepararse utilizando sustancias cromogénicas. (26)

Medio cromogénico: Los sustratos enzimáticos cromogénicos son compuestos que actúan como sustratos para enzimas específicas y cambian de color debido a la acción de la enzima sobre el sustrato. (4)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 58 de 59

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

Dichas sustancias son productos químicos de síntesis que son incoloros cuando se unen a sustratos naturales por enlaces que son hidrolizados por enzimas microbianas específicas. Cuando la enzima microbiana hidroliza el enlace, se libera el compuesto cromogénico, que adquiere un color intenso. Así, por ejemplo, la galactosa se une a un colorante, el ortonitrofenol (ONF), por un enlace químico que es reconocido por una enzima bacteriana, la β -galactosidasa, cuya función natural es reconocer e hidrolizar el enlace entre la galactosa y la glucosa (que constituyen la lactosa). El complejo galactosa-ONF es incoloro, pero cuando es hidrolizado por la β -galactosidasa y se libera el ONF, éste adquiere un intenso color amarillo. La aparición de ese color en la colonia y a su alrededor indica la presencia de la enzima. Algunas enzimas son específicas de un género, una especie o propias de un reducido número de especies, por lo que su detección permite su identificación. ⁽²⁶⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado faríngeo.

Fecha:30/09/2016

ANEXO VI. Cuestionario

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

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 56

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

PRÁCTICA

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR MEDIANTE EL EXUDADO NASOFARÍNCEO



ELABORADO POR:

Q. F. B. ANGÉLICA RAMÓN OLIVERA

Q. F. B. STHEFANY LILIANA ORTEGA CORTÉS

M. EN C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

[Inicio](#)

Realizado con apoyo del proyecto PAPIME PE 209012

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	5
II. OBJETIVOS.....	9
III. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	10
IV. PROPÓSITO DEL EXAMEN	13
V. METODOLOGÍA.....	14
V.1. Fase Preanalítica	14
V.2. Fase analítica	19
V.3. Fase Post analítica.....	35
VI. REFERENCIAS	36
ANEXO I. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO TRADICIONAL.....	39
ANEXO II. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO.....	42
ANEXO III. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS.....	50
ANEXO IV. FORMATO DE INFORME DE LABORATORIO.....	52
ANEXO V. PRINCIPIO DEL MÉTODO MODERNO: API 20 Y MEDIOS CROMOGENICOS	53
ANEXO VI. CUESTIONARIO	56

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016





I. Introducción

El sistema respiratorio está constituido por un conjunto de órganos cuya función es la de conducir el oxígeno hasta los glóbulos rojos de la sangre. Estos órganos pueden agruparse en dos categorías:

- ❖ Las vías respiratorias superiores (la boca, la cavidad nasal, la faringe y la laringe, además del oído medio y externo).
- ❖ Las vías respiratorias inferiores (la tráquea, los bronquios, los bronquiolos y los alveolos pulmonares) (**Figura 1**). (1,2)

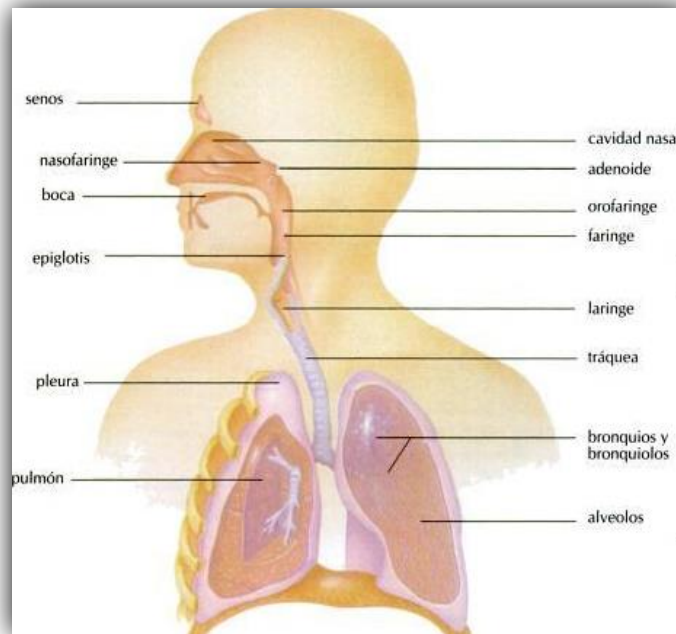


Figura 1. Anatomía del sistema respiratorio. (3)

Las vías respiratorias superiores se encuentran alojadas en la cara y en la parte superior del cuello, y las vías inferiores en la parte inferior del cuello y en el interior del tórax. (1)



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

El tracto respiratorio superior esta colonizado por muchos microorganismos, la mayoría considerados parte de la biota normal. Pero también podemos encontrar microorganismos potencialmente patógenos como son: Estreptococos grupo A (β -hemolíticos), *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, especies de *Klebsiella*, *Bacteroides*, Enterobacterias, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Bordetella pertussis*. Siendo de esta forma las bacterias los patógenos más virulentos de las vías respiratorias superiores, aunque la mayoría de las infecciones que causan pueden ser prevenidas o tratadas eficazmente. Cabe mencionar que estos microorganismos patógenos pueden estar presentes en la biota normal y no ser la principal causa de la infección. (3, 4, 5)

El resfriado común es la infección más frecuente de la nasofaringe, causado casi siempre por uno de los más de 100 serotipos de rinovirus. Esta infección rara vez pone en riesgo la vida, sin embargo, el resfriado común es la principal causa de morbilidad y dada la gran cantidad de días laborales que se pierde en esta afección se convierte en un problema económico relevante. El síntoma principal es la rinitis (goteo de la nariz). No se presenta fiebre como parte de la infección. Los estudios de laboratorio no son necesarios porque la enfermedad es auto limitada y no se dispone aún de un tratamiento específico.

La obtención de muestras nasofaríngeas son de muy poco valor práctico, excepto en algunas situaciones definidas. Pero son la muestra de elección para el aislamiento de *B. pertussis* el agente etiológico de la tos ferina, *H. influenzae* y para la detección de portadores de *S. aureus* y *N. meningitidis*. (4, 6)

La tos ferina o "tos convulsiva" es una enfermedad caracterizada por ataques prolongados e incontrolables de tos, es exclusiva del hombre y presenta una tasa de ataque mayor al 90% entre individuos no inmunizados. A pesar de ser una enfermedad de la niñez, la infección por *B. pertussis* puede presentarse a cualquier edad. Es una enfermedad muy contagiosa que se acompaña de una morbilidad y mortalidad significativas. La transmisión se produce de persona a persona, al inhalar las pequeñas gotitas de secreciones producidas en forma de aerosoles al toser.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

Está se manifiesta en tres períodos: (3, 7)

- ❖ Período prodrómico o catarral: dura 1-2 semanas y es indistinguible de las infecciones víricas de las vías respiratorias superiores. Se manifiesta como un catarro con rinorrea, tos leve pero de predominio nocturno, estornudos, conjuntivitis, malestar y lagrimeo.
- ❖ Período paroxístico: dura 1-4 semanas y se caracteriza por ataques de tos muy intensos (**Figura 2**), que terminan en unos segundos de apnea, seguida de una inspiración ruidosa (silbido) que se escucha al final de cada crisis de tos.
- ❖ Período de declinación: se prolonga de semanas a meses, los ataques de tos disminuyen paulatinamente pero ciertos estímulos como una infección respiratoria vírica puede provocar la reaparición de dichos ataques. (4, 8, 9)



Figura 2. Crisis de tos paroxística. (7)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

Las complicaciones pueden ser:

- ❖ Hemorragias: por aumento de presión durante el ataque de tos y pueden ser nasales, conjuntivales, palpebrales, petequias en la cara e incluso cerebrales.
- ❖ Neurológicas: debido a las hemorragias, convulsiones y encefalitis intensas.
- ❖ Respiratorias: por infecciones. ⁽⁹⁾

Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

Fase preanalítica: es importante, y de ella depende en gran medida el resultado final. Aquí se establecen las condiciones para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se indica el procedimiento para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma. Se indican los reactivos que serán empleados, y en este caso la correcta manipulación de las cepas ATCC más representativas a utilizar para cada módulo.

Fase analítica: se describen los métodos de laboratorio empleados en esta área, los cuales son explicados de manera clara, precisa y sencilla para ser llevados a cabo por el personal del área que lo consulte y lograr la correcta ejecución de las pruebas ya que en esta etapa se exigen técnicas estandarizadas, equipos adecuados bien calibrados (en El Manual de PNO's de los Equipos del Laboratorio de Microbiología Médica, se describen las especificaciones y características de estos, sus normas de funcionamiento, calibración, etc.) y reactivos.

Se explica el uso de los medios de cultivos selectivos, diferenciales, de transporte, de enriquecimiento, pruebas bioquímicas y pruebas especiales; así como también de los métodos modernos de diagnóstico como el sistema API® 20 y de los medios cromogénicos.

Fase postanalítica: se refiere a los resultados obtenidos los cuales se especifican en el informe del laboratorio de forma que sea legible y fácil de comprender. A esta fase se llega partiendo de que las fases preanalítica y analítica son realizadas con el rigor técnico y científico exigido por un sistema de gestión de la calidad.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

El control de calidad es responsabilidad de la persona a cargo del área de microbiología, la cual debe asegurarse de que las pruebas realizadas sean procesadas con calidad y de que los resultados sean confiables, reproducibles y tan exactos como sea posible, siguiendo los procedimientos establecidos. (10)

En el presente trabajo se establecen los métodos tradicionales y métodos modernos (sistema API® 20 y medios cromogénicos) de diagnóstico microbiológico empleados para microorganismos causantes de infecciones del sistema respiratorio y el estudio se realizará en el laboratorio microbiología médica de la FES Zaragoza. Estas prácticas se pretenden implementar en la clínica multidisciplinaria de la FES Zaragoza de tal forma que nos permitan el diagnóstico de microorganismos causantes de patologías en los sistemas del cuerpo humano y así tener un mejor conocimiento en cuanto a la identificación de los microorganismos por género y especie.

Cabe señalar que al final de la práctica se realizó un cuestionario que tiene por objetivo validar la utilidad de la misma, y con las opiniones de alumnos y profesores establecer un proceso de mejora continua de esta práctica.

II. Objetivos

- Utilizar los procedimientos de los métodos tradicionales y modernos de diagnóstico microbiológico para identificar a los microorganismos patógenos que se encuentran en un exudado nasofaríngeo.
- Utilizar el sistema API® 20 y medios cromogénicos como métodos modernos de diagnóstico.
- Utilizar cepas ATCC de bacterias frecuentemente encontradas en un exudado nasofaríngeo como control de calidad en los métodos tradicionales y modernos de diagnóstico.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



III. Medidas de bioseguridad

De acuerdo con la publicación de la OMS en 2005, se hace referencia a los peligros relativos que entrañan los microorganismos infecciosos clasificados por grupos de riesgo, la cual se utilizará exclusivamente para el trabajo de laboratorio (**Cuadro 1**).

CUADRO 1. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS INFECCIOSOS POR GRUPOS DE RIESGO. (11)

Grupo de riesgo 1	Riesgo individual y poblacional escaso o nulo. Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales.
Grupo de riesgo 2	Riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo. Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales pero que tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, el ganado o el medio ambiente. La exposición en el laboratorio puede provocar una infección grave, pero existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es limitado.
Grupo de riesgo 3	Riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo. Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que de ordinario no se propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.
Grupo de riesgo 4	Riesgo individual y poblacional elevado. Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

Las designaciones del nivel de bioseguridad se basan en el tipo de instalaciones (características de diseño, construcción, medios de contención), el equipo a utilizar, las prácticas y procedimientos de operación necesarios para trabajar con los agentes patógenos de los distintos grupos de riesgo (**Cuadro 2**). Por ello el nivel de bioseguridad que tiene el laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza es de nivel 1. De tal forma que existe una relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad y con ello la clasificación del tipo de laboratorio y el equipo de seguridad.



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

CUADRO 2. RELACIÓN DEL GRUPO DE RIESGO CON EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD, LAS PRÁCTICAS Y EL EQUIPO. ⁽¹¹⁾

Grupo de riesgo	Nivel de bioseguridad	Tipo de laboratorio	Prácticas de laboratorio	Equipo de seguridad
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación.	Técnicas microbiológicas apropiadas.	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto.

Por ello cada laboratorio debe adoptar un manual de seguridad o de trabajo en el que identifiquen los riesgos conocidos y potenciales, y se especifiquen las prácticas y los procedimientos encaminados a eliminar o reducir al mínimo esos riesgos.

A continuación se mencionan algunos aspectos importantes en cuanto a las medidas de bioseguridad.

Protección personal:

- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio (**Figura 3**).
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan entrañar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados. Una vez utilizados, los guantes se retirarán de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos.
- El personal deberá lavarse las manos después de manipular materiales y animales infecciosos, así como antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán gafas de seguridad u otros dispositivos de protección cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impactos y fuentes de radiación ultravioleta artificial.
- Estará prohibido usar prendas protectoras fuera de laboratorio.
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- La ropa protectora de laboratorio no se guardará en los mismos armarios que la ropa de calle. ⁽¹¹⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016



Figura 3. Protección personal.

Zonas de trabajo del laboratorio:

- El laboratorio se mantendrá ordenado y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso, al inicio y al final de cada jornada de trabajo. ⁽¹¹⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

Manipulación de desechos:

Todos los materiales, muestras y cultivos contaminados deberán ser descontaminados antes de eliminarlos o de limpiarlos para volverlos a utilizar. ⁽¹¹⁾

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



IV. Propósito del examen

El diseño de esta práctica va encaminado al diagnóstico microbiológico de *Bordetella pertussis* y otras bacterias aisladas de un exudado nasofaríngeo, que según el criterio clínico puedan interpretarse como patógenas.

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y método moderno de diagnóstico (sistema API® 20 y medios cromogénicos), empleando cepas ATCC de bacterias patógenas que se considerarán como control de calidad, con el objetivo de conocer los fundamentos y pasos a seguir de los mismos. De manera que se pretende mejorar el proceso de enseñanza y aprendizaje, así como la preparación académica de los alumnos que cursan el módulo de laboratorio de Microbiología Médica; ya que los alumnos tendrán los conocimientos teóricos y prácticos necesarios para cada una de las etapas de control de calidad de la práctica.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



V. Metodología

V.1. Fase Preanalítica

INDICACIONES Y PRECAUCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA

Se debe indicar al paciente las siguientes condiciones previas a la toma de muestra.

- 1 No haber estado en tratamiento con antibióticos al menos 7 días antes de la toma de muestra.

NOTA: si lo anterior no es posible se debe obtener la muestra justo antes de la administración de la dosis, o tras 48 horas de finalizar el tratamiento.

- 2 No hacer gárgaras ni limpieza con ninguna solución bucofaríngea.
- 3 Presentarse al laboratorio para tomar la muestra preferiblemente en ayunas.
- 4 Antes y después de cada procedimiento lavarse las manos correctamente.





UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

5

El personal de laboratorio deberá usar bata (a fin de evitar que la ropa de calle se pueda contaminar o ensuciar), guantes y cubrebocas. (11)



6

Tener preparado hisopos y medio de transporte para el Exudado Nasofaríngeo.

NOTA: El hisopo debe ser de dacron o alginato de calcio. Nunca usar un hisopo de algodón ya que éste contiene ácidos grasos que son dañinos para *B. pertussis*. (12)



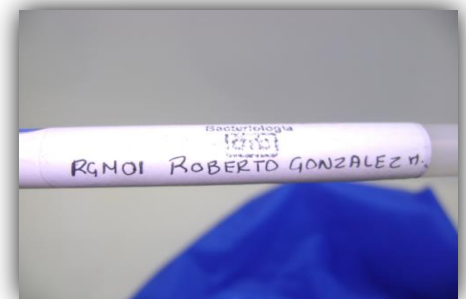
7

Tener encendido el mechero pues éste dará el área de esterilidad para realizar la toma de muestra.



8

Etiquetar el medio del transporte con los datos del paciente. (6, 11, 12)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha: 30/09/2016

En el siguiente cuadro se enlistan los materiales que se ocuparán durante la práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

CUADRO 3. MATERIAL NECESARIO PARA LA TOMA DE MUESTRA DEL EXUDADO NASOFARÍNCEO. (4, 6, 11, 16, 17, 20, 25)

MATERIAL	CEPAS ATCC	MEDIOS	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Guantes ▪ Cubrebocas ▪ Mechero Bunsen ▪ Gradilla ▪ Hisopos de dacron o alginato de calcio ▪ Portaobjetos ▪ Asa bacteriológica ▪ Pipeta ▪ Aceite de inmersión 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>H. influenzae</i> ▪ <i>S. aureus</i> ▪ <i>H. influenzae</i> ▪ <i>C. diphtheriae</i> 	<p><u>Transporte</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Stuart Amies ▪ Regan Lowe semisólido <p><u>Cultivo</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Sangre de Carnero (ASC) 5% ▪ Agar Chocolate ▪ Agar Sal y Manitol ▪ Agar Regan Lowe o Bordet Gengou ▪ Agar Loeffler <p><u>Susceptibilidad antibióticos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Müeller Hinton 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rojo de Fenol más CHO's: ▪ Lactosa ▪ Maltosa ▪ Sacarosa ▪ Trehalosa ▪ Glucosa ▪ Arabinosa ▪ Xilosa ▪ Manosa ▪ Fructuosa ▪ Ribosa ▪ Leche Tornosol ▪ Prueba de coagulasa ▪ Hugh-Leifson: Manitol con y sin sello ▪ Urea de Christensen ▪ Citrato de Simmons ▪ Caldo Nitrato ▪ RMVP ▪ SIM ▪ TSI ▪ MIO ▪ Prueba de Elek 	<p><u>Tinción de Gram</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cristal violeta ▪ Lugol ▪ Alcohol-Cetona ▪ Safranina <p><u>Tinción de Albert</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Colorante de Albert ▪ Lugol <p><u>Prueba de catalasa</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Peróxido de hidrógeno <p><u>Caldo Nitrato</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ácido sulfanílico ▪ α-naftilamina <p><u>RMVP</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Indicador Rojo de Metilo ▪ KOH 40% ▪ α-naftol <p><u>SIM y MIO</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Kovacs

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliána Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

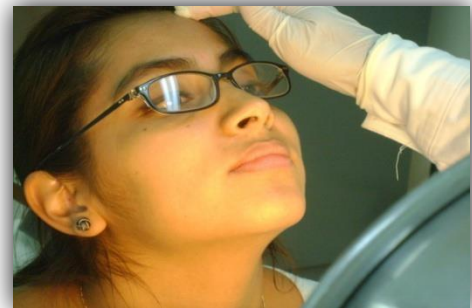
Fecha:30/09/2016

PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA DEL EXUDADO NASOFARÍNCEO

- 1) Informar al paciente sobre el procedimiento a realizar. (13)
- 2) Colocar al paciente en una silla ergonómica y bajo una buena fuente de luz.



- 3) Poner la cabeza del paciente en un ángulo de 70°.



- 4) Introducir el hisopo de dacron en una fosa nasal, deslizándolo por la mucosa del piso de está, hasta tocar la pared posterior de la faringe.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

- 5) Tocar la parte posterior de la nasofaringe haciendo girar el hisopo 15-30 segundos para permitir la impregnación del microorganismo.

NOTA: No introducir el hisopo hacia arriba siguiendo la forma de la nariz; el hisopo debe dirigirse hacia atrás siguiendo el piso de la nariz. (4, 12, 14)



- 6) Retirar el hisopo con suavidad y ponerlo en el medio de transporte adecuado a la etiología que se sospeche. Utilizar un segundo hisopo para la otra fosa nasal y repetir el procedimiento.

NOTA: Transportar durante los primeros 15 minutos de la recolección y a temperatura ambiente. Si no se puede trabajar de inmediato la muestra mantener entre 4-10 °C (no exceder de 2 horas). (4, 6, 12, 15, 16)



- 7) Todos los materiales utilizados deberán desecharse como Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos. (11, 12)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

V.2. Fase analítica

En esta fase se describen los métodos: tradicional y moderno de diagnóstico, los cuales son explicados a manera de resumen en el siguiente cuadro (Cuadro 4), mostrando el procedimiento a seguir para el diagnóstico microbiológico a partir de la muestra clínica o partiendo de cepas ATCC. Posteriormente ambos métodos serán detallados de forma clara, precisa y sencilla.

CUADRO 4. PROCEDIMIENTO DEL MÉTODO: TRADICIONAL Y MODERNO DE DIAGNÓSTICO.

(4, 5, 6, 19)

A. MÉTODO TRADICIONAL		B. MÉTODO MODERNO	
Origen de la muestra a analizar			
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
Realizar las siguientes actividades:			
<p><u>Cultivo</u></p> <p>De la muestra del exudado nasofaríngeo para aislamiento en la superficie del medio.</p> <p>↓</p> <p><u>Incubar placas</u> 35-37 °C / 24-48 horas.</p> <p>↓</p> <p><u>Tinción de Gram</u></p> <p>↓</p> <p><u>Examen microscópico</u> Objetivo 100X</p> <p>↓</p> <p><u>Pruebas bioquímicas</u></p> <p>↓</p> <p><u>Susceptibilidad a antibióticos</u> (Antibiograma)</p> <p>↓</p> <p><u>Identificación de bacterias</u></p>		<p><u>Sistema API® 20</u></p> <p><u>Preparación de la galería</u> Colocar 5 ml de agua en el panel de pocillos de la cámara para proporcionar una atmósfera húmeda durante la incubación.</p> <p>↓</p> <p><u>Preparación del inóculo</u> A partir de una colonia aislada del microorganismo, preparar una suspensión bacteriana homogénea con una turbidez equivalente a 0.5 McFarland.</p> <p>↓</p> <p><u>Inoculación de la galería</u> Llenar con la suspensión bacteriana los microtubos.</p> <p>↓</p> <p>Cubrir con parafina las cúpulas <u>ADH</u> y <u>URE</u>.</p> <p>↓</p> <p>Cerrar la cámara de incubación.</p> <p>↓</p> <p><u>Incubar</u> 36 ± 2 °C / 18-24 horas</p> <p>↓</p>	

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

Lectura de la galería

Se da por comparación de los colores con las tablas de lectura:

- * Se anotan los resultados que no requieren ser revelados.
- *Posteriormente se agregan los reactivos necesarios para revelar las pruebas.



Interpretación

Determinación del perfil numérico

Medios cromogénicos

Sembrar muestra

En la superficie del medio.



Incubar placas

35-37 °C / 24 horas.

NOTA: reducir al mínimo la exposición a la luz antes y durante la incubación.



Observar colonias

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



A. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO TRADICIONAL

La sospecha clínica de una infección nasal debe confirmarse a través del examen por cultivo y posteriormente microscópico de las colonias aisladas.

CULTIVO

1) Sembrar la muestra obtenida por estría cruzada (**Figura 4**) en las placas de:

- ASC 5%
- Agar Chocolate
- Agar Sal y Manitol
- Agar Regan-Lowe o Bordet Gengou (*B. pertussis*).
- Agar Loeffler (*C. diphtheriae*).
- Agar Thayer-Martín (*N. meningitidis*). (4, 12, 16, 17, 18)

NOTA: Por la poca frecuencia en el aislamiento de hongos en el exudado nasofaríngeo, no se incluye un medio de cultivo, las colonias son observable en agar sangre.

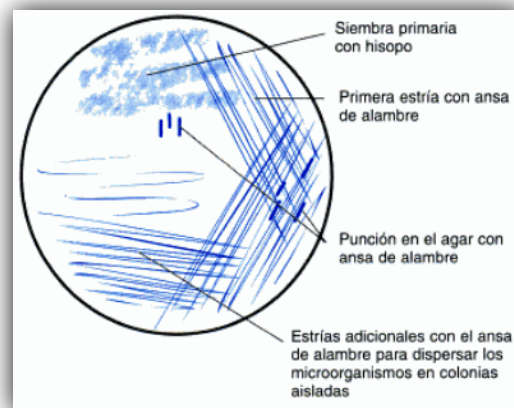


Figura 4. Técnica de estría, punción y aislamiento de la muestra. (4)



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

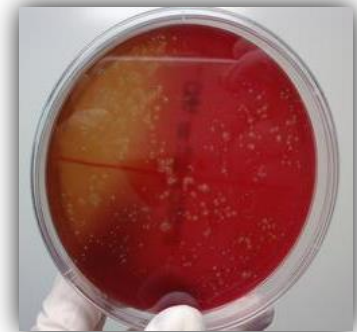
Fecha:30/09/2016

2) Incubar 24 a 48 horas a 37 °C.

NOTA: el medio de cultivo para *B. pertussis* de debe incubar hasta 7-10 días en ambiente húmedo.



3) Observar la morfología colonial de las bacterias en cada uno de los medios inoculados, a fin de seleccionar el crecimiento del posible patógeno. (4, 17)



4) Realizar las preparaciones de las colonias aisladas en cada una de las placas y teñir con la técnica de Gram.

NOTA: si se requiere, realizar la tinción de Albert.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

5) Observar las preparaciones al microscopio utilizando el objetivo 100X. (4)



6) Realizar la inoculación de las pruebas bioquímicas seleccionadas a partir de las colonias aisladas del medio de cultivo utilizado, de acuerdo al criterio y resultado sugerente al tipo de microorganismo aislado en los mismos.



7) Incubar 24 a 48 horas a 35- 37 °C.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

8) Realizar las lecturas de las pruebas realizadas. (4)

SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

9) Realizar el antibiograma del agente etiológico.



10) En una placa de Agar Müeller Hinton inocular en todo el medio el microorganismo identificado, a partir de una colonia aislada y colocar el multidisco.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

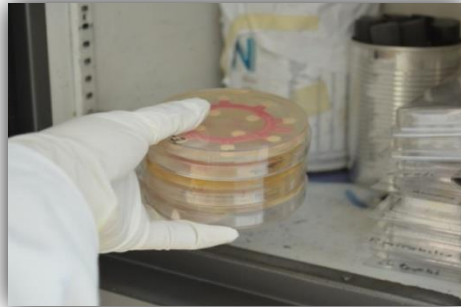


UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

11) Incubar la placa a 35-37 °C por 24 horas.



12) Realizar la lectura del antibiograma, utilizando la hoja para sensibilidad a antibióticos. (ANEXO III) ⁽⁴⁾

13) Reportar todos los resultados en los formatos, para tinción, morfología colonial, pruebas bioquímicas y pruebas especiales. (ANEXO I)

14) Realizar la discusión de los resultados y las conclusiones.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



B. DESCRIPCIÓN MÉTODO MODERNO

SISTEMA API® 20

1) Una vez identificado el agente etiológico a partir del cultivo y la observación al microscopio, inocular el sistema API® 20 correspondiente:

- API® 20 Staph: *S. aureus*
- API® 20 E: *B. pertussis*
- API® 20 NH: *H. influenzae*
- API® 20 Coryne: *C. diphtheriae*

2) Todas las instrucciones para la preparación de la suspensión, así como para la inoculación de cada uno de los microtubos, y las condiciones de incubación se pueden encontrar claramente especificadas en los instructivos de uso señalados por el fabricante para cada tipo de galería. ⁽¹⁹⁾

NOTA: para ilustrar esta práctica utilizaremos *S. aureus* como agente etiológico.

PREPARACIÓN DE LA GALERÍA

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



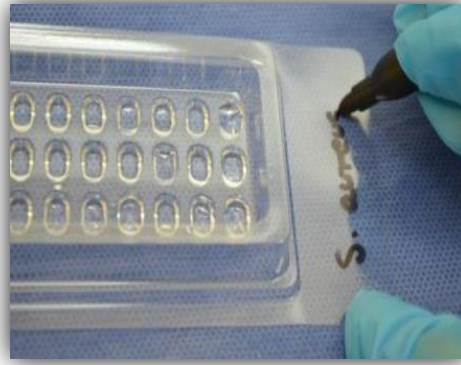


UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

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



- 5) Sacar una galería API® 20 Staph de su envase individual y colocar la galería en la cámara de incubación. (20)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

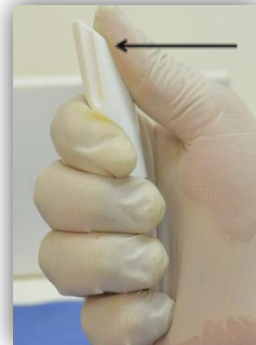
FECHA: 30/09/2016



PREPARACIÓN DEL INÓCULO

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

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





UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

7) A partir de la cepa ATCC o una colonia bien aislada del microorganismo, preparar una suspensión bacteriana homogénea con una turbidez equivalente a 0.5 de McFarland.



8) Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación. (20)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



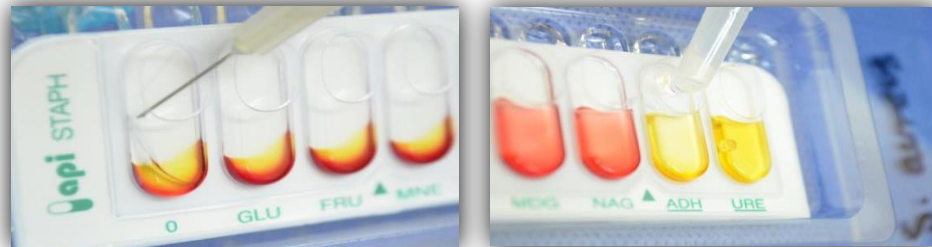
UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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



- 10) Crear anaerobiosis en las pruebas ADH y URE rellenando las cúpulas con aceite de parafina para formar un menisco convexo.



- 11) Cerrar la cámara de incubación.



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

12) Incubar durante 18-24 horas a 36 °C ± 2 °C. (20)



LECTURA DE LA GALERÍA

13) La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con las tablas de lectura que proporciona el proveedor, y anotando el resultado como positivo o negativo. (ANEXO II)

14) Después del periodo de incubación, el desarrollo de las reacciones se dará por la adición de 1 gota de cada uno de los siguientes reactivos y a continuación se interpretan todas las reacciones conforme a la tabla de identificación. (ANEXO II)



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

- ❖ **VP:** Añadir una gota de VP 1 y una de VP 2.
 - Positivo: color violeta-rosáceo en 10 minutos.
 - Negativo: color rosa pálido o rosa claro después de 10 minutos.
- ❖ **NIT:** Añadir una gota de NIT 1 y una de NIT 2.
 - Positivo: color rojo en 10 minutos.
 - Negativo: incoloro después de 10 minutos.
- ❖ **PAL:** Añadir una gota de ZYM A y ZYM B (*).
 - Positivo: color violeta en 10 minutos.
 - Negativo: incoloro después de 10 minutos.

(*) Se recomienda controlar cada ampolla de reactivo ZYM B antes de la primera utilización. ⁽²⁰⁾

15) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato. (ANEXO II)

INTERPRETACIÓN

16) Determinación del perfil numérico

En la hoja de resultados, los ensayos se separan en grupos de 3 y se asigna para cada uno un valor 0, 1, 2 ó 4, de acuerdo a los siguientes criterios:

- ✓ Si la reacción es negativa se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva se pone: 1 si es el primer pocillo de un triplete, 2 si es el segundo o 4 si es el tercero.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete y con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras que constituye el perfil numérico (**Cuadro 5**). ⁽²⁰⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha: 30/09/2016

CUADRO 5. DETERMINACIÓN DEL PERFIL NUMÉRICO API® 20 STAPH (20)

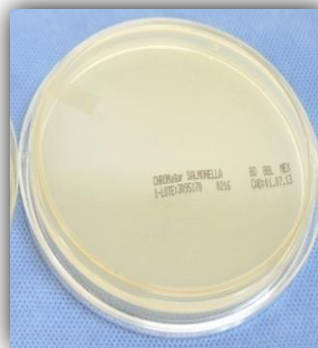
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	
O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
	6			7			0			6			1			1			3	
6 706 113 <i>Staphylococcus epidermidis</i>																				

17) La identificación se realiza a partir de la base de datos. (20)

MEDIOS CROMOGENICOS

Una vez identificado el agente etiológico y si se tratará de *S. aureus*, inocular el medio cromogénico correspondiente:

➤ chromID™ MRSA: *S. aureus*



Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

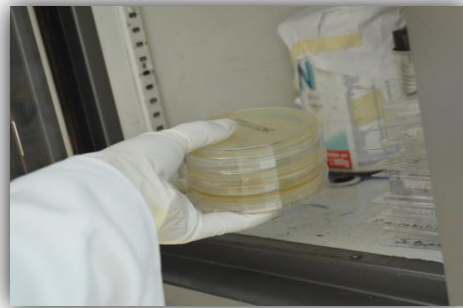
Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

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



- 2) Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35-37 °C durante 24 horas en posición invertida. En caso de resultado negativo a las 24 horas, incubar nuevamente durante 24 horas más para registrar los resultados finales.



NOTA: Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella, ya que la luz puede destruir los cromógenos. (4, 21)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

- 3) Una vez que los colores de las colonias se hayan desarrollado, el agar cromogénico se puede exponer a la luz, para efectuar la lectura de las placas contra un fondo blanco.



Figura 5. Placa de Agar MRSA en donde se puede observar la identificación de *S. aureus* (colonias verdes). (21)

- 4) Anotar el resultado correspondiente en el formato de reporte de resultados. (ANEXO II)

- 5) El medio cromogénico para *S. aureus* permite la detección de:

- *S. aureus*: colonias de color verde (**Figura 5**).
- Inhibición de otras bacterias no pertenecientes al género y levaduras. (21)

V.3. Fase Postanalítica

Se refiere a los resultados obtenidos, los cuales se especifican en el informe de laboratorio de forma que sea legible y fácil de comprender. (ANEXO IV) (10)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

VI. Referencias

1. Rodríguez Pinto M. Anatomía, Fisiología e Higiene. México DF: Progreso; 1999.
2. Procedimientos microbiológicos. Disponible en: <http://procedimientosmicrobiologicos.wikispaces.com/EXUDADO+FAR%C3%8DNGEO>
3. Ingraham JL, Ingraham CA. Introducción a la microbiología. Vol. II. Barcelona: Reverte; 1998.
4. Koneman EW, Allen S. Diagnóstico Microbiológico: texto y atlas en color. 6 ed. Médica Panamericana: Buenos Aires; 2008.
5. Ryan KJ, Ray CG. Microbiología médica. 5 ed. México DF: Mc Graw Hill; 2010.
6. Secretaria Distrital de Salud de Bogotá, D.C. Manual para la toma de muestras para análisis microbiológico. Bogotá: Linotipia Bolívar y Cía; 2008. Disponible en: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/.../Manual%20Toma%20Muestras.pdf>; 2008.
7. Molina López J. Tosferina. Departamento de microbiología y parasitología, Recursos en bacteriología UNAM. México; 2009. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/tosferina.html>
8. Ausina Ruiz V, Moreno Guillén S. Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Madrid: Médica Panamericana; 2006.
9. Collado Otero F. Patología infantil estructurada: bases fisiopatológicas del diagnóstico y tratamiento. Madrid: Norma; 1984.
10. Fernández C, Mazziotta D. Gestión de la Calidad en el laboratorio clínico. Buenos Aires: Panamericana; 2005.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliána Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

11. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3 ed. Ginebra: OMS; 2005. Disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf

12. Ministerio de salud pública y asistencia social. Manual para el diagnóstico laboratorial de *Bordetella pertussis*. El Salvador. 2008. Disponible en: http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/manual/Manual_diagnostico_laboratorial_bordetella.pdf

13. Delaat A. Microbiología. 2 ed. México DF: Interamericana; 1983.

14. Todd JC, Sanford AH, Davidson I. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. 8 ed. Barcelona: Salvat; 1988.

15. Hernando Moreno A, Gutiérrez López E. Higiene del medio hospitalario y limpieza de material. Madrid: Editex; 2009.

16. Escobedo López AB, Cabrera Maldonado C, Álvarez López JM, Pazos Salazar NJ, Suárez Albores PG, Pérez Fernández MS. Manual de Bacteriología II. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla: México; 2002. Disponible en: http://www.facultadcienciasquimicas.buap.mx/ligas/acredita/QFB/data/4_2%20Curriculum/4.2.10%20Actas%20de%20C3%A1reas%20Programas%20de%20asig%20y%20Manuales%20La b/Manuales%20de%20Laboratorio/Microbiolog%C3%ADaLab-pdf/Manual%20Bacteriolog%C3%ADa%20II.pdf

17. Manual de Muestras del tracto respiratorio. Disponible en: http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/mues_trac.pdf

18. López García MJ, Cárdenas Povedano M, Urbano Felices A. Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones respiratorias. Barcelona: OmniaScience; 1995.

19. bioMérieux. Sistemas miniaturizados API®. bioMérieux; 2010. Disponible en: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_anexo2.pdf

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 38 de 56

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

20. bioMérieux. API® 20 Staph, Sistema de identificación de estafilococos, micrococos y géneros relacionados. bioMérieux; 2009. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/6.pdf>

21. bioMérieux. Catálogo de medios de cultivo. México: bioMérieux; 2010. Disponible en: <http://ebookbrowse.com/catalogo-medios-de-cultivo-2010-es-pdf-d52553760>

22. bioMérieux. API® 20 E, Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes. bioMérieux; 2010. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/4.pdf>

23. Manual de procedimientos del laboratorio médico de Toronto, Identificación de *Neisseria y Haemophilus* (API NH). 2000. Disponible en: http://microbiology.mtsinai.on.ca/manual/tech/tech04_04.pdf

24. Manual de procedimientos del laboratorio médico de Toronto, Identificación de *Corynebacterium* (API Coryne). 2000. Disponible en: http://microbiology.mtsinai.on.ca/manual/tech/tech04_01.pdf

25. Prats G. Microbiología clínica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

ANEXO I. Formato de resultados método tradicional

TINCIÓN DE GRAM

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

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

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

TINCIONES ESPECIALES

CLAVE CEPAS			
NOMBRE TINCIÓN			
ESTRUCTURA DEL MICROORGANISMO			
PRESENCIA Y ABUNDANCIA			

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

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

² O = Oxidativo

F = Fermentativo

N = No utiliza el carbohidrato

³ A = Ácido

C = Coágulo

F = Fermentativo

G = Gas

P = Peptonización

K = Alcalino

R = Reducción

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

PRUEBAS ESPECIALES

PRUEBA	CLAVE DE LA CEPA						PRUEBA	CLAVE DE LA CEPA					
	1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6
PROD. DE: CATALASA							CAMP						
COAGULASA							SOLUBILIDAD EN BILIS						
OXIDASA							CRECIMIENTO: 4 °C						
SENS. A: BACITRACINA							42 °C						
KANAMICINA							PH = 6						
OPTOQUINA							PH = 9						
PROD. DE: PIOCIANINA							NACL 7.5 %						
FLUORESCÉINA							TELURITO 0.2 %						
REDUCCIÓN DE TELURITO													

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha: 30/09/2016

ANEXO II. Formato de resultados método moderno

API® 20 Staph

Cepa	0	G L U	F R U	M N E	M A L	T A C	M R E	X A N	M L T	N E T	P I L	V A P	R A F	X Y L	S A C	M D G	N A G	A D H	U R E	Identificación	
1																					
2																					
3																					
4																					
5																					

API® 20 E

Cepa	O N P G	A D H	L D C	O D C	C I T	H 2 S	U R E	T D A	I N D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A	N O 2	N 2	Identificación	
1																								
2																								
3																								
4																								
5																								

API® 20 NH

Cepa	P E N	G L U	F R U	M A L	S A C	O D C	U R E	L I P	P A L	β G A L	P r o A	G G T	I N D	Identificación
1														
2														
3														
4														
5														

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

API® 20 Coryne

Cepa	N I T	P Y Z	P y r A	P A L	β G U R	β G A L	α G L U	β N A G	E S C	U R E	G E L	0	G L U	R I B	X Y L	M A N	M A L	L A C	S A C	G L Y G	Identificación	
1																						
2																						
3																						
4																						
5																						

MEDIO CROMOGENICO

MORFOLOGÍA COLONIAL			
CLAVE DE LA CEPA			
MEDIO CROMOGENICO			
TAMAÑO			
FORMA			
BORDE			
COLOR			
SUPERFICIE			
LUZ REFLEJADA			
LUZ TRANSMITIDA			
CRECIMIENTO			
OTRAS ¹			

¹ Características que dependen del medio de cultivo.

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha: 30/09/2016

*** TABLA DE IDENTIFICACIÓN API® 20**

API® 20 Staph

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
0	Sin sustrato		Testigo negativo	Incoloro	Rosa/Rojizo
GLU	D-glucosa	1,56	(Testigo positivo) (D- glucosa)		
FRU	D-fructuosa	1,4	Acidificación (D-FRUctuosa)		
MNE	D-manosa	1,4	Acidificación (D-MANosa)		
MAL	D-maltosa	1,4	Acidificación (MALtosa)		
LAC	D-lactosa (origen bovino)	1,4	Acidificación (LACtosa)		
TRE	D-trehalosa	1,32	Acidificación (D-TREhalosa)		
MAN	D-manitol	1,36	Acidificación (D-MANitol)	Rojo *	Amarillo
XLT	Xilitol	1,4	Acidificación (XILitol)		
MEL	D-melibiosa	1,32	Acidificación (D-MELibiosa)		
NIT	Nitrato de potasio	0,08	Reducción de NITratos a nitritos	NIT 1 + NIT 2 / 10 min	
				Incoloro – Rosa claro	Rojo
PAL	β -nafti fosfato	0,0244	Fosfatasa ALcalina	ZYM A + ZYM B / 10 min	
				Amarillo	Violeta

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

VP	Piruvato de sodio	1,904	Producción de acetil-metil-carbinol (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				Incoloro-Rosa claro	Violeta-Rosáceo
RAF	D-rafinosa	1,56	Acidificación (RAFinosa)		
XYL	D-xilosa	1,4	Acidificación (XYLosa)		
SAC	D-sacarosa (sucrosa)	1,32	Acidificación (SACarosa)		
MDG	Metil- α D-glucopiranosida	1,28	Acidificación (Metil- α D-Glucopiranosida)	Rojo	Amarillo
NAG	N-acetil-glucosamina	1,28	Acidificación (N-Acetil-Glucosamina)		
<u>ADH</u>	L-arginina	1,904	Arginina DiHidrolasa	Amarillo	Naranja-Rojo
<u>URE</u>	Urea	0,76	UREasa	Amarillo	Rojo-Violeta

Los ensayos de acidificación deberían compararse con los testigos negativo (0) y positivo (GLU).

* Cuando MNE y XLT van precedidos o seguidos por ensayos positivos, la prueba naranja debería considerarse negativa. ²⁰

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilia Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha: 30/09/2016

API® 20 E

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
ONPG	2-nitro-fenil-β D-galactopiranosida	0,223	β-galactosidasa (orto-nitrofenil-βD-galactopiranosidasa)	Incoloro	Amarillo (1)
<u>ADH</u>	L-arginina	1,9	Arginina-dihidrolasa	Amarillo	Rojo/Anaranjado (2)
<u>LDC</u>	L-lisina	1,9	Lisina Descarboxilasa	Amarillo	Rojo/Anaranjado (2)
<u>ODC</u>	L-ornitina	1,9	Ornitina Descarboxilasa	Amarillo	Rojo/Anaranjado (2)
<u>CIT</u>	Citrato trisódico	0,756	Utilización del CITrato	Verde pálido/Amarillo	Azul-verde/Azul (3)
<u>H₂S</u>	Tiosulfato sódico	0,075	Producción de H ₂ S	Incoloro/Grisáceo	Deposito negro/fin liserado
<u>URE</u>	Urea	0,76	UREasa	Amarillo	Rojo/Anaranjado (2)
TDA	L-triptófano	0,38	Tryptófano DesAminasa	TDA / inmediato	
				Amarillo	Marrón-rojizo
IND	L-triptófano	0,19	Producción de INDole	JAMES / Inmediato	
				Incoloro Verde pálido/Amarillo	Rosa
<u>VP</u>	Piruvato sódica	1,9	Producción de acetoína (Voges Proskauer)	VP1 +VP2 /10 min	
				Incoloro / Rosa pálido	Rosa / Rojo (5)
<u>GEL</u>	Gelatina (origen bovino)	0,6	Gelatinasa (GELatina)	No difusión	Difusión pigmento negro
GLU	D-glucosa	1,9	Fermentación / oxidación (GLUcosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo / Amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	1,9	Fermentación / oxidación (MANitol) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
INO	Inositol	1,9	Fermentación / oxidación (INOsitol) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentación / oxidación (SORbitol) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1,9	Fermentación / oxidación (RHAmnosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1,9	Fermentación / oxidación (SACarosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1,9	Fermentación / oxidación (MELibiosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación / oxidación (AMYgdalina) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,9	Fermentación / oxidación (ARAbinosa) (4)	Azul / Azul verdoso	Amarillo

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 47 de 56

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

- (1) Un color amarillo muy ligero también implica resultado positivo.
- (2) La aparición de un color naranja tras 36-48 hrs de incubación debe considerarse negativa.
- (3) Lectura en la cúpula (zona aerobia).
- (4) La fermentación comienza en la parte inferior de los tubos, mientras que la oxidación empieza en la cúpula.
- (5) Una ligera coloración rosa, que aparece tras 10 minutos, debe ser leída como negativa. ⁽²²⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha: 30/09/2016

API® 20 NH²³

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
<u>PEN</u>	Penicilina G	1,36	PENicilinasas	Azul (ausencia de penicilinasas)	Amarillo / Amarillo verdoso / Amarillo azulado (presencia de penicilinasas)
<u>GLU</u>	Glucosa	0,5	GLUcosa (Acidificación)	Rojo / Rojo naranja	Amarillo / Naranja
<u>FRU</u>	Fructuosa	0,1	FRUctuosa (Acidificación)		
<u>MAL</u>	Maltosa	0,1	MALtosa (Acidificación)		
<u>SAC</u>	Sacarosa	0,5	SACarosa (Acidificación)		
<u>ODC</u>	Ornitina	0,55	Ornitina Descarboxilasa	Amarillo verdoso / Gris verdoso	Azul
<u>URE</u>	Urea	0,41	UREasa	Amarillo	Rosa violeta
<u>LIP</u>	5-bromo-3-indoxyl-caprato	0,033	LIPasa	Incoloro / Gris pálido	Azul (+ precipitado)
<u>PAL</u>	Para-Nitrofenil-fosfato 2CHA	0,038	Fosfatasa Alcalina	Incoloro / Amarillo pálido	Amarillo
<u>βGAL</u>	Para-Nitrofenil-BD galactopiranosida	0,04	β GALactosidasa	Incoloro	Amarillo
<u>ProA</u>	Prolina-4-metoxi-β naftilamida	0,056	Prolina Arilamidasa (Si LIP es +, ProA siempre es -)	ZYM B / 3 min	
				Amarillo / Naranja pálido (Marrón si LIP es +)	Naranja
<u>GGT</u>	Gama glutamil 4-metoxi-β naftilamida	0,049	Gama glutamil transferasa	ZYM B / 3 min	
				Amarillo / Naranja pálido (Amarillo naranja si PAL es +)	Naranja
<u>IND</u>	Tryptófano	0,036	Indol	JAMES / 3 min	
				Incoloro	Rosa

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliána Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha: 30/09/2016

API 20® Coryne ²⁴

TEST	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
		NEGATIVO	POSITIVO
NIT	Reducción de NITrato	NIT A + NIT B / 10 min	
		Incoloro / Rosa muy pálido	Rosa oscuro / Rojo
PYZ	PYraZinamidasa	PYZ / 10 min	
		Incoloro / Café muy pálido / Anaranjado muy pálido	Café / Anaranjado
PyrA	PIRolidonil Arilamidasa	ZYM A + ZYM B / 10 min	
		Incoloro / Anaranjado pálido	Anaranjado
PAL	Fosfatasa alcalina	Incoloro / Purpura pálido / Anaranjado pálido	Purpura
βGUR	β-GIUcuRonidasa	Incoloro / Gris pálido / Beige pálido	Azul
βGAL	β-GALactosidasa	Incoloro / Purpura pálido	Purpura
αGLU	A-GLUcosidasa	Incoloro / Purpura pálido / Verde pálido	Purpura
βNAG	N-Acetyl-β-Glucosamina	Incoloro / Purpura pálido / Café pálido / Gris pálido	Café
ESC	Hidrólisis β-glucosidasa (ESculina)	Incoloro / Gris	Negro
<u>URE</u>	UREasa	Amarillo / Anaranjado	Rojo / Rosa
<u>GEL</u>	Hidrólisis de la GELatina	No difusión	Difusión de pigmento negro
<u>Ω</u>	Testigo negativo		
<u>GLU</u>	Fermentación GLUcosa		
<u>RIB</u>	Fermentación RIBosa		
<u>XYL</u>	Fermentación XYLosa		
<u>MAN</u>	Fermentación MANitol		
<u>MAL</u>	Fermentación MALtosa		
<u>LAC</u>	Fermentación LACTosa		
<u>SAC</u>	Fermentación SACarosa		
<u>GLYG</u>	Fermentación GLYcoGeno	Rojo / Anaranjado	Amarillo / Amarillo naranja

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

ANEXO III. Sensibilidad a antibióticos

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

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm

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

R = Resistente I = Intermedio S = Sensible

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 52 de 56

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

ANEXO IV. Formato de informe de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

FOLIO: _____ EDAD: _____ SEXO: (M) (F)

LOCALIDAD: _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE: _____

ESTUDIOS REALIZADOS VALORES DE REFERENCIA

OBSERVACIONES

SELLO DEL LABORATORIO

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliانا Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



ANEXO V. Principio del método moderno: API 20 y medios cromogenicos

API® 20

Los sistemas miniaturizados API® 20 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.

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

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

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

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



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

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

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

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

La lectura de estas reacciones se hace por comparación con un control de crecimiento y la identificación se obtiene, a partir de un código numérico, mediante un catálogo analítico o un programa informático. (19)

MEDIOS CROMOGÉNICOS

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

Para este propósito se utilizan azúcares como el manitol, la lactosa, el sorbitol y otros, junto con un indicador de pH (rojo neutro, azul de bromotimol, etc.).

En la actualidad los medios selectivos - diferenciales tienden a prepararse utilizando sustancias cromogénicas. (25)

Medio cromogénico: Los sustratos enzimáticos cromogénicos son compuestos que actúan como sustratos para enzimas específicas y cambian de color debido a la acción de la enzima sobre el sustrato. (4)

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 55 de 56

UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

Dichas sustancias son productos químicos de síntesis que son incoloros cuando se unen a sustratos naturales por enlaces que son hidrolizados por enzimas microbianas específicas. Cuando la enzima microbiana hidroliza el enlace, se libera el compuesto cromogénico, que adquiere un color intenso. Así, por ejemplo, la galactosa se une a un colorante, el ortonitrofenol (ONF), por un enlace químico que es reconocido por una enzima bacteriana, la β -galactosidasa, cuya función natural es reconocer e hidrolizar el enlace entre la galactosa y la glucosa (que constituyen la lactosa). El complejo galactosa-ONF es incoloro, pero cuando es hidrolizado por la β -galactosidasa y se libera el ONF, éste adquiere un intenso color amarillo. La aparición de ese color en la colonia y a su alrededor indica la presencia de la enzima. Algunas enzimas son específicas de un género, una especie o propias de un reducido número de especies, por lo que su detección permite su identificación. ⁽²⁵⁾

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Liliiana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



UNIDAD 4: Aparato respiratorio

Práctica: Diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior mediante el exudado nasofaríngeo.

Fecha:30/09/2016

ANEXO VI. Cuestionario

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

Elaboró: Q. F. B. Angélica Ramón Olivera
Q.F.B. Sthefany Lilliana Ortega Cortés

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 59

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

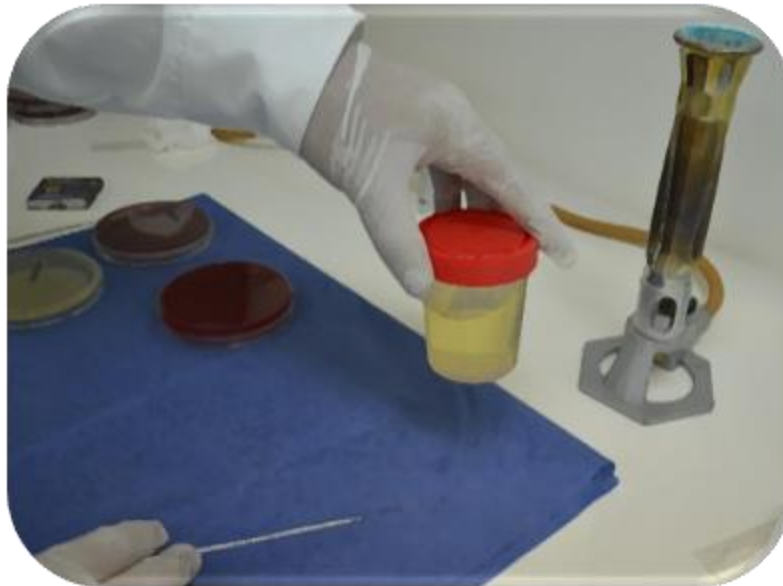
Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

PRÁCTICA

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES BACTERIANAS DE VÍAS URINARIAS



ELABORADO POR:

Q.F.B. ANTONIO AVILÉS VILLADA

M. en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Q. MARÍA TERESA MENDOZA MATA

Proyecto apoyado por PAPIME 209012

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	5
II. OBJETIVOS.....	7
III. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	7
IV. PROPÓSITO DEL EXAMEN	8
V. METODOLOGÍA.....	9
V.1. Fase Preanalítica.....	9
V.2. Fase Analítica.....	17
V.3. Fase Post analítica.....	46
VI. REFERENCIAS	47
ANEXO I. REPORTE DE UROANÁLISIS.....	48
ANEXO II. DETERMINACIÓN DE <i>CANDIDA ALBICANS</i>	49
ANEXO III. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO TRADICIONAL.....	50
ANEXO IV. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO.....	52
ANEXO V. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS	56
ANEXO VI. FORMATO DE INFORME DE LABORATORIO.....	58
ANEXO VII. CUESTIONARIO.....	59



I. Introducción

El aparato urinario se infecta cuando las bacterias logran llegar a la vejiga, con o sin participación de ureteros y riñones; ahí comienzan a multiplicarse. Se han hecho intentos por distinguir entre infecciones que afectan a los riñones (pielonefritis) y ureteros y aquellas en las que sólo es afectada la vejiga (cistitis). Esto es importante para establecer el pronóstico a largo plazo de las infecciones recurrentes, ya que la infección repetida del riñón mismo se relaciona con la condición de daño renal permanente acompañado de cicatrización conocida como la pielonefritis crónica (un diagnóstico patológico (histológico) y no microbiológico (bacterias)); sin embargo, la diferencia entre afección de las vías urinarias no existe, y en principio es mejor considerar al aparato urinario como una sola entidad.

Estas infecciones se pueden dividir en dos tipos, primario y secundario. Las infecciones primarias ocurren en personas con aparato urinario normal y son poco comunes en varones. El factor principal que hace a la infección del aparato urinario primaria una enfermedad exclusiva de las mujeres es la anatomía de la uretra.

La infección del aparato urinario secundaria es el resultado de alguna anormalidad o de instrumentación, y se presenta tanto en varones como en mujeres. El factor predisponente puede ser cualquier cosa que perturbe el funcionamiento; por ejemplo: obstrucción del flujo o incapacidad para evacuar la orina. La lista de posibilidades incluye constricción o válvulas uretrales, divertículos en la vejiga, cálculos urinarios, crecimiento de la próstata, carcinoma de la vejiga, cistitis renal, ureteros dobles, riñones en herradura, vejiga neurogénica y procedimientos terapéuticos como cateterización de la vejiga o cistoscopia. ⁽¹⁾

En la infección simple sin complicaciones, el 80% de las infecciones son causadas por *Escherichia coli*, entre el 7% y el 8% por *Proteus mirabilis* y una proporción similar por *Staphylococcus saprophyticus*. El restante 5% en su mayoría es por enterococos. ⁽²⁾

S. saprophyticus es un comensal de la piel que se localiza en la superficie perineal, y menos a menudo en otras partes del cuerpo. Produce infección principalmente en mujeres jóvenes; con síntomas notables en las vías urinarias inferiores (frecuencia y disuria), hematuria y piuria intensa. En la infección secundaria muchos casos son causados por otros bacilos gramnegativos, en especial los más resistentes a antibióticos relacionados con hospitales, como *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Pseudomona aeruginosa*. ⁽¹⁾



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

Las infecciones del tracto urinario (ITU) se diagnostican habitualmente por la sintomatología, la presencia de leucocitos y bacterias en el sedimento urinario y el cultivo microbiológico de la orina. Los síntomas clínicos pueden introducirnos a sospechar la existencia de la infección, al igual que la información suministrada por el análisis microscópico del sedimento urinario, pero esta sospecha debe ser confirmada, si es posible, mediante la demostración del agente etiológico. ⁽⁴⁾

La bacteriuria se define como «significativa» cuando una muestra de orina recogida de la porción media de la micción con técnica correcta contiene $>10^5$ gérmenes por mililitro. La orina infectada suele contener una sola especie bacteriana. La orina contaminada tiene, en general, $<10^4$ gérmenes por mililitro y muestra frecuentemente más de una especie bacteriana. ⁽⁵⁾

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

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

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

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

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



Cabe señalar que al final de la práctica se realizó un cuestionario que tiene por objetivo validar la utilidad de la misma, y con las opiniones de alumnos y profesores establecer un proceso de mejora continua de esta práctica.

II. Objetivos

- Realizar una correcta toma de muestra urinaria por chorro medio para aplicar los procedimientos para llegar al diagnóstico de infección del tracto urinario.
- Utilizar los procedimientos de los métodos tradicional y moderno para la identificación de microorganismos encontrados en infecciones del tracto urinario.
- Utilizar los agares cromogénicos y sistema API como métodos modernos de diagnóstico.
- Utilizar las cepas ATCC como control de calidad para el método tradicional y moderno.

III. Medidas de bioseguridad ⁽³⁾

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

- Las puertas del laboratorio se mantendrán cerradas.
- No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan implicar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados.
- No se usará calzado abierto.
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- Estará estrictamente prohibido pipetear con la boca.
- No se colocará ningún material en la boca ni se pasará la lengua por las etiquetas.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

- Todos los derrames, accidentes y exposiciones reales o potenciales a materiales infecciosos se comunicarán al supervisor del laboratorio.
- Los líquidos contaminados deberán descontaminarse (por medios químicos o físicos).
- El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso y al final de cada jornada de trabajo.

Manipulación de desechos:

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



IV. Propósito del examen

El diseño de esta práctica va encaminado al diagnóstico microbiológico de microorganismos causantes de enfermedad en el aparato urinario, empezando desde cómo realizar una correcta toma de muestra hasta la identificación de los microorganismos patógenos en el tracto urinario utilizando el método tradicional y moderno (medios cromogénicos y sistema API), teniendo como control de calidad las cepas ATCC.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



V. Metodología

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y el método actual de diagnóstico (sistema API 20 y medios cromogénicos). Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

V.1. Fase Preanalítica

INDICACIONES Y PRECAUCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA.

- Explicar al paciente en que consiste la recolección por chorro medio.
- Obtener la primera muestra de la mañana siempre que sea posible. Permitiendo que la orina permanezca en la vejiga durante toda la noche o por lo menos 4 hrs, de esta forma se disminuirá el número de resultados falsos negativos.
- En pacientes con sintomatología de ITU se puede aceptar muestra en cualquier momento del día, teniendo en cuenta que sus recuentos pueden ser menores de 10^5 UFC/ml.
- No forzar la ingesta de líquidos para tratar de obtener la orina del paciente, lo cual puede diluir la orina y disminuir el recuento de colonias.
- Es preferible que el paciente no esté tomando antibióticos al momento de la toma de muestra, ya que los cultivos pueden resultar negativos.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

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

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	REVELADORES PARA PRUEBAS BIOQUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Portaobjetos ▪ Cubreobjetos ▪ Guantes ▪ Cubrebocas ▪ Mechero ▪ Frasco de muestra estéril ▪ Tiras reactivas ▪ Microscopio ▪ Papel especial para óptica ▪ Asas de siembra limpias ▪ Asa de 1 µl ▪ Asa de 10 µl 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colorantes para tinción de Gram: ✓ Cristal violeta ✓ Lugol ✓ Alcohol-Cetona ✓ Safranina ▪ Aceite de inmersión 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar sangre ▪ Agar chocolate ▪ Agar cistina-lactosa-deficiente en electrolitos (CLED) ▪ Agar McConkey ▪ Agar S-110 o Agar Sal y Manitol ▪ Agar Sabouraud o PDA ▪ Agar Müeller Hinton 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Citrato de Simmon´s ▪ Fenilalanina desaminasa ▪ LIA ▪ MIO ▪ SIM ▪ TSI ▪ Urea de Christensen ▪ Caldo nitrato ▪ Caldo nitrato con campana ▪ Caldo RM-VP ▪ O/F Hugh Leifson con/sin sello de nujol ▪ Rojo de fenol + CHO's 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cloruro férrico ▪ Alfa naftilamina ▪ Ácido sulfanílico ▪ Alfa naftol ▪ KOH 30% ▪ Prueba de la catalasa ▪ Prueba de la coagulasa ▪ Reactivo de Kovacs



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA

Es responsabilidad del Jefe del Laboratorio de Microbiología, en la instrucción del personal de salud sobre la apropiada toma de muestra.

TÉCNICA PARA MUJERES

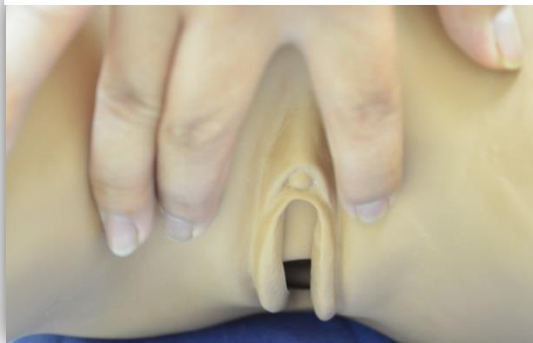
1 La paciente debe quitarse la ropa interior.



2 Se lavará las manos cuidadosamente con agua y jabón, las enjuagará y las secará con una toalla limpia.



3 Se separarán los labios mayores y menores, y los mantendrá separados en todo momento hasta que se haya recogido la orina.



4 Con un algodón enjabonado (A) se lava bien la vulva pasándola de adelante hacia atrás, (B) se repetirá el proceso un total de 4 veces. *



(A)



(B)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

5 Luego con dos gasas adicionales y agua o solución salina estéril lavar la vulva o enjuagar cuidadosamente con agua hervida para eliminar los restos de jabón.

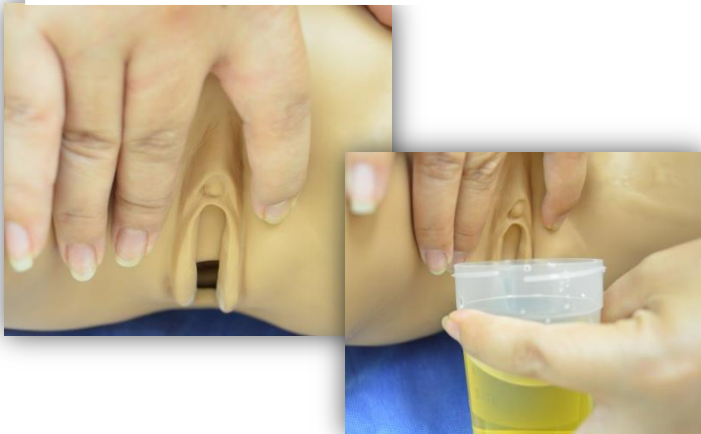


6 El frasco debe sujetarse para que no haga contacto con pierna, vulva o la ropa.

Solo debe abrirse en el momento de la micción y sin tocar con los dedos su interior, coloque la tapa con el lado plano hacia abajo.



7 Iniciar el chorro de orina, desechando los 10 primeros mililitros, retener la micción, colocar el frasco e iniciar la 2º micción hasta la marca, retener y quitar el frasco para seguir con la micción normal.



8 Tapanlo, lavarse las manos y marcarlo en la tapa con nombre, edad y fecha.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

NOTA: No utilizar jabones con desinfectantes (benzalconio, hexaclorofeno u otro similar), porque una sola gota de residuo puede esterilizar la orina antes de que la muestra llegue al laboratorio.

Comentario: La recolección de muestras de orina de chorro medio debería ser evitada durante la menstruación.

TÉCNICA PARA HOMBRES

1 El paciente debe bajarse el cierre o quitarse el pantalón y la ropa interior.

2 No circuncidados: Retraer completamente el prepucio y se mantendrá así en todo momento, hasta que se haya recogido la orina.

Circuncidados: no requieren mayor preparación.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

- 3 Limpiar el glande con dos torundas embebidas en jabón neutro (A), prestando especial atención al meato uretral (B). *

(A)



(B)



- 4 Luego con dos gasas adicionales eliminar los restos de jabón enjuagándolo con agua hervida o solución salina estéril.



- 5 El frasco debe sujetarse para que no haya contacto con el glande o la ropa del paciente. **Solo debe abrirse en el momento de la micción** y sin tocar con los dedos su interior, coloque la tapa con el lado plano hacia abajo.



- 6 Iniciar el chorro de orina, desechando los 10 primeros mililitros, retener la micción, colocar el frasco e iniciar la 2ª micción hasta la marca, retener y quitar el frasco para seguir con la micción normal.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



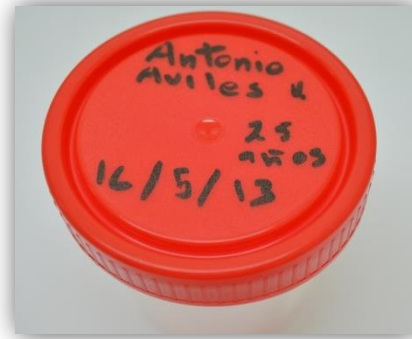
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

7

Taparlo, lavarse las manos y marcarlo en la tapa con nombre, edad y fecha.



NOTA: No utilizar jabones con desinfectantes (benzalconio, hexaclorofeno u otro similar), porque una sola gota de residuo puede esterilizar la orina antes de que la muestra llegue al laboratorio.

Comentario: Nunca obtener orina del bacín o del urinario.

TRANSPORTE DE LA MUESTRA

La orina debe ser transportada inmediatamente al laboratorio después de su obtención, pudiendo permanecer a temperatura ambiente hasta 2 hrs. Si la orina no puede ser procesada se puede conservar hasta 24 hrs en refrigeración después de su obtención. **NO CONGELAR** la muestra.

ROTULACIÓN DE LA MUESTRA Y SOLICITUD ENVIADA

Rotular el frasco de orina con información del paciente y la hora de su obtención. En el petitorio del laboratorio debe indicarse los siguientes datos mínimos: edad, sexo, tipo de muestra, tratamiento previo a las 24 hrs y otros datos de acuerdo a la población en estudio.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



Comentario: Cuando se solicita el cultivo para levaduras, inocular 10 µl por placa y mantener los cultivos de 48 hrs para detectar levaduras con recuentos bajos.

CRITERIOS DE RECHAZO

- Solicite una nueva muestra de orina cuando la muestra ha sido conservada por más de 2 hrs a temperatura ambiente.
- Toda muestra que no esté adecuadamente rotulada será rechazada.
- Rechazar orinas de 24 hrs de recolección.
- Rechazar muestras de orina obtenidas con el mismo método de colección dentro de las 48 hrs de recepción de la primera muestra. Llamar a esta una muestra duplicada.
- No se recomienda el uso de bolsas colectoras de orina en pacientes pediátricos, por dificultades en su interpretación, salvo cuando los resultados son negativos.
- Rechazar muestras que llegan en frascos abiertos y derramados.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



V.2. Fase Analítica

UROANÁLISIS

- 1) Usar las tiras reactivas de Uroanálisis para la detección cualitativa y semicuantitativa de uno o más de analitos en orina.
 - A) Mezclar a fondo la muestra de orina. Durante el análisis, la muestra debe estar a temperatura ambiente. La muestra no debería reposar durante más de 2 horas antes de su análisis.
 - B) Extraer una tira reactiva y volver a cerrar el envase inmediatamente con el mismo tapón que lleva un agente secante.





UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

C) Sumergir la tira brevemente (aprox. 1 segundo) en la orina, mojando todas las zonas reactivas.



D) Al extraerla, rozar el canto lateral en el borde del recipiente o colocarlo en una gasa para eliminar el exceso de orina.



E) Al cabo de 60 segundos (para la zona de leucocitos de 60-120 segundos), comparar los colores de reacción de las zonas reactivas de la tira con la escala de colores de la etiqueta y asignar el valor del bloque cromático más parecido al color observado. Compare la novena o la décima zona reactiva (de sangre) con ambas referencias cromáticas, puesto que para los eritrocitos y hemoglobina se indican dos escalas cromáticas diferentes.

F) Los cambios de color que sólo aparecen en los bordes de las zonas reactivas o después de transcurridos más de 2 minutos, carecen de importancia diagnóstica.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

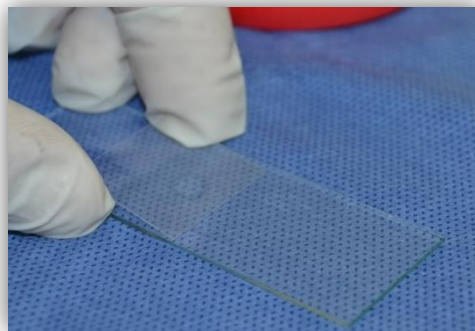


NOTA: No tocar el frasco con la tira reactiva ya que está puede manchar la escala.

2) Examen microscópico

a) Examen directo

- I. Una gota de orina fresca no centrifugada se coloca sobre un portaobjetos.
- II. Se tapa con un cubreobjetos y se examina con luz de poca intensidad con el objetivo seco fuerte (40x) de un microscopio clínico ordinario; esto puede revelar leucocitos, células epiteliales y bacterias si se encuentran más de 10^5 /ml.
- III. El hallazgo de 10^5 microorganismos/ml en una muestra de orina recolectada y examinada de manera apropiada es evidencia clara de infección activa del aparato urinario (piuria). Los bacilos gramnegativos en un frotis de orina, de mitad del chorro no centrifugada teñido con Gram diagnostican infección en el aparato urinario.



b) Sedimento Urinario

- I. Centrifugar 10 ml de orina a 1500 rpm x 5 min.
- II. La presencia de más de 10 leucocitos por campo es indicativo de piuria.
- III. La presencia de otros elementos formados en el sedimento (*Trichomonas*, leucocitos, cilindros, eritrocitos), o la presencia de proteinuria, es de poca ayuda directa en la identificación específica de infecciones activas del aparato urinario. La presencia de muchas células epiteliales escamosas, lactobacilos o flora mixta en el cultivo sugiere recolección inapropiada de la orina.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

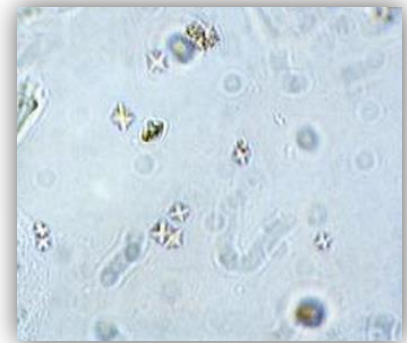
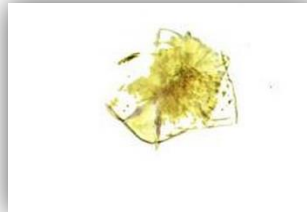
FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

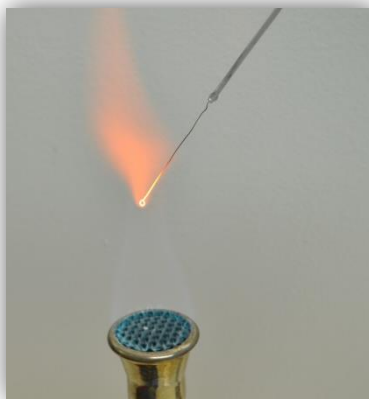


NOTA: Reportar los hallazgos en el ANEXO I.

3) INOCULACIÓN PARA EL RECuento DE COLONIAS

Método de asa calibrada

- 1) Usando un asa calibrada de 1 μ l flameada y enfriada o una desechable calibrada de 1 μ l, mantener el asa verticalmente, y sumergir solamente el aro por debajo de la superficie de la muestra de orina, sin centrifugar y bien mezclada.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

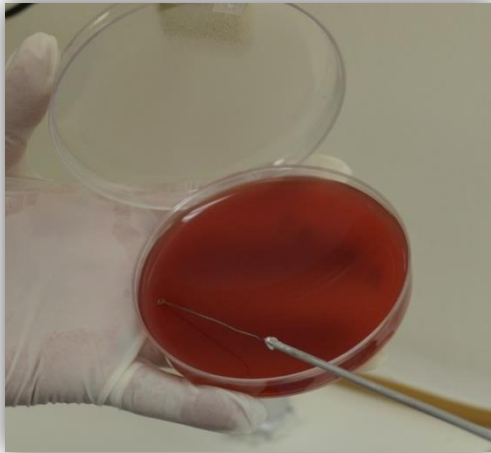


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

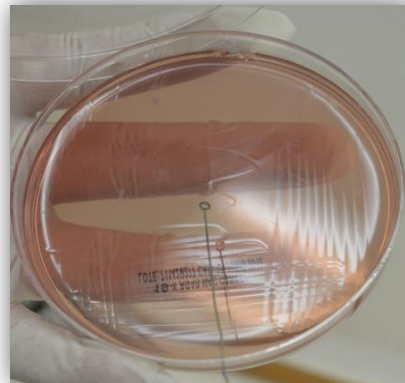
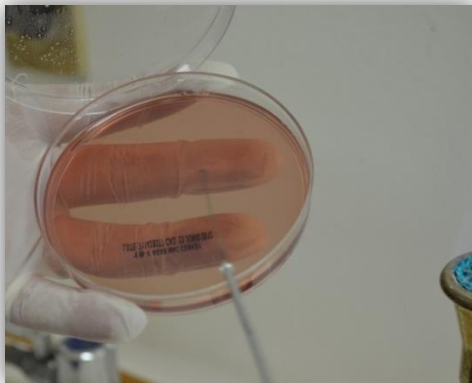
Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

- 2) Llevar una asada de 1 μl de la orina bien mezclada sobre la placa de agar sangre haciendo una línea recta a lo largo y por el centro del agar y estriar la orina mediante una serie de pases en ángulos de 90° a través del inóculo y después picar el agar.



- 3) Incubar a 37°C por 18-24 hrs. Posteriormente leer.
4) Para el aislamiento de colonias usar Agar McConkey y sembrar por aislamiento.
5) Incubar a 37°C por 24 hrs.
6) Cuando se utilizan 10 μl de muestra tomar una asada de orina bien mezclada para inocular y estriar en cuadrantes las placas de agar.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



LECTURA DE LAS PLACAS.

Observar si hay crecimiento en las placas y proceder al recuento de las colonias aisladas. El número de colonias obtenido corresponde a la cifra de microorganismos presentes en 1 μl de orina al haber utilizado un asa calibrada para hacer la siembra. Si el recuento es significativo ($> 10^5$ UFC/ml), proceder a la identificación del microorganismo.

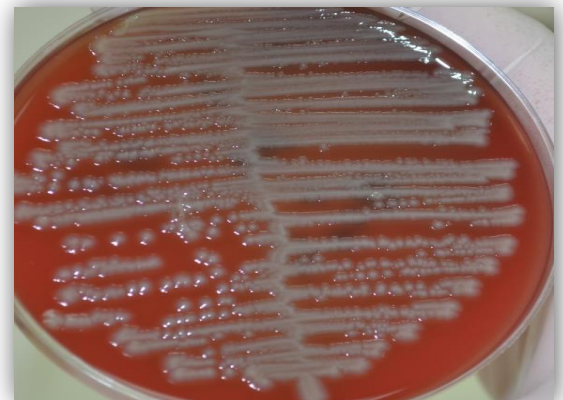
Para los cultivos positivos, examinar los medios de cultivo para la cuantificación y tipo morfológico de los organismos presentes.

- Con un asa de 1 μl , una colonia equivale a 1,000 UFC/ml.
- Con un asa de 10 μl , una colonia equivale a 100 UFC / ml.



Cuando las colonias son demasiado numerosas para contar.

- El máximo recuento usando el asa de 1 μl es $>10^5$ UFC/ml.
- El máximo recuento usando el asa de 10 μl es $>10^4$ UFC/ml.





UROCULTIVO

Tabla 1. Descripción general del método tradicional y moderno.

A.MÉTODO TRADICIONAL		B.MÉTODO MODERNO DE DIAGNÓSTICO	
Origen de la muestra a analizar		Origen de la muestra a analizar	
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
<p>La inoculación de orina se realizará por aislamiento en los medios de cultivo:</p> <ul style="list-style-type: none"> * Agar sangre * Agar cistina-lactosa-deficiente en electrolitos (CLED) * Agar McConkey * Agar S-110 o Agar Sal y Manitol * Agar Sabouraud o PDA <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Se incuban de 35-37 °C durante 18 a 24 horas.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Después de la incubación observar la morfología colonial para cada medio de cultivo sembrado.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>En las colonias de agar sangre observar el tipo de hemólisis y realizar las pruebas de catalasa y coagulasa.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Realizar la tinción de Gram.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Realizar las siguientes pruebas bioquímicas:</p> <ul style="list-style-type: none"> * SIM * MIO * TSI * LIA * Urea * Citrato de Simmons * Medio Manitol Hugh-Leifson con sello * Medio Manitol Hugh-Leifson sin sello * Caldo nitrato * RM-VP <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Incubar a 37 °C por 18-24 hrs. Posteriormente leer.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>En las colonias formadas en agar papa dextrosa realizar la prueba de tubo germinal.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Efectuar Antibiograma de bacterias patógenas encontradas y reportar.</p>		<p>Medios Cromogénicos</p> <p>La inoculación de orina se realizará por aislamiento en los medios cromogénicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> * CPS ID 3 * Candida ID <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Incubar de 35 a 37 °C de 24 a 48 hrs.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Observar las colonias aisladas, comparar con la literatura y reportar.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Realizar el llenado de las galerías de API 20 con una cepa problema en:</p> <ul style="list-style-type: none"> * API 20 E * API 20 C AUX 	

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

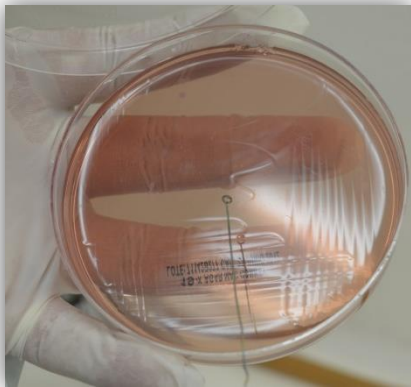
FECHA: 30/09/2016



A. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO TRADICIONAL

1) Con una asa bacteriológica esterilizada, tomar una asada directamente del frasco de orina y sembrar por aislamiento en 3 o 4 cuadrantes en los siguientes medios:

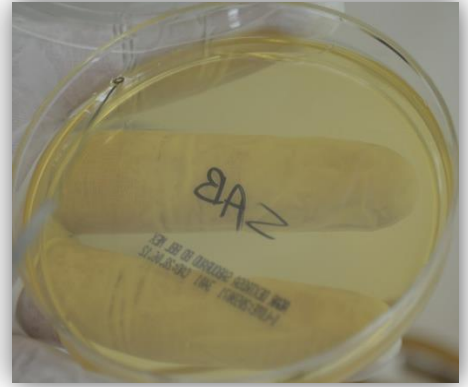
- Agar cistina-lactosa-deficiente en electrólitos (CLED)
- Agar S-110 o Agar Sal y Manitol
- Agar Sabouraud o PDA



Agar McConkey

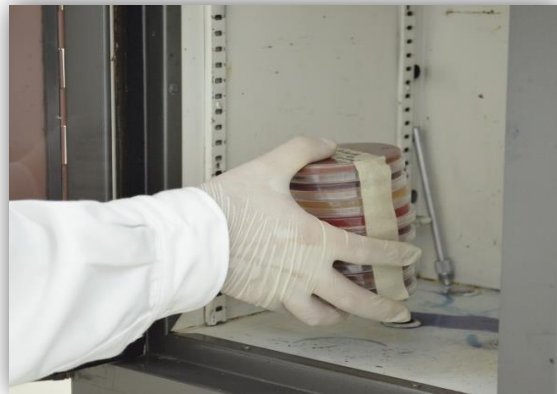


Agar Sal y Manitol



Agar Sabouraud

2) Incubar de 35-37 °C durante 18 a 24 horas.



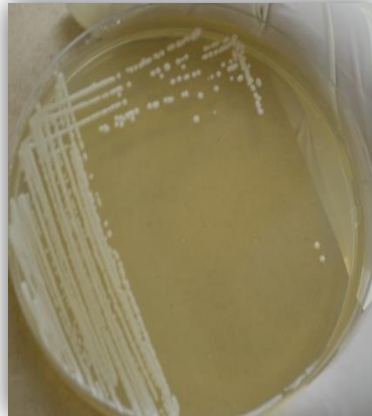


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

- 3) Observar la morfología en cada uno de los medios inoculados y seleccionar el crecimiento del posible patógeno.



- 4) De acuerdo al punto 3 de Urianálisis, observar en la placa de agar sangre si hubo hemólisis y realizar la prueba de catalasa y coagulasa de una colonia aislada.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

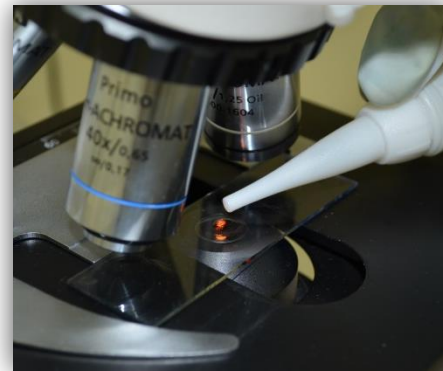


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

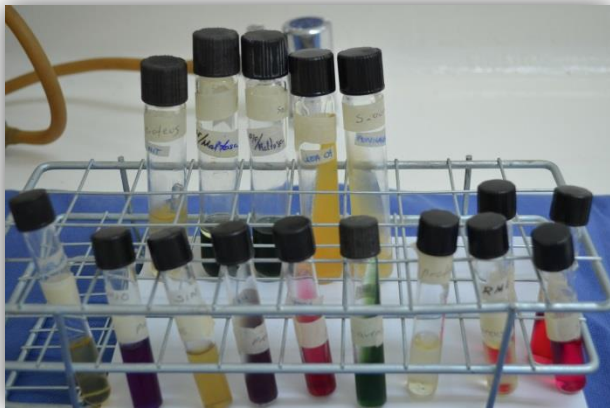
Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

- 5) Realizar la tinción de Gram de una cepa aislada de los medios inoculados. Observar la preparación teñida en el microscopio, utilizando objetivos: seco fuerte (40X) e inmersión (100X).



- 6) Realizar la inoculación en las pruebas bioquímicas, a partir de colonias bien aisladas de los medios de cultivo utilizados.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



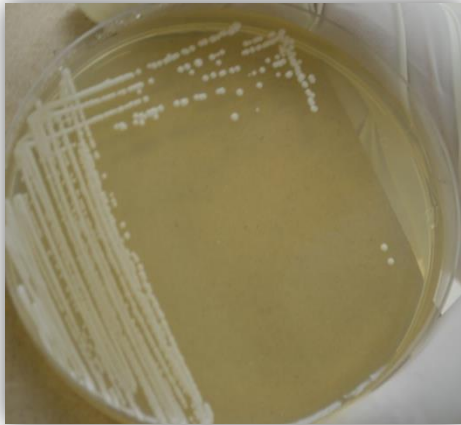
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

7) Incubar a 37 °C por 18-24 hrs. Posteriormente leer las pruebas bioquímicas.

8) En las colonias formadas en agar Sabouraud realizar la prueba de tubo germinal. (ANEXO II)



9) Reportar todos los resultados en los formatos para el método tradicional. (ANEXO III)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



B. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO MODERNO

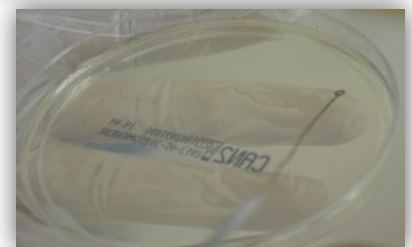
MEDIOS CROMOGÉNICOS

MATERIAL	MEDIOS DE CULTIVO: AGAR CROMOGÉNICO
<ul style="list-style-type: none"> Asa bacteriológica Guantes Cubrebocas Mechero bunsen 	<ul style="list-style-type: none"> Crom Candida ID Crom CPS ID Crom COS ID



1) Tomar una asada directamente del frasco con orina y sembrar por aislamiento en tres o cuatro cuadrantes en los medios cromogénicos:

- COS ID
- CPS ID
- Candida ID



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

2) Incubar las placas en atmósfera aerobia de 35 a 37 °C de 24 a 48 hrs.



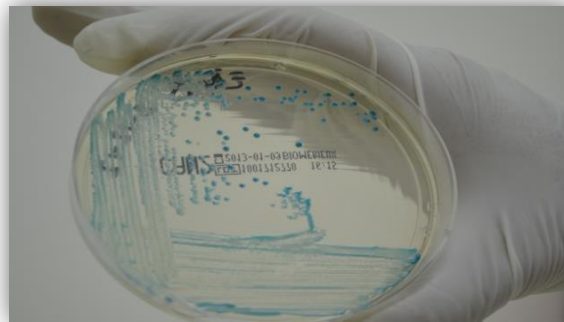
3) Efectuar la lectura de las placas y anotar el resultado correspondiente en la tabla de resultados para medios cromogénicos. (ANEXO III)



Crom CPS /*Proteus mirabilis*



Crom Columbia /*E. coli*



Crom Candida /*Candida albicans*

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

API 20E

MATERIAL	REACTIVOS PARA REVELADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none">▪ Kit API 20 E▪ Jeringa de 1ml o pipeta▪ Pasteur▪ Guantes▪ Cubrebocas	<ul style="list-style-type: none">▪ FeCl_3 10% (TDA)▪ KOH al 40% (VP1)▪ Naftol (VP2)▪ Kovacs o dimetilamino-cinamaldehído o reactivo de James.▪ Tetrafenilendiamina▪ NIT 1 y NIT 2▪ Zn



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



METODOLOGÍA

Preparación de la tira

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



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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

4) Colocar la galería en la cámara de incubación.

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

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



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



*CIT= utilización del citrato

*VP= producción de acetoina (Voges Proskauer)

*GEL= gelatinasa (gelatina)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

9) Para las otras pruebas, llenar únicamente los tubos (no las cúpulas).



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



ADH= Arginina-dihidrolasa
URE= Ureasa
LDC =Lisina Decarboxilasa
H₂S= Producción de H₂S
ODC=Ornitina Decarboxilasa

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

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Rob

FECHA: 25/09/2015

la Carrera

FECHA: 30/09/2016



LECTURA E INTERPRETACIÓN

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



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

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

TDA: añadir una gota de FeCl_3 10% (una gota del reactivo TDA).
Positivo= color marrón oscuro



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

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

Negativo= color rosa débil después de los 10 minutos.



IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs¹ o dimetilamino-cinamaldehído². O reactivo de James³ dependiendo del reactivo utilizado pueden darse las posibilidades siguientes:

¹Positivo= aparece un anillo rosa-rojo.

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

³Positivo= rosa



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

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

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

Positivo (NO_2)= coloración roja



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

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

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

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

- ✓ Si la reacción es negativa en un pocillo se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva en el primer pocillo se escribe 1, si es positiva en el segundo pocillo se escribe 2 y si es positivo en el tercero se escribe 4 obteniendo un triplete.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. (9,10,11)



16) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato para API 20 E. (ANEXO IV)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

API 20C AUX

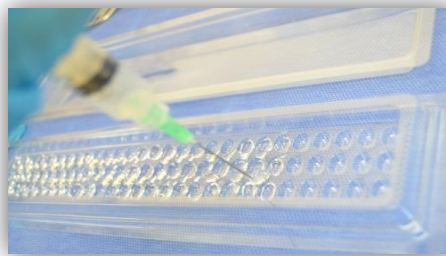
METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Kit API 20C AUX ▪ Micropipeta de 100µl ▪ Solución fisiológica de NaCl al 0.85% ▪ Guantes ▪ Cubrebocas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Patrón 2 de MacFarland ▪ Ampolla API C Médium



PREPARACIÓN DE LA GALERÍA

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

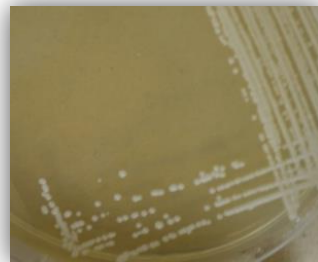
- 3) Retirar la galería de su envase individual y depositarla en la cámara de incubación.

PREPARACIÓN DEL INÓCULO.

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



6) Abrir una ampolla de API C Médium:

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



Ampolla y protector



a)



b) y c)



d)



d)



e) y f)

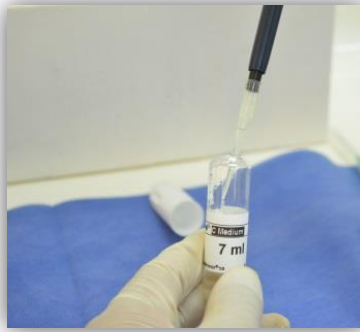


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

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



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

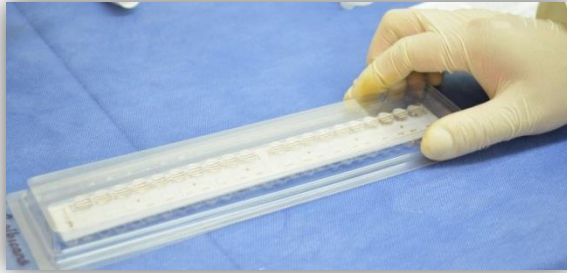
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



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



LECTURA DE LA GALERÍA

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

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





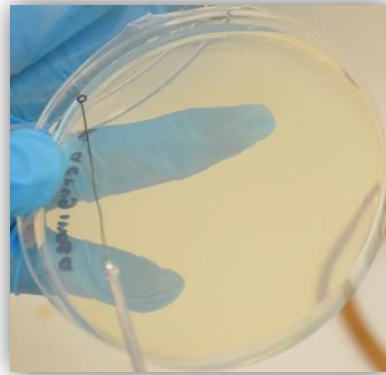
SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Asa bacteriológica ▪ Multidiscos Gram positivos y Gram negativos ▪ Guantes ▪ Cubrebocas ▪ Mechero 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Müeller Hinton

PROCEDIMIENTO

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

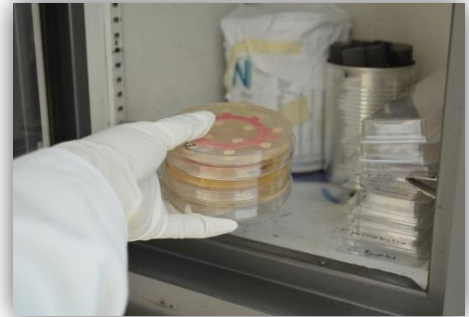
FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



2) Colocar los multidiscos sobre el agar inoculado e incubar la placa a 35 °C por 24 horas.



3) Realizar la lectura del antibiograma, utilizando la hoja para susceptibilidad a antibióticos suministrada por el proveedor. ⁽⁹⁾ (ANEXO V)



4) Anotar los resultados y en el formato de “Informe de Laboratorio”. Se colocará el nombre del microorganismo patógeno identificado, así como la susceptibilidad a antibióticos en dicho formato. (ANEXO VI)

V.3. Fase Postanalítica

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



VI. Referencias

1. Duerden, B.I. Microbiología de Enfermedades Infecciosas. México. Limusa SA de CV; 1993.
2. Forbes B. Diagnóstico Microbiológico Bailey y Scott. 12^o Edición. Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2009.
3. OMS. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3^o Edición. Ginebra: 2005.
4. García, Pedro y col. Microbiología Clínica Aplicada. 3^o Edición. España. Ed. Díaz de Santos: 1992.
5. Mims, C.A. Microbiología Médica. España. Mosby / Doyma Libros; 1995
6. Soto J.Guillén A. Rojas R. Manual de procedimientos para el Cultivo de orina (urocultivo). Sociedad Científica Peruana de Microbiología. 2012
7. Manual de Microbiología Médica. Aparato Genitourinario. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. 2008.
8. Biomeriux. Medios cromogénicos chromID. 2012. Disponible en: http://www.biomerieux.com.mx/servlet/srt/bio/mexico/dynPage?doc=MEX_CLN_PRD_G_PRD_CLN_35. Acceso 26 enero de 2013.
9. Koneman E., Allen S., Janda W., Schreckenberger P., Winn W. Diagnóstico microbiológico texto y atlas color. 5^a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2002.
10. API20 E. Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes. 2009; [56 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/4.pdf>
11. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid; Médica Panamericana; 2005
12. API Staph. Sistema de identificación de estafilococos, micrococos y géneros relacionados. 2009. [44 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/6.pdf>
13. Multidiscos ^{MR} II. Biorad 2010; [2 páginas]. Disponible en: <http://sdpmexico.com.mx/files/MULTIDISCOS.pdf>



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

ANEXO I. Reporte de uroanálisis

Fecha				
Clave				
Edad / sexo				
Volumen (mL)				
Color				
Aspecto				
Densidad				
pH				
Leucocitos				
Nitritos				
Proteínas				
Glucosa				
Cetonas				
Urobilinógeno				
Bilirrubina				
Sangre / Hb				
Examen microscópico				
Cel. epiteliales				
Eritrocitos				
Leucocitos				
Bacterias				
Levaduras				
Cilindros				
Oxalato de calcio				
Fosfato amorfo				
Ácido Úrico				
Cristales colesterol				
Fosfato triple				
Otros				

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

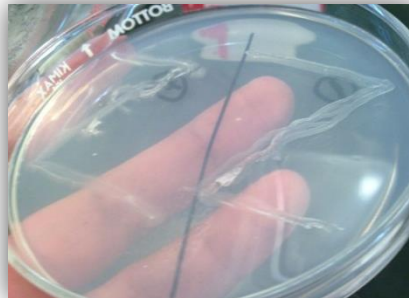
FECHA: 30/09/2016



ANEXO II. Determinación de *Candida albicans*

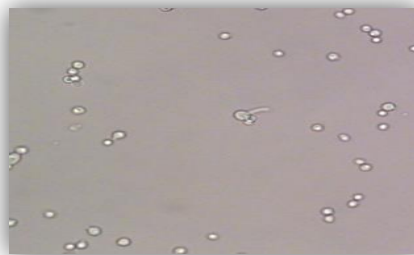
1. PRODUCCIÓN DE CLAMIDIOESPORAS.

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



2. PRODUCCIÓN DE TUBO GERMINAL.

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





ANEXO III. Formato de resultados método tradicional

TINCIÓN DE GRAM

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

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

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

PRUEBAS ESPECIALES (positivo o negativo)

CLAVE CEPA			
PRODUCCIÓN DE CLAMIDIOSPORAS			
PRODUCCIÓN DE TUBO GERMINAL			



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

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

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

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

PRUEBAS ESPECIALES

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



ANEXO IV. Formato de resultados método moderno

MEDIO CROMOGÉNICO

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

¹ Características que dependen del medio de cultivo: halos.

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 E

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentación/oxidación (Sorbitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1,9	Fermentación/oxidación (Rhamnosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1,9	Fermentación/oxidación (sacarosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1,9	Fermentación/oxidación (Melibiosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación/oxidación (Amygdalina) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,9	Fermentación/oxidación (Arabinosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

ANEXO V. Sensibilidad a antibióticos

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

FORMATO DE REPORTE SE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS (ANTIBIOGRAMA)

Clave cepa _____

R, I, S

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

R: Resistente
I: Intermedio
S: Sensible

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 58 de 59

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Urocultivo

Fecha: 30/09/2016

ANEXO VI. Formato de informe de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

FOLIO: _____ EDAD: _____ SEXO: (M) (F)

LOCALIDAD: _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE: _____

ESTUDIOS REALIZADOS

VALORES DE REFERENCIA

OBSERVACIONES

SELLO DEL LABORATORIO

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q. María Teresa Mendoza Mata

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

Inicio



ANEXO VII. Cuestionario

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 62

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

PRÁCTICA DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES BACTERIANAS DEL TRACTO GENITAL MEDIANTE EL EXUDADO VAGINAL



ELABORADO POR:

Q.F.B. ANTONIO AVILÉS VILLADA

M. en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Q.F.B. ROSALBA CERVANTES CRUZ



Proyecto apoyado por PAPIME 209012

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	5
II. OBJETIVOS.....	7
III. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	7
IV. PROPÓSITO DEL EXAMEN	8
V. METODOLOGÍA.....	9
V.1. Fase Preanalítica	9
V.2. Fase Analítica.....	22
V.3. Fase Post analítica.....	45
VI. REFERENCIAS	46
ANEXO I. ELECCIÓN DEL ESPÉCULO Y SU MANEJO.....	47
ANEXO II. DETERMINACIÓN DE <i>CANDIDA ALBICANS</i>	52
ANEXO III. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO TRADICIONAL.....	53
ANEXO IV. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO.....	55
ANEXO V. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS.....	59
ANEXO VI. FORMATO DE INFORME DE LABORATORIO.....	61
ANEXO VII. CUESTIONARIO.....	62



I. Introducción

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

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

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

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

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

La vaginosis bacteriana parece asociarse con una reducción de los lactobacilos y la producción de peróxido de hidrógeno, una elevación del pH vaginal y el sobrecrecimiento de los microorganismos asociados con la vaginosis bacteriana. La actividad sinérgica de varios microorganismos anaerobios, entre ellos especies de *Prevotella*, especies de *Porphyromonas*, peptoestreptococos, especies de *Mobiluncus* y micoplasmas así como *G. vaginalis*, parece contribuir a producir la infección. La vaginosis bacteriana se caracteriza por una irritación perivaginal bastante más leve que la de la tricomoniasis o la candidiasis y por lo general se asocia con un flujo maloliente que con frecuencia se describe como con "olor a pescado", también puede sentir dolor al orinar o picazón en la parte exterior de la vagina o ambas cosas. Algunas manifiestan no tener signos ni síntomas. ⁽²⁾



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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

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

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

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

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

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

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

Cabe señalar que al final de la práctica se realizó un cuestionario que tiene por objetivo validar la utilidad de la misma, y con las opiniones de alumnos y profesores establecer un proceso de mejora continua de esta práctica.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



II. Objetivos

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

III. Medidas de bioseguridad ⁽³⁾

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

- Las puertas del laboratorio se mantendrán cerradas.
- No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan implicar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados.
- No se usará calzado abierto.
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- Estará estrictamente prohibido pipetear con la boca.
- No se colocará ningún material en la boca ni se pasará la lengua por las etiquetas.
- Todos los derrames, accidentes y exposiciones reales o potenciales a materiales infecciosos se comunicarán al supervisor del laboratorio.
- Los líquidos contaminados deberán descontaminarse (por medios químicos o físicos).

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

- El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso y al final de cada jornada de trabajo.

Manipulación de desechos:

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



IV. Propósito del examen

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



V. Metodología

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y el método moderno de diagnóstico (sistema API 20 y medios cromogénicos). Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

V.1. Fase Preanalítica

PREPARACIÓN DEL PACIENTE

En las 48 horas previas a la realización del examen la paciente **NO DEBERÁ** mantener relaciones sexuales, ni realizarse irrigaciones o colocarse óvulos, cremas o cualquier otro tipo de medicación vaginal.

Informar a la paciente que no se aplique pomadas o espermaticidas por vía vaginal por lo menos la noche previa a la toma de muestra y que no esté menstruando.

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

CRITERIOS DE RECHAZO DE LA PACIENTE

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

IDENTIFICACIÓN

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

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL Y EQUIPO	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	REVELADORES PARA PRUEBAS BIOQUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata para el paciente ▪ Cubrebocas ▪ Guantes desechables ▪ Portaobjetos ▪ Cubreobjetos ▪ Cepillo cervical estéril ▪ Hisopo de algodón ▪ Espejo vaginal ▪ Gradilla ▪ Asa bacteriológica ▪ Mechero ▪ Mesa de exploración ginecológica ▪ Mesa de Mayo ▪ Lámpara de chicote ▪ Microscopio ▪ Estufa de incubación ▪ Papel indicador pH 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colorantes para tinción de Gram: ✓ Cristal violeta ✓ Lugol ✓ Alcohol-Cetona ✓ Safranina ▪ Aceite de inmersión ▪ Fijador ▪ Medio de transporte Stuart ▪ Solución salina isotónica 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Sabouraud o PDA ▪ Agar Harina de maíz ▪ Agar McConkey ▪ Agar Chocolate ▪ Agar Müeller Hinton 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Citrato de Simmon's ▪ Fenilalanina desaminasa ▪ LIA ▪ MIO ▪ SIM ▪ TSI ▪ Urea de Christensen ▪ Caldo nitrato con campana ▪ Caldo RM-VP ▪ O/F Hugh Leifson con/sin sello de nujol ▪ Rojo de fenol + CHO's 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cloruro férrico ▪ Alfa naftilamina ▪ Ácido sulfanílico ▪ Alfa naftol ▪ KOH 30% ▪ Prueba de la catalasa ▪ Prueba de la coagulasa ▪ Reactivo de Kovacs

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

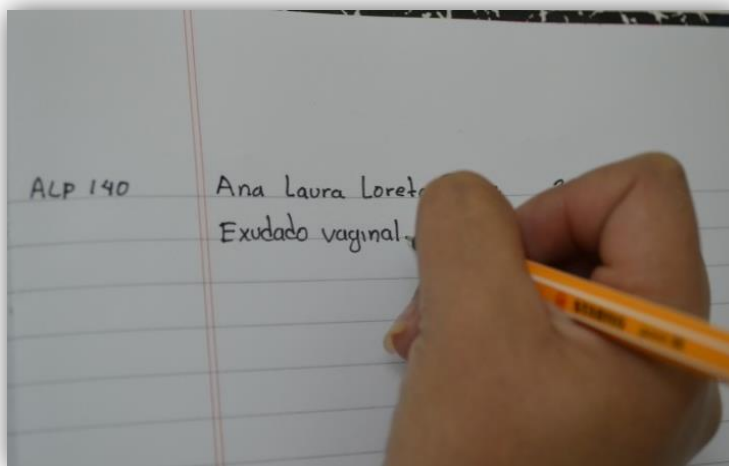
Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016



PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

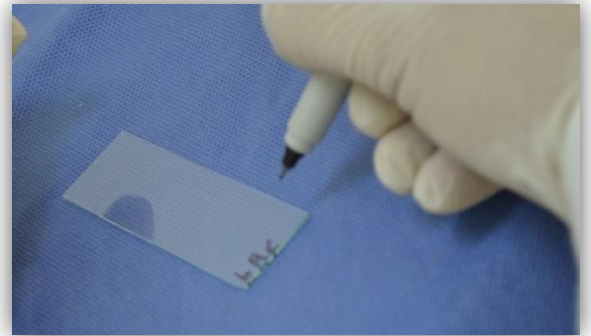
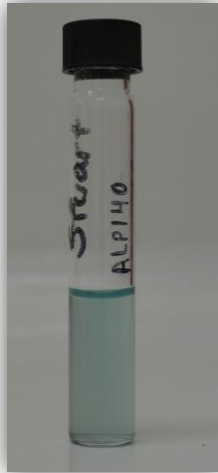


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



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



(A)



(B)

9) Iluminar con la lámpara y localizar la vagina.



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



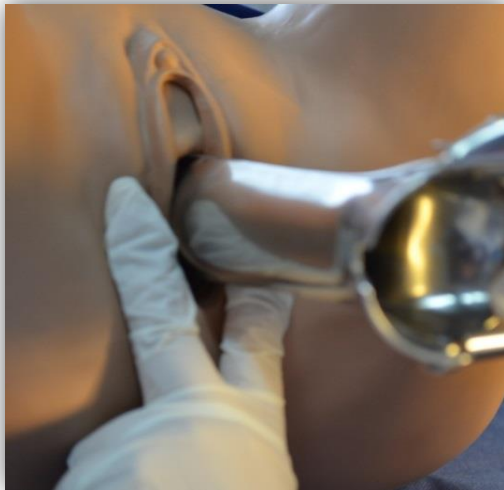


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

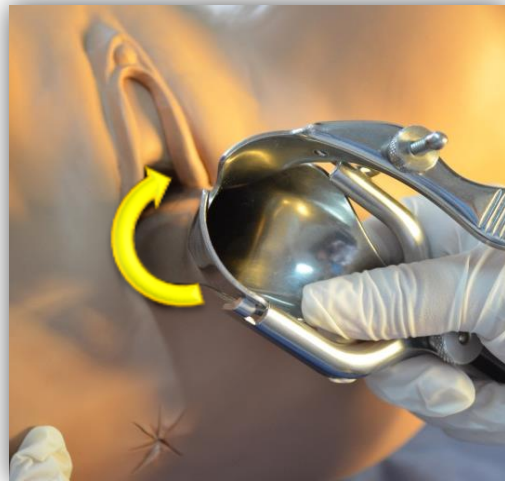
Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

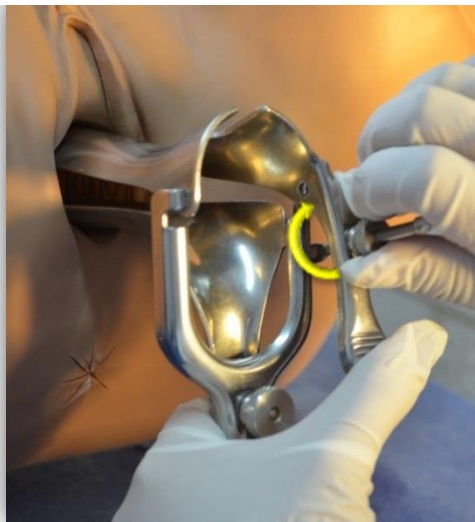
11) Con los dedos todavía en esa posición, introduzca el espéculo cerrado de forma vertical lentamente.



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



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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

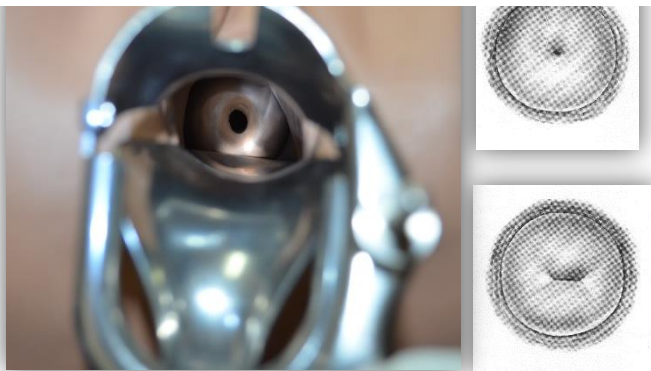


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

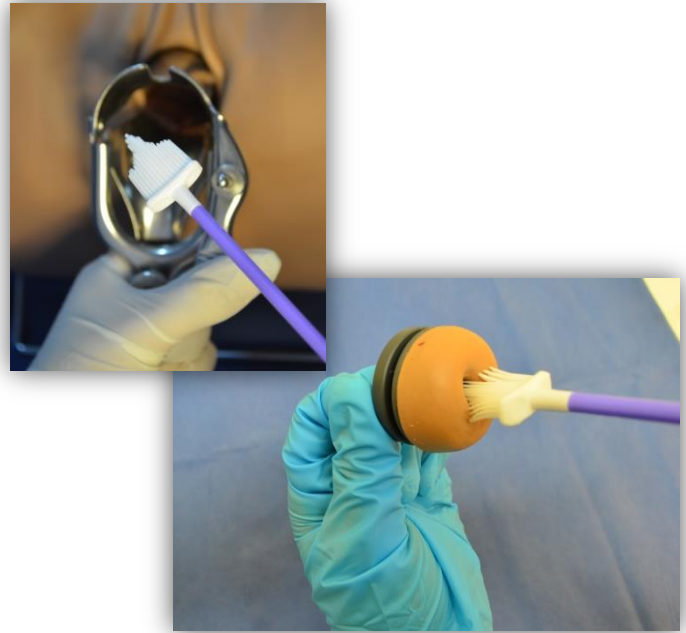
Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

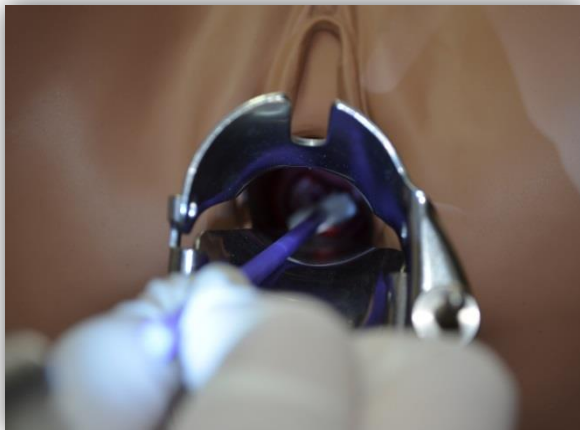
15) El orificio de la mujer nulípara es pequeño, redondeado u oval. El de la múltipara suele ser una hendidura horizontal o puede ser irregular y estrellado.



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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

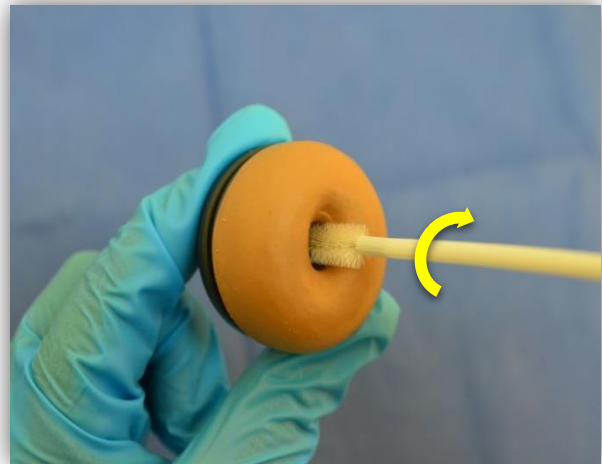
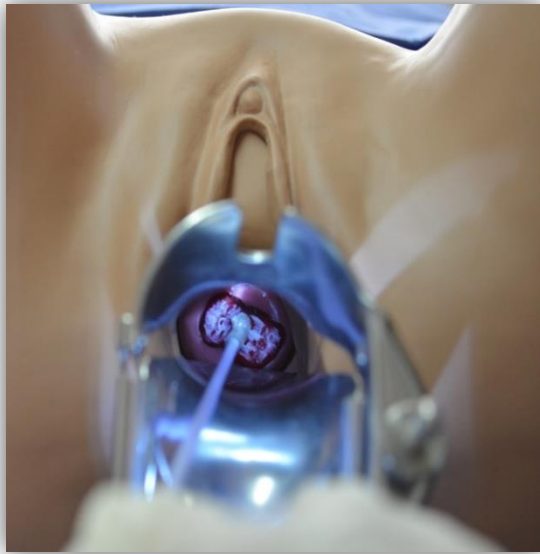


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

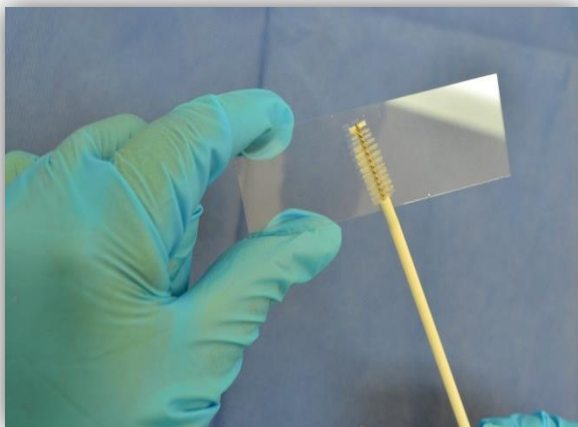
Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

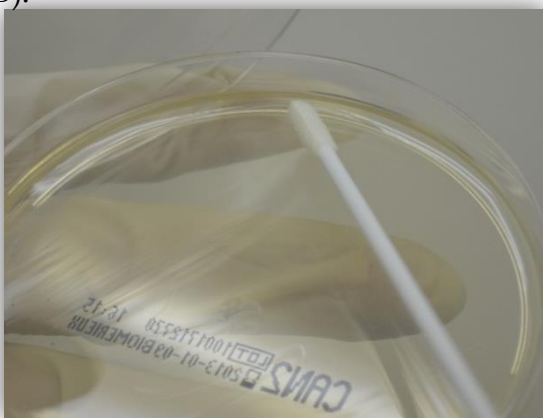
Fecha:30/09/2016

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

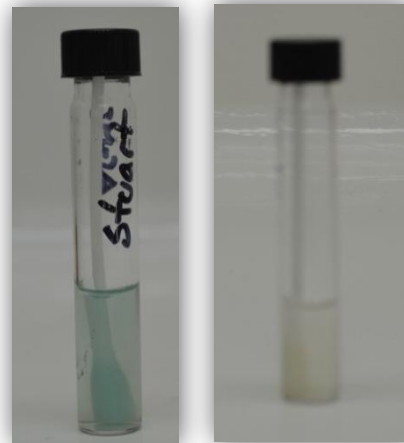


- 21) Sacar el hisopo y sembrar sobre los medios de agar, depositando la muestra suavemente sobre un extremo (A). Ya sea en solución isotónica previamente calentada a 37 °C o en medio de transporte específico, se corta el mando con la finalidad de cerrar el vial dejando el hisopo dentro (B).

(A)



(B)



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

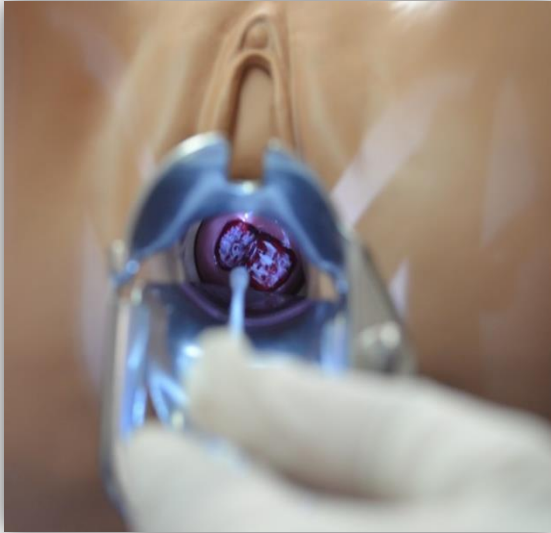
FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



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

(A)

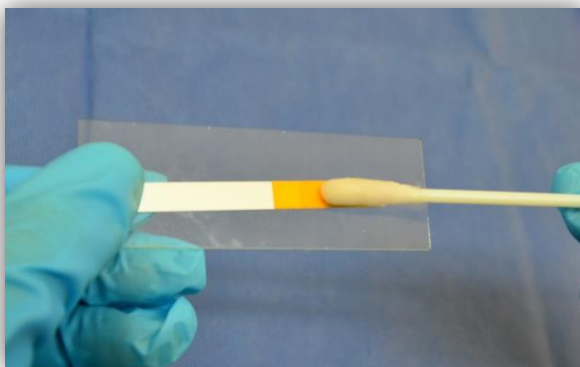


(B)



*Una extensión en portaobjetos es para tinción de Gram y Giemsa. La otra extensión para prueba de aminas con KOH 10%.

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





UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

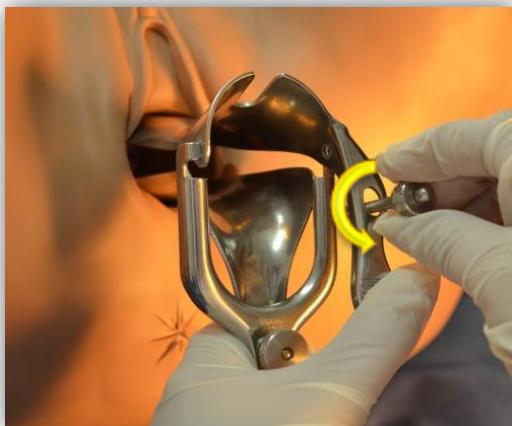
24) Para estudios de infección gonocócica y pruebas para detección de *Chlamydia*, se introduce un hisopo especial evitando el contacto con la mucosa vaginal, dentro del endocérvix, sin rotar, se mantiene ahí por 30 segundos.



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



26) Desbloquee el espéculo (A) y retírelo suavemente, rotándolo mientras lo retira, lo que permitirá inspeccionar las paredes vaginales (B).



(A)



(B)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



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

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

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

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



V.2. Fase Analítica

Tabla 1. Procedimiento de los métodos tradicional y moderno.

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

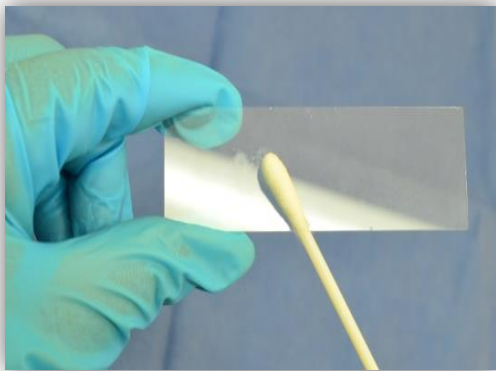
Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

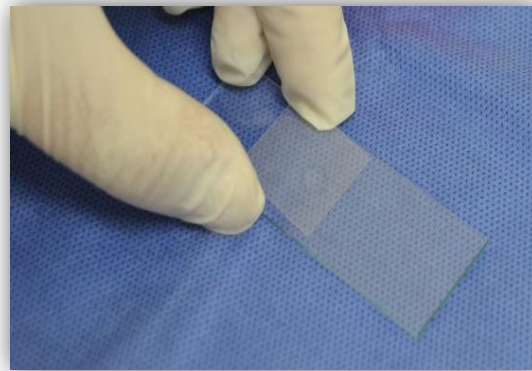


A. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO TRADICIONAL

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

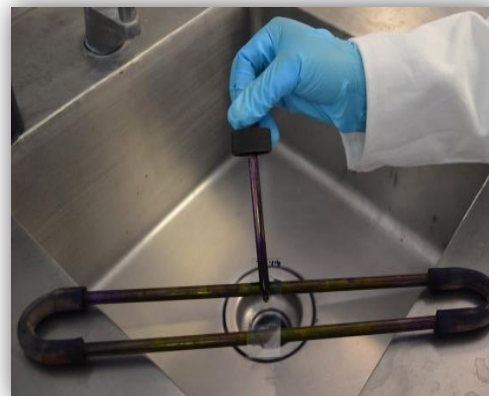


(A)



(B)

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





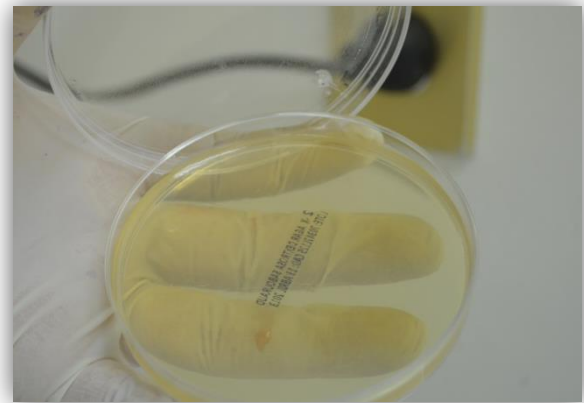
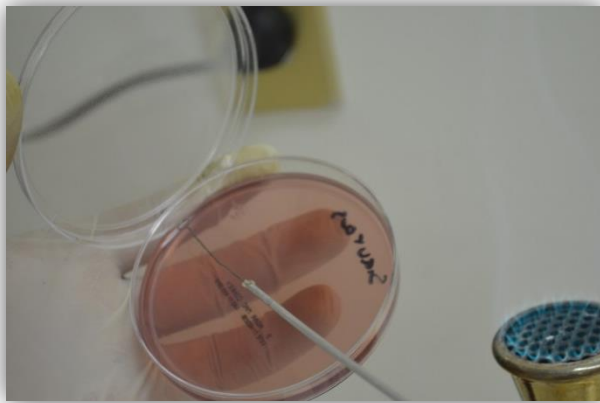
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

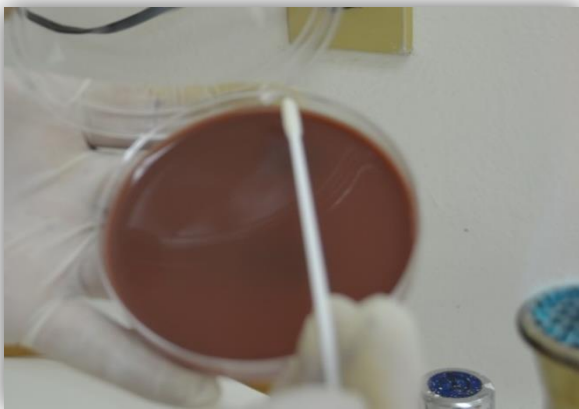
3) Realizar la siembra por aislamiento en los siguientes medios:

- Agar McConkey o EMB
- Agar Sabouraud o PDA



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

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

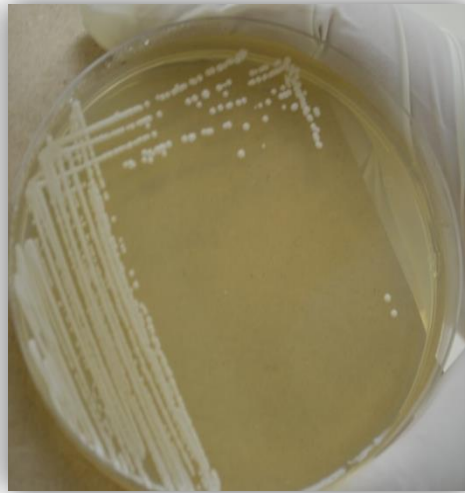


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

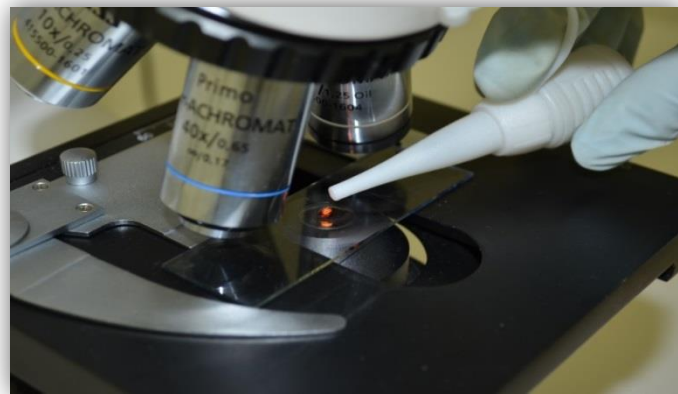
Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

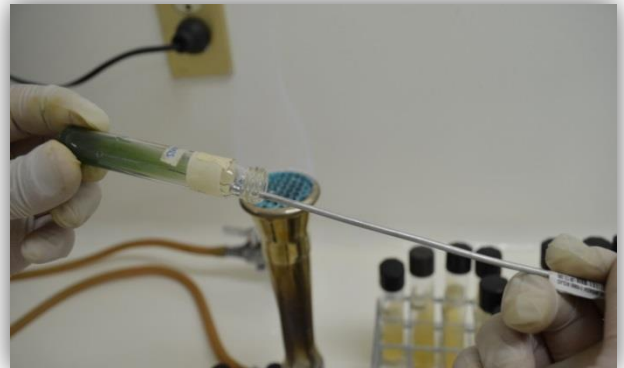
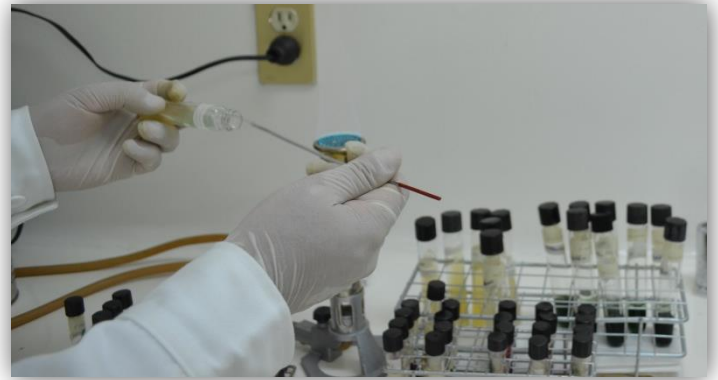


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



- 9) En las colonias aisladas en el Agar Sabouraud o PDA realizar la prueba de tubo germinal y clamidosporas. (ANEXO II)
- 10) Incubar a 37 °C de 18 a 24 hrs. Posteriormente reportar los resultados en los formatos para el método tradicional. (ANEXO III)
- 11) Realizar el antibiograma para bacterias grampositivas y gramnegativas. Reportar en el formato de susceptibilidad a los antibióticos. (ANEXO V)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



B. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO MODERNO

MEDIOS CROMOGÉNICOS

METODOLOGÍA

MATERIAL	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none">Asa bacteriológicaGuantesCubrebocas	<ul style="list-style-type: none">Crom CPS IDCrom Candida ID



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

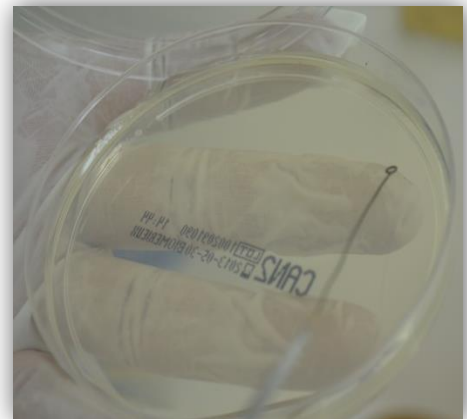
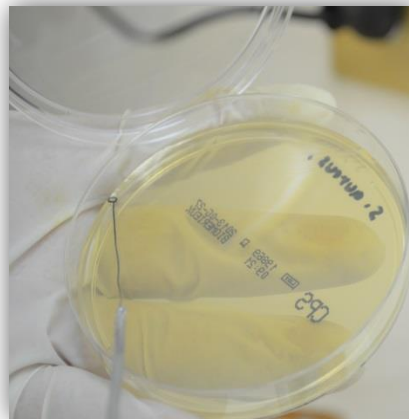


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



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



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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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

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



Crom CPS / *Escherichia coli*



Crom Candida / *Candida albicans*

SISTEMA API 20E

MATERIAL	REACTIVOS PARA REVELADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none"> Kit API 20 E Jeringa 1mL Pipeta Pasteur Guantes Cubre bocas 	<ul style="list-style-type: none"> FeCl₃ 10% (TDA) KOH al 40% (VP1) Naftol (VP2) Kovacs o dimetilamino-cinamaldehído o reactivo de James. Tetrafenilendiamina NIT 1 y NIT 2 Zn

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016



PREPARACIÓN DE LA TIRA

- 1) Prepare una caja de incubación (bandeja y tapa) y distribuir aproximadamente 5 ml de agua destilada o agua desmineralizada (o cualquier agua sin aditivos o productos químicos que puedan liberar gases como Cl_2 , CO_2 , etc.) en el panel de pocillos de la bandeja para crear una atmósfera húmeda.



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



4) Colocar la galería en la cámara de incubación.

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

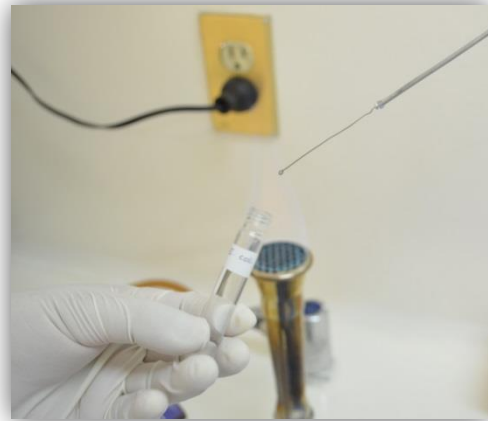
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



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



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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





UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



*CIT= utilización del citrato

*VP= producción de acetoina (Voges Proskauer)

*GEL= gelatinasa (gelatina)

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

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



*ADH= Arginina-dihidrolasa

*URE= Ureasa

*LDC =Lisina Decarboxilasa

* H₂S= Producción de H₂S

*ODC=Ornitina Decarboxilasa

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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

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



LECTURA E INTERPRETACIÓN

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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

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

TDA: añadir una gota de $FeCl_3$ 10% (una gota del reactivo TDA)
Positivo= color marrón oscuro



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

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

Negativo= color rosa débil después de los 10 minutos.



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs¹ o dimetilamino-cinamaldehído ². O reactivo de James ³ Dependiendo del reactivo utilizado pueden darse las posibilidades siguientes:

¹Positivo= aparece un anillo rosa-rojo.

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

³Positivo= rosa



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

Positivo= color azul que aparece inmediatamente.

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

Positivo (NO₂)= coloración roja

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

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



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

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

- ✓ Si la reacción es negativa en un pocillo se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva en el 1º pocillo se escribe 1, si es positiva en el 2º pocillo se escribe 2 y si es positiva en el 3º se escribe 4, obteniendo un triplete.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. (7,8,9)



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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



API 20C AUX

METODOLOGÍA

MATERIAL

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

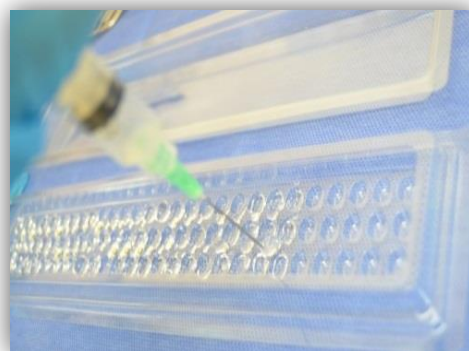
REACTIVOS

- Patrón 2 de MacFarland
- Ampolla API C Médium



PREPARACIÓN DE LA GALERÍA

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





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



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

PREPARACIÓN DEL INÓCULO.

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



6) Abrir una ampolla de API C Médiuim:

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



Ampolla y protector



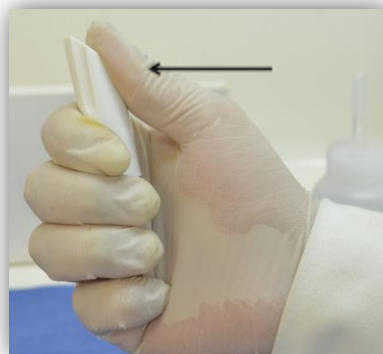
a)



b) y c)



d)



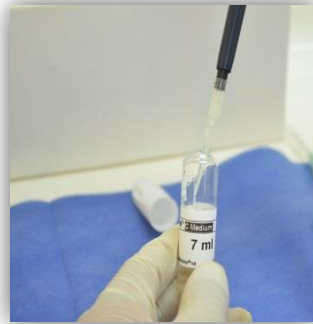
d)



e) y f)



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



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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



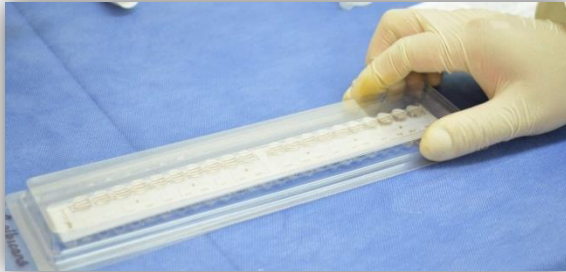


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

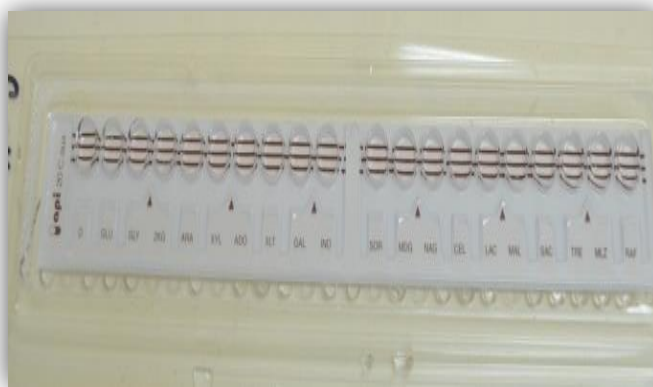
9) Volver a cerrar la cámara de incubación e incubar 48-72 horas (± 6 horas) a $29\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.



LECTURA DE LA GALERÍA

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

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

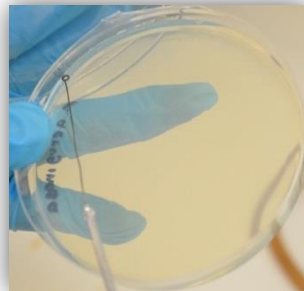


SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> Bata Asa bacteriológica Multidiscos Gram positivos y Gram negativos Guantes Cubre bocas Mechero 	<ul style="list-style-type: none"> Agar Müeller Hinton

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



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

V.3. Fase Postanalítica

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



VI. Referencias

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



ANEXO I. Elección del espéculo y su manejo.

TAMAÑO DEL ESPÉCULO.

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

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

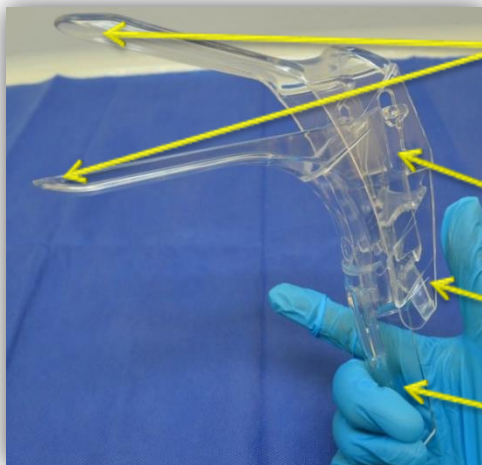
Mediano: se utiliza en mujeres de complejión mediana, un parto vaginal o por cesárea.

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

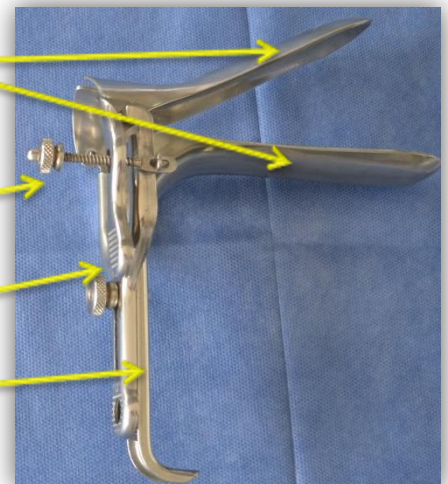
NOTA: verificar que el espéculo de plástico venga en su empaque bien cerrado para asegurar la esterilidad del producto, tenga fecha de caducidad y número de lote. Para el espéculo de metal, pedir a la persona que tomará la muestra, que muestre el empaque cerrado para asegurar la esterilidad del producto.



PARTES DEL ESPÉCULO



Valvas
Orificio guía del mango
Posicionador
Mango



Valvas
Ajustador de apertura
Posicionador
Mango

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

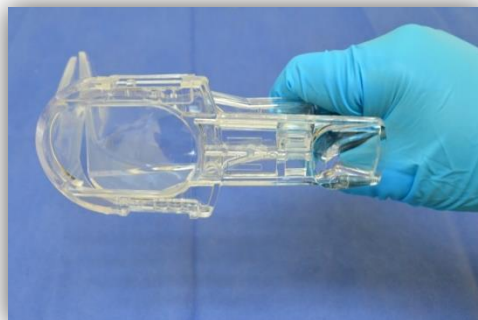


MANEJO DEL ESPÉCULO DE PLÁSTICO.

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



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



- 3) Proceda a introducir el espejo hasta percibir una ligera resistencia. No abrir el espejo durante su introducción.



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

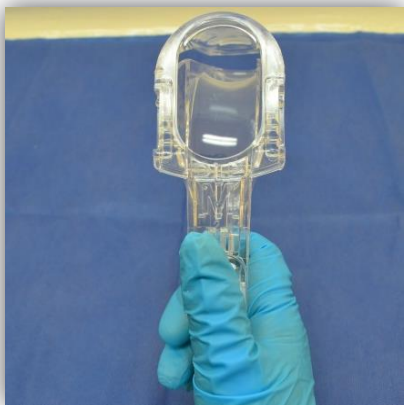
Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

- 4) Una vez introducido, gire el mango con cuidado hasta que el mango quede en posición vertical y hacia abajo.



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

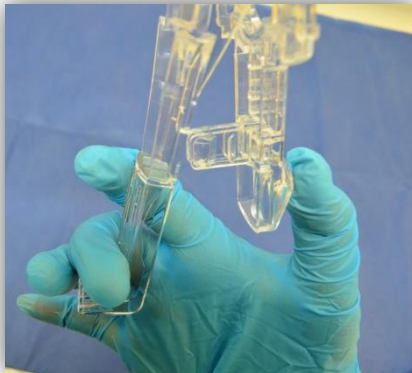


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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



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



- 8) Efectúe el examen y/o toma de muestra.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

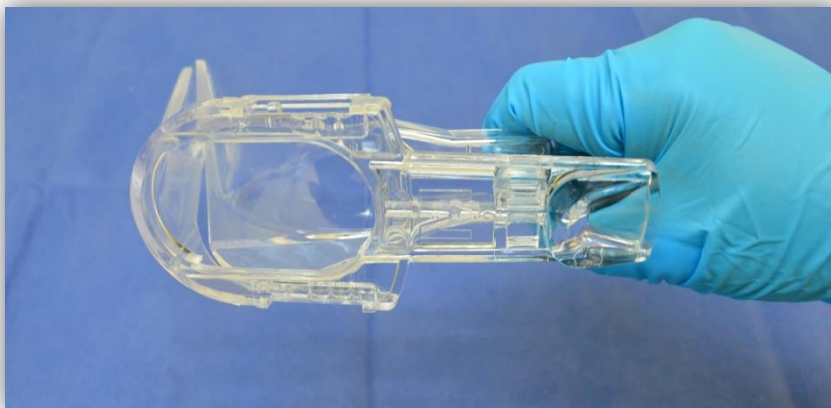
Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

- 9) Una vez finalizado el procedimiento, coloque el dedo pulgar por arriba del posicionador, deslizando en forma descendente, hasta que el espejo se cierre completamente, es decir, que las valvas vuelvan a estar juntas.



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



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

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba CervantesCruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



ANEXO II. Determinación de *Candida albicans*

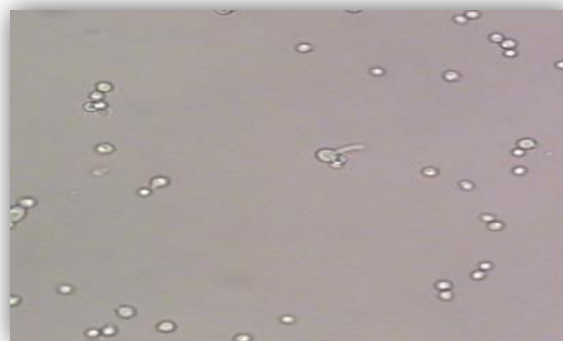
1. PRODUCCIÓN DE CLAMIDIOESPORAS.

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



2. PRODUCCIÓN DE TUBO GERMINAL.

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





ANEXO III. Formato de resultados método tradicional

TINCIÓN DE GRAM

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

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

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

PRUEBAS ESPECIALES (positivo o negativo)

CLAVE CEPA			
PRODUCCIÓN DE CLAMIDIOSPORAS			
PRODUCCIÓN DE TUBO GERMINAL			



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: 30/09/2016

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

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

² O = Oxidativo F = Fermentativo N = No utiliza el carbohidrato
³ A = Ácido C = Coágulo F = Fermentativo G = Gas P = Peptonización
 K = Alcalino R = Reducción

PRUEBAS ESPECIALES

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

ANEXO IV. Formato de resultados método moderno

MEDIO CROMOGÉNICO

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

¹ Características que dependen del medio de cultivo: halos.

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: 30/09/2016

TABLA DE RESULTADOS SISTEMA API 20

Sistema API 20 E

CEPA	O N P G	A D H C	L D C C	O D I T S	C I ₂ S E	H R D A	U D N D	T I P L	V P L	G E L	G L U N	M A N O R	I N O R	S H A C	R A C L	S E M Y	M R A	A X O ₂	O X ₂	N O ₂	Identificación	
1																						
2																						
3																						
4																						
5																						

Sistema API 20 Aux

CEPA	0	G L U	G L Y	2 K G	A R A	X Y L	A D O	X L O	G L O	I N O	S O R	M D G	N A G	C E L	L A C	M A L	S A C	T R E	M LZ	R A F	Identificación	
1																						
2																						
3																						

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: 30/09/2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 E

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANTIDAD (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
ONPG	2-nitro-fenil- β Dgalactopiranosida	0.223	β -galactosidasa (orto-nitrofenil- β Dgalactopiranosidasa)	Incoloro	Amarillo (1)
ADH	L-arginina	1.9	Arginina-dihidrolasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
LDC	L-lisina	1.9	Lisina Decarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
ODC	L-ornitina	1.9	Ornitina Decarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
CIT	Citrato trisódico	0.756	Utilización del Citrato	Verde pálido/amarillo	Azul-verde/azul (3)
H2S	Tiosulfato sódico	0.075	Producción de H ₂ S	Incoloro/grisáceo	Depósito negro/fin liserado
URE	Urea	0.76	Ureasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
TDA	L-triptófano	0.38	Tryptófano Desaminasa	<u>TDA/ inmediato</u>	
				Amarillo	Marrón-rojizo
IND	L-triptófano	1.9	Producción de Índol	<u>James/ inmediato</u>	
				Incoloro Verde pálido/amarillo	Rosa
VP	Piruvato sódico	1.9	Producción de acetoína (Voges Proskauer)	VP1 + VP2/10 min	
				Incoloro/rosa pálido	Rosa/rojo (5)
GEL	Gelatina (origen bovino)	0.6	Gelatinasa (Gelatina)	No difusión	Difusión pigmento negro
GLU	D-glucosa	1.9	Fermentación/oxidación (Glucosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo/amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	1.9	Fermentación/oxidación (Manitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
INO	Inositol	1.9	Fermentación/oxidación (Inositol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentación/oxidación (Sorbitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1.9	Fermentación/oxidación (Rhamnosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1.9	Fermentación/oxidación (sacarosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1.9	Fermentación/oxidación (Melibiosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación/oxidación (Amygdalina) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1.9	Fermentación/oxidación (Arabinosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 58 de 62

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

Inicio



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha: 30/09/2016

ANEXO V. Sensibilidad a antibióticos

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm

ANTIBIÓTICO	CONCENTRACIÓN	R (≤ 0)	I	MS	S (≥ 0)
AMIKACINA	30 μ g	14	15 - 16		17
AMPICILINA	10 μ g				
ENTEROBACTERIACEAE		11	12 - 13		14
STAPHYLOCOCCUS SPP		28			29
ENTEROCOCOS		16		(≥ 0)	
OTROS ESTREPTOCOCOS		21		22 - 29	30
CARBENICILINA	100 μ g				
ENTEROBACTERIACEAE		17	18 - 22		23
PSEUDOMONAS SPP		13	14 - 16		17
CEFALOTINA	30 μ g	14	15 - 17		18
CEFOTAXIMA	30 μ g	14		15 - 23	23
CEFTAZIDIMA	30 μ g	14	15 - 17		18
CEFTRIAXONA	30 μ g	13		14 - 20	21
CEFUROXIMA	30 μ g	14	15 - 17		18
CLORANFENICOL	30 μ g	12	13 - 17		18
DICLOXACILINA	1 μ g				
STAPHYLOCOCCUS SPP		10	11 - 12		13
PENICILINA VS NEUMOCOCOS		19			20
ENOXACINA	10 μ g	14	15 - 17		18
ERITROMICINA	15 μ g	13	14 - 17		18
GENTAMICINA	10 μ g	12	13 - 14		15
NETILMICINA	30 μ g	12	13 - 14		15
NITROFURANTOÍNA	300 μ g	14	15 - 16		17
PEFLOXACINA	5 μ g	14	15 - 22		23
PENICILINA	10 u				
STAPHYLOCOCCUS SPP		28			29
NEISSERIA GONORRHOEAE		19			20
ENTEROCOCOS		14		(≥ 0)15	
OTROS ESTREPTOCOCOS		19		20 - 27	28
TETRACICLINA	30 μ g	14	15 - 18		19
TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	25 μ g	10	11 - 15		16

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

FORMATO DE REPORTE DE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS (ANTIBIOGRAMA)

Clave cepa

R, I, S

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

R: Resistente
I: Intermedio
S: Sensible

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 61 de 62

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado vaginal

Fecha:30/09/2016

ANEXO VI. Formato de informe de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

FOLIO: _____ EDAD: _____ SEXO: (M) (F)

LOCALIDAD: _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE: _____

ESTUDIOS REALIZADOS

VALORES DE REFERENCIA

OBSERVACIONES

SELLO DEL LABORATORIO

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



ANEXO VII. Cuestionario

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 60

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

PRÁCTICA

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES BACTERIANAS DEL TRACTO GENITAL MEDIANTE EL EXUDADO URETRAL



ELABORADO POR:
Q.F.B. ANTONIO AVILÉS VILLADA
M. en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ
Q.F.B. GEORGINA BERMEJO TORRES

[Inicio](#)

Proyecto apoyado por PAPIME 209012

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	5
II. OBJETIVOS.....	7
III. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	7
IV. PROPÓSITO DEL EXAMEN	8
V. METODOLOGÍA.....	9
V.1. Fase Preanalítica	9
V.2. Fase Analítica.....	15
V.3. Fase Post analítica.....	48
VI. REFERENCIAS.....	49
ANEXO I. DETERMINACIÓN DE <i>CANDIDA ALBICANS</i>	50
ANEXO II. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO TRADICIONAL	51
ANEXO III. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO	53
ANEXO IV. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS.....	58
ANEXO V. FORMATO DE INFORME DE LABORATORIO	60
ANEXO VI. CUESTIONARIO	61



I. Introducción

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

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

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

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

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

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

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

Disuria significa dolor al orinar y es resultado directo de la infección y una inflamación de la uretra. Varía desde leve, sobretodo en la UNG, hasta extremadamente grave sobre todo en las infecciones gonocócicas. Cuando hay secreción uretral profusa, sobre todo en los varones, puede recolectarse en forma externa sin introducir dispositivo alguno para la toma de la muestra dentro de la uretra. Sin embargo, para la investigación de clamidias en los varones la muestra debe recolectarse con un hisopo uretral. Para detectar gonococos en los varones también se han utilizado con buenos resultados unas gotas de la primera parte de la orina emitida.



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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

Esta práctica tiene como apoyo el simulador uretral masculino el cual ayudará a identificar la zona y realizar una correcta toma de muestra, para posteriormente, aplicar la metodología tradicional y moderna de diagnóstico clínico tomando en cuenta las medidas de bioseguridad del laboratorio para poder obtener un resultado confiable. Para la metodología tradicional se utilizarán medios de cultivo tradicionales y pruebas bioquímicas. Para la metodología moderna se utilizarán medios cromogénicos y sistema API. Ambas prácticas tendrán como control de calidad cepas ATCC.

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

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

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

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

Cabe señalar que al final de la práctica se realizó un cuestionario que tiene por objetivo validar la utilidad de la misma, y con las opiniones de alumnos y profesores establecer un proceso de mejora continua de esta práctica.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



II. Objetivos

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

III. Medidas de bioseguridad ⁽³⁾

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

- Las puertas del laboratorio se mantendrán cerradas.
- No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan implicar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados.
- No se usará calzado abierto.
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- Estará estrictamente prohibido pipetear con la boca.
- No se colocará ningún material en la boca ni se pasará la lengua por las etiquetas.
- Todos los derrames, accidentes y exposiciones reales o potenciales a materiales infecciosos se comunicarán al supervisor del laboratorio.



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

- Los líquidos contaminados deberán descontaminarse (por medios químicos o físicos).
- El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso y al final de cada jornada de trabajo.

Manipulación de desechos:

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



IV. Propósito del examen

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



V. Metodología

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y el método moderno de diagnóstico (sistema API 20 y medios cromogénicos). Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

V.1. Fase Preanalítica

PREPARACIÓN DEL PACIENTE

Se le informa al paciente que no orine por lo menos una hora antes de la toma de muestra. En casos de un exudado mucopurulento abundante (probable gonorrea), tomar el exudado con el hisopo sembrar de inmediato en una placa de agar de Thayer Martin de no ser posible depositarlo en el medio de transporte de Stuart.

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

CRITERIOS DE RECHAZO PARA TOMAR LA MUESTRA

Que se haya aplicado pomadas en la uretra.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Los recipientes donde se va a tomar la muestra deben estar identificados. Etiquetar la muestra con los siguientes datos:
Nombre completo o iniciales empezando con el apellido, número de registro, fecha y tipo de muestra de que se trata.

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



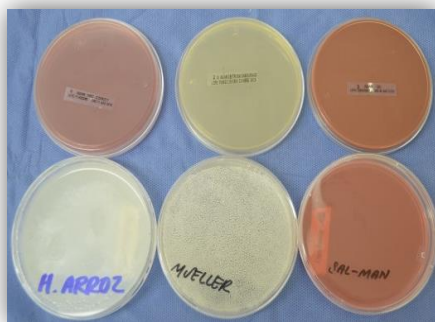
UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL Y EQUIPO	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	REVELADORES PARA PRUEBAS BIOQUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Asa bacteriológica ▪ Portaobjetos ▪ Cubreobjetos ▪ Guantes desechables ▪ Cubrebocas ▪ Mechero ▪ Hisopos de alginato o dacrón estériles ▪ Gasas estériles ▪ Lámpara ▪ Autoclave ▪ Microscopio 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colorantes para tinción de Gram: ✓ Cristal violeta ✓ Lugol ✓ Alcohol-Cetona ✓ Safranina ▪ Aceite de inmersión 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar Chocolate ▪ Agar Thayer-Martin ▪ Agar McConkey ▪ Agar PDA o Sabouraud ▪ Agar Müeller Hinton ▪ Medio de transporte Stuart 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Citrato de Simmon´s ▪ Fenilalanina desaminasa ▪ LIA ▪ MIO ▪ SIM ▪ TSI ▪ Urea de Christensen ▪ Caldo nitrato con campana ▪ Caldo RM-VP ▪ O/F Hugh Leifson con/sin sello de nujol ▪ Rojo de fenol + CHO's 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cloruro férrico ▪ Alfa naftilamina ▪ Ácido sulfanílico ▪ Alfa naftol ▪ KOH 30% ▪ Prueba de la catalasa ▪ Prueba de la coagulasa ▪ Reactivo de Kovacs



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

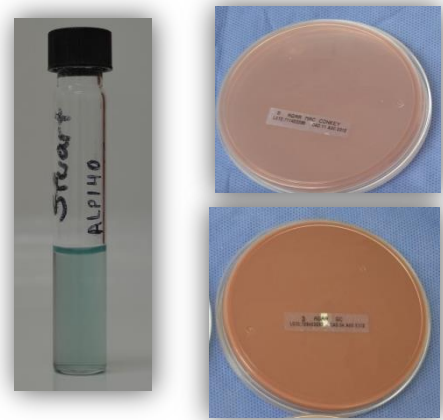


PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA

1 Realizar la identificación positiva del paciente.



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



3 Explicarle el procedimiento.



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

5

El paciente permanecerá de pie durante la toma de muestra.



6

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



7

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



8

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

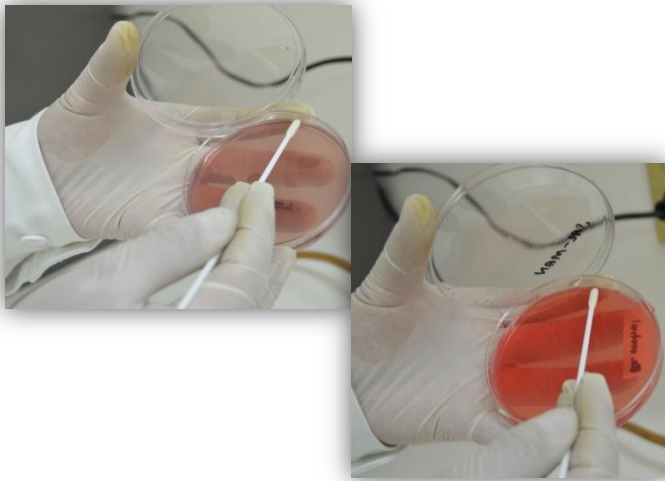


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

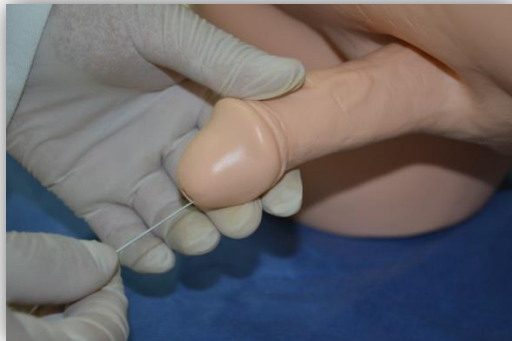
9 Inocular con el hisopo directamente en un extremo de cada uno de los medios de cultivo.



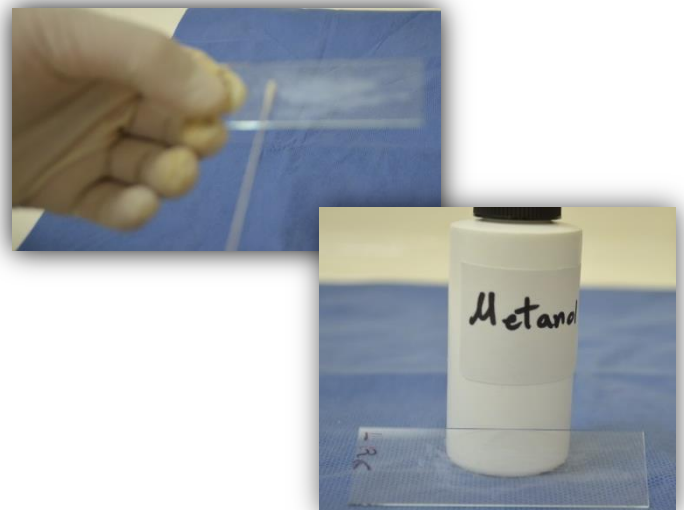
10 Introducir el hisopo de alginato de 2 a 4 cm dentro de la uretra, con movimientos rotatorios para facilitar la inserción.



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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

13

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



14

Avisar al paciente que se puede vestir y hemos terminado.



TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

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

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



OBSERVACIONES

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

V.2. Fase Analítica

Tabla 1. Procedimiento de los métodos tradicional y moderno.

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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

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

↓
Efectuar Antibiograma de bacterias patógenas encontradas y reportar.

- * API 20 E
- * API 20 C AUX

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



A. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO TRADICIONAL

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

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



Agar chocolate



Agar McConkey



Agar Sal y manitol

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





UNIDAD 5: Aparato genitourinario

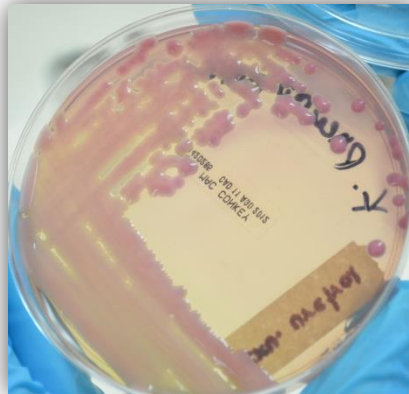
Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

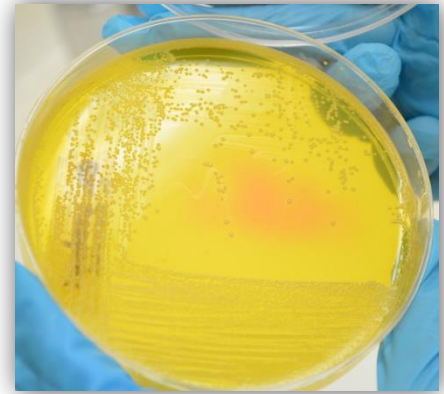
3) Observar las características morfológicas de cada uno de los medios inoculados.



Agar Chocolate / *Escherichia coli*



Agar McConkey / *Klebsiella pneumoniae*



Agar Sal y manitol / *Staphylococcus aureus*

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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



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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



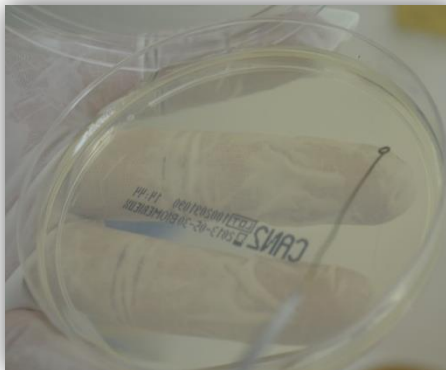
B. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO MODERNO

MEDIOS CROMOGENICOS METODOLOGÍA

MATERIAL	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> Asa bacteriológica Guantes Cubre bocas 	<ul style="list-style-type: none"> Crom Staph ID Crom CPS ID Crom Candida ID



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

- 2) Incubar las placas en atmósfera aerobia a $35 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 hrs en posición invertida. En caso de resultado negativo a las 24 hrs, incubar nuevamente durante 24 hrs más para registrar los resultados finales.

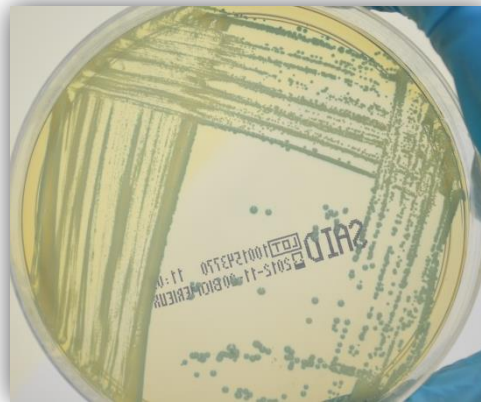


- 3) Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella, ya que la luz puede destruir los cromógenos.
- 4) Anotar el resultado correspondiente en el formato para medios cromogénicos y comparar con la literatura. (ANEXO III)

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



Crom CPS / *Escherichia coli*



Crom Stap / *Staphylococcus aureus*



Crom Candida / *Candida albicans*

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



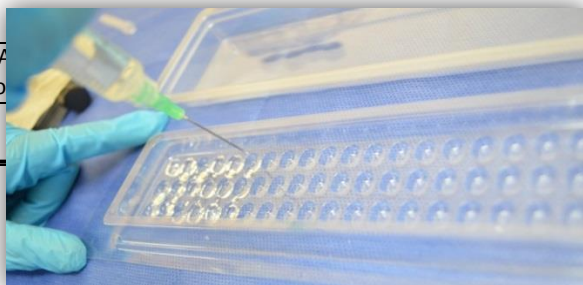
SISTEMA API20 STAPH

MATERIAL	REACTIVOS PARA REVELADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none">▪ Kit API Staph▪ Jeringa de 1ml estéril o pipeta▪ Pasteur estéril▪ Guantes▪ Cubrebocas	<ul style="list-style-type: none">▪ VP1▪ VP2▪ NIT1▪ NIT2▪ ZYM A▪ ZYM B



PREPARACIÓN DE LA TIRA

- 1) Prepare una caja de incubación (bandeja y tapa) y distribuir aproximadamente 5 ml de agua destilada o agua desmineralizada (o cualquier agua sin aditivos o productos químicos que puedan liberar gases como Cl_2 , CO_2 , etc.) en el panel de pocillos de la bandeja para crear una atmósfera húmeda.





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 23 de 60

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

Inicio

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

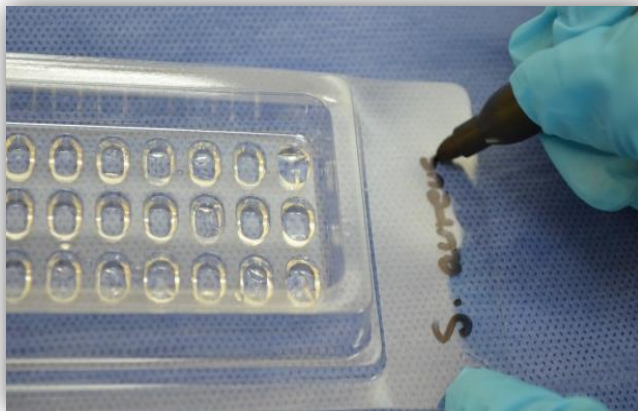


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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



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



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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



PREPARACIÓN DEL INÓCULO

5) Abrir una ampolla de API Staph Médium:

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



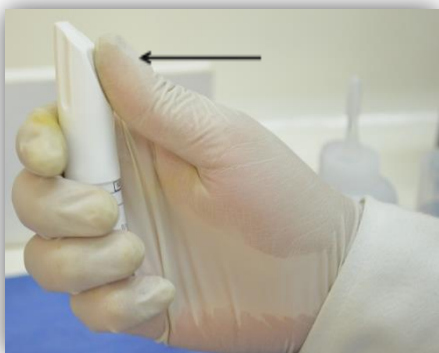
Ampolla y protector



a)



b) y c)



d)



d)



e) y f)

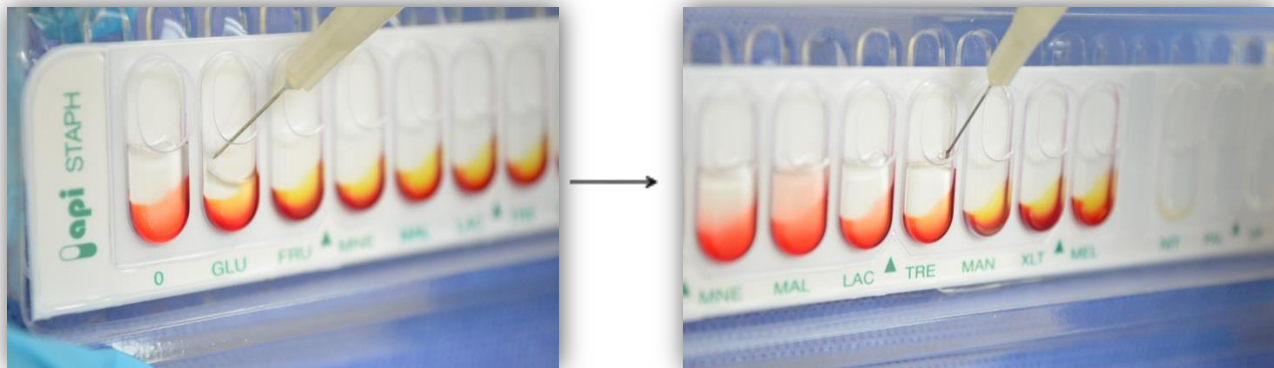


6) A partir de una colonia bien aislada del microorganismo, preparar una suspensión bacteriana homogénea con una turbidez equivalente a 0.5 McFarland. Se recomienda utilizar cultivos jóvenes (18-24 horas). Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación.



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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



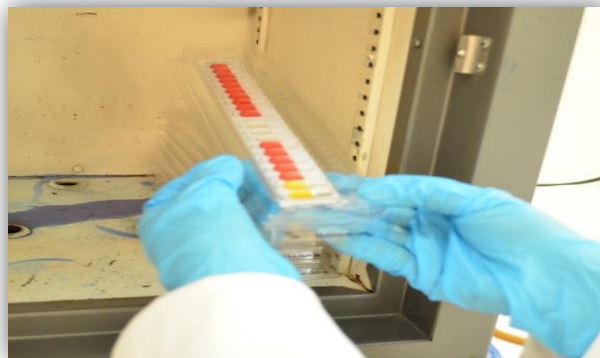
*ADH= Arginina dihidrolasa

*URE= Ureasa

- 9) Cerrar la cámara de incubación.



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



LECTURA DE LA GALERÍA

11) Tras la incubación se anotan los resultados inmediatos, es decir, los que no requieren ser revelados.

La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con las tablas de lectura que proporciona el proveedor, y anotando el resultado como positivo o negativo. (ANEXO III)

12) Después del periodo de incubación, el desarrollo de las reacciones se dará por la adición de 1 gota de cada uno de los siguientes reactivos y a continuación se interpretan todas las reacciones conforme a la tabla de identificación:

Prueba VP: Reactivos VP 1 y VP 2:

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

Un color rosa pálido o rosa claro obtenido después de 10 minutos debe ser considerado como nvegativo.





UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

Prueba NIT: Reactivos NIT 1 y NIT 2.

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



Prueba PAL: Reactivos ZYM A y ZYMB (*).

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

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



DETERMINACIÓN DEL PERFIL NUMÉRICO E IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO

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

- ✓ Si la reacción es negativa en un pocillo se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva en el 1º pocillo se pone 1, si es positivo en el 2º se pone 2 y si es positivo en el 3º se pone 4, obteniendo un triplete.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. (9.11.12)





UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016



O GLU FRU



MNE MAL LAC



TRE MAN XLT



MEL NIT PAL



VP RAF XYL



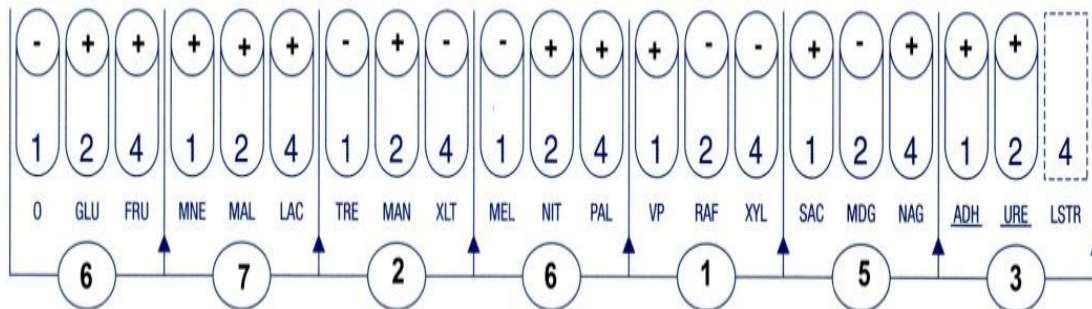
SAC MDG NAG



ADH URE LSTR

PERFIL NUMÉRICO DE 7 CIFRAS: 6726153

IDENTIFICACIÓN:



14) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato para API 20 Staph. (ANEXO III)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



API 20E

MATERIAL	REACTIVOS PARA REVELADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none"> Kit API 20 E Jeringa 1ml Pipeta Pasteur Guantes Cubrebocas 	<ul style="list-style-type: none"> FeCl₃ 10% (TDA) KOH al 40% (VP1) Naftol (VP2) Kovacs o dimetilamino-cinamaldehído o reactivo de James. Tetrafenilendiamina NIT 1 y NIT 2 Zn



PREPARACIÓN DE LA TIRA

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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



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



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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

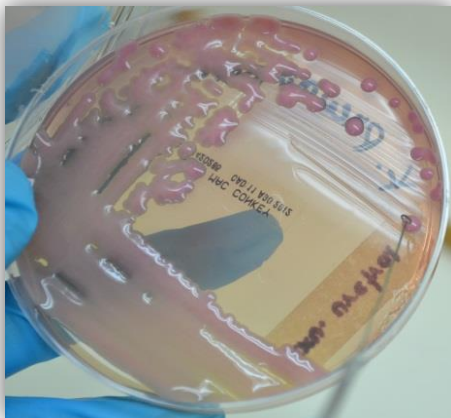


PREPARACIÓN DEL INÓCULO

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



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





INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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



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



*CIT= utilización del citrato

*VP= producción de acetoina (Voges Proskauer)

*GEL= gelatinasa (gelatina)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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



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



- *ADH= Arginina-dihidrolasa
- *URE= Ureasa
- *LDC =Lisina Decarboxilasa
- * H₂S= Producción de H₂S
- *ODC=Ornitina Decarboxilasa

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



LECTURA E INTERPRETACIÓN

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



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

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

TDA: añadir una gota de FeCl_3 10% (una gota del reactivo TDA)
Positivo= color marrón oscuro



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

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

Negativo= color rosa débil después de los 10 min.



IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs¹ o dimetilamino-cinamaldehído². O reactivo de James³. Dependiendo del reactivo utilizado pueden darse las posibilidades siguientes:

¹Positivo= aparece un anillo rosa-rojo.

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

³Positivo= rosa



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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

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

Positivo (NO₂)= coloración roja



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

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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

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

- ✓ Si la reacción es negativa en un pocillo se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva en el 1º pocillo se escribe 1, si es positiva en el 2º pocillo se escribe 2 y si es positiva en el 3º se escribe 4, obteniendo un triplete.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. (7,8,9)



16) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato. (ANEXO III)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016



ONP GADH LDC



ODC CIT H2S



URE TDA IND



VP GEL GLU



MAN INO SOR



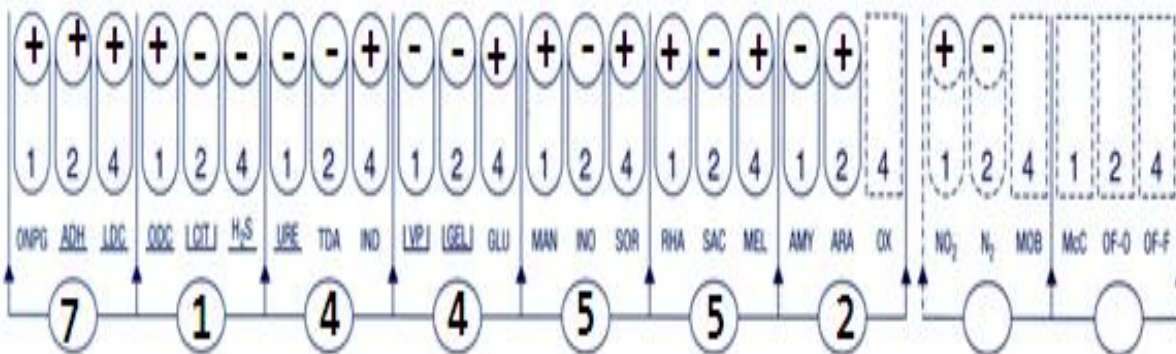
RHA SAC MEL



AMY ARA OX NO2 N2

PERFIL NUMÉRICO DE 7 CIFRAS: 7144552

IDENTIFICACIÓN:



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



API 20C AUX

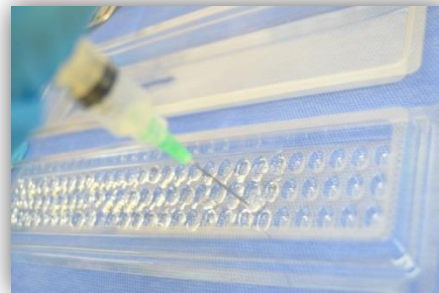
METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none"> Kit API 20C AUX Micropipeta de 100µl Solución fisiológica de NaCl al 0.85% Guantes Cubrebocas 	<ul style="list-style-type: none"> Patrón 2 de MacFarland Ampolla API C Médium



PREPARACIÓN DE LA GALERÍA

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

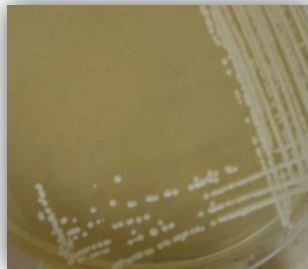
3) Retirar la galería de su envase individual y depositarla en la cámara de incubación.

PREPARACIÓN DEL INÓCULO.

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



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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



6) Abrir una ampolla de API C Médiuim:

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



Ampolla y protector



a)



b) y c)



d)



d)



e) y f)

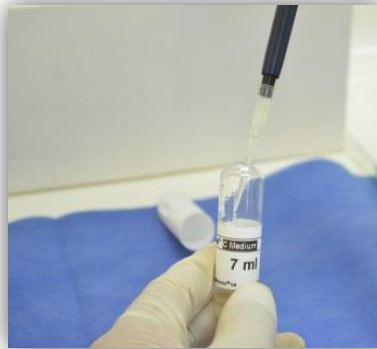


UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

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



LECTURA DE LA GALERÍA

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

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

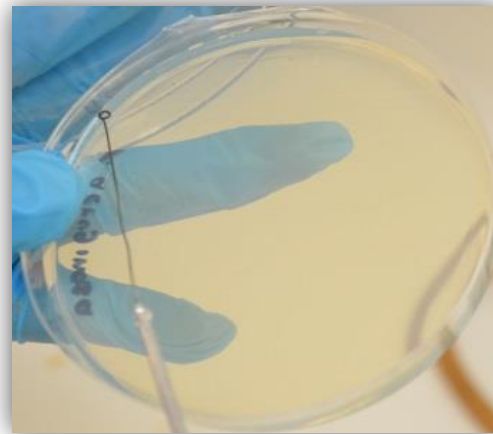


SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none">▪ Bata▪ Asa bacteriológica▪ Multidiscos Gram positivos y Gram negativos▪ Guantes▪ Cubrebocas▪ Mechero	<ul style="list-style-type: none">▪ Agar Müller Hinton

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



Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

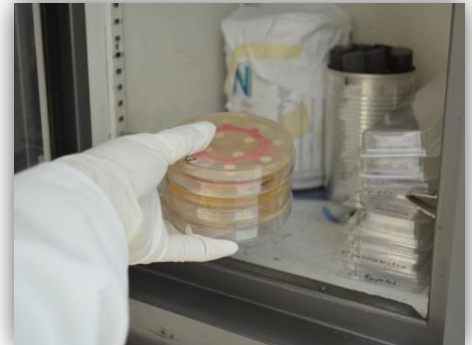
FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



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



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



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

V.3. Fase Postanalítica

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



VI. Referencias

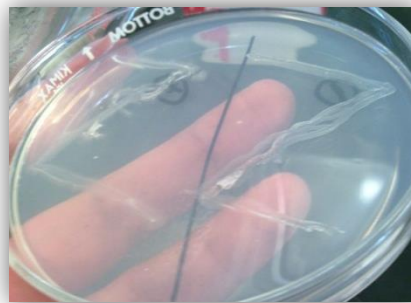
1. Forbes B. Diagnostico Microbiológico Bailey y Scott. 12º Edición. Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2009.
2. Spicer. J. Clínica y Enfermedades Infecciosas. 2º Edición. España: ELSEVIER; 2009
3. OMS. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3º Edición. Ginebra: 2005.
4. Lloret A. Canós M.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



ANEXO I. Determinación de *Candida albicans*

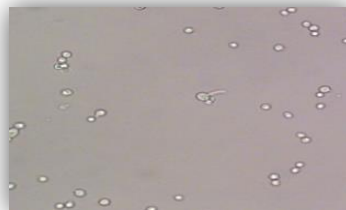
1. PRODUCCIÓN DE CLAMIDIOESPORAS.

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



2. PRODUCCIÓN DE TUBO GERMINAL.

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





ANEXO II. Formato de resultados método tradicional

TINCIÓN DE GRAM

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

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

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

PRUEBAS ESPECIALES (positivo o negativo)

CLAVE CEPA			
PRODUCCIÓN DE CLAMIDIOSPORAS			
PRODUCCIÓN DE TUBO GERMINAL			



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: 30/09/2016

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

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

² O = Oxidativo

F = Fermentativo

N = No utiliza el carbohidrato

³ A = Ácido

C = Coágulo

F = Fermentativo

G = Gas

P = Peptonización

K = Alcalino

R = Reducción

PRUEBAS ESPECIALES

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



ANEXO III. Formato de resultados método moderno

MEDIO CROMOGENICO

MORFOLOGÍA COLONIAL

CLAVE CEP A				
MEDIO CROMOGENICO				
TAMAÑO				
FORMA				
BORDE				
COLOR				
SUPERFICIE				
LUZ REFLEJADA				
LUZ TRANSMITIDA				
CRECIMIENTO				
OTRAS ¹				

¹ Características que dependen del medio de cultivo: halos.

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA

CLAVE CEP A				
MEDIO CROMOGENICO				
M.O(S) IDENTIFICADO(S)				

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: 30/09/2016

TABLA DE RESULTADOS SISTEMA API 20

SISTEMA API 20 STAPH

CEPA	0	G L U	F R U	M N E	M A L C	T R A C	M A N	X L T	M E L	N I T	P A L	V P	R A F	X Y L	S A C	M D G	N A G	A D H	U R E	-	Identificación	
1																						
2																						
3																						
4																						
5																						

SISTEMA API 20 E

CEPA	O N P G	A D H	L D C	O D C	C I T	H 2 S	U R E	T D A	I N D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A	O X	N O 2	N 2	Identificación	
1																									
2																									
3																									
4																									
5																									

Sistema API 20 AUX

CEPA	0	G L U	G L Y	2 K G	A R A	X Y L	A D O	X L T	G L	I N O	S O R	M D G	N A G	C E L	L A C	M A L	S A C	T R E	M L Z	R A F	Identificación	
1																						
2																						
3																						

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha: 30/09/2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 STAPH

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT. (mg/cúp.)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
0	Sin sustrato		Testigo negativo	Rojo	-----
GLU	D-glucosa	1.56	(testigo positivo) (D-glucosa)	Rojo *	Amarillo
FRU	D-fructosa	1.4	Acidificación (D-fructosa)		
MNE	D-manosa	1.4	Acidificación (D-manosa)		
MAL	D-maltosa	1.4	Acidificación (D-maltosa)		
LAC	D-lactosa (origen bovino)	1.4	Acidificación (D-lactosa)		
TRE	D-trehalosa	1.32	Acidificación (D-trehalosa)		
MAN	D-manitol	1.36	Acidificación (D-manitol)		
XLT	Xilitol	1.4	Acidificación (D-xilitol)		
MEL	D-melibiosa	1.32	Acidificación (D-melibiosa)		
NIT	Nitrato de potasio	0.08	Reducción de nitratos a nitritos	<u>NIT+NIT2/10 min</u>	
				Incoloro-rosa claro	Rojo
PAL	B-nafti fosfato	0.0244	Fosfatasa alcalina	<u>ZYM A+ ZYM B/10 min</u>	
				Amarillo	Violeta
VP	Pirivato de sodio	1.904	Producción de acetil-metil-carbinol (voges proskauer)	<u>VP 1+ VP2/10 min</u>	
				Incoloro-rosa claro	Violeta-rosáceo
RAF	D-rafinosa	1.56	Acidificación (rafinosa)	Rojo	Amarillo
XYL	D-xilosa	1.4	Acidificación (xylosa)		
SAC	D-sacarosa (sucrosa)	1.32	Acidificación (sacarosa)		
MDG	metil- α D- glucopiranosida	1.28	Acidificación (metil- α D- glucopiranosida)		
NAG	N-acetil- glucosamina	1.28	Acidificación (N-acetil-glucosamina)		
ADH	L-arginina	1.904	Arginina dihidrolasa	Amarillo	Naranja-rojo
URE	Urea	0.76	Ureasa	Amarillo	Rojo-violeta

Los ensayos de acidificación deberían compararse con los testigos negativo (0) y positivo (GLU).

* Cuando MNE y XLT van precedidos o seguidos por ensayos positivos, la prueba naranja debería considerarse negativa.

Las cantidades indicadas pueden ser ajustadas en función de los títulos de las materias primas.

Ciertas cúpulas contienen componentes de origen animal, especialmente peptonas. (7)

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 E

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

SAC	D-sacarosa	1,9	Fermentación/oxidación (sacarosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1,9	Fermentación/oxidación (Melibiosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación/oxidación (Amygdalina) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
ARA	L-arabinosa	1,9	Fermentación/oxidación (Arabinosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

ANEXO IV. Sensibilidad a antibióticos

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

FORMATO DE REPORTE DE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS (ANTIBIOGRAMA)

Clave cepa _____

R, I, S

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

R: Resistente
I: Intermedio
S: Sensible

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 60 de 60

UNIDAD 5: Aparato genitourinario

Práctica: Exudado uretral

Fecha:30/09/2016

ANEXO V. Formato de informe de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

FOLIO: _____ EDAD: _____ SEXO: (M) (F)

LOCALIDAD: _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE: _____

ESTUDIOS REALIZADOS

VALORES DE REFERENCIA

OBSERVACIONES

SELLO DEL LABORATORIO

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



ANEXO VI. Cuestionario

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

Elaboró: Q.F.B. Antonio Avilés Villada
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 73

UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha: 30/09/2016

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

PRÁCTICA DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES BACTERIANAS DEL SISTEMA CIRCULATORIO MEDIANTE EL HEMOCULTIVO



ELABORADO POR:

Q.F.B. ANA LAURA LORETO PÉREZ

M. en C. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Q.F.B. MANUEL ORDUÑA SÁNCHEZ

Proyecto apoyado por PAPIME 209012

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

Inicio



ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	6
II. OBJETIVOS.....	10
III. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	10
IV. PROPÓSITO DEL EXAMEN	12
V. METODOLOGÍA.....	13
V.1. Fase Preanalítica.....	13
V.2. Fase Analítica.....	22
V.3. Fase Postanalítica	59
VI. REFERENCIAS	60
ANEXO I. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO TRADICIONAL.....	61
ANEXO II. FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO.....	62
ANEXO III. SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS.....	68
ANEXO IV. FORMATO DE INFORME DE LABORATORIO.....	70
ANEXO V. PRINCIPIO DEL MÉTODO MODERNO DE DIAGNÓSTICO: API 20 Y MEDIOS CROMOGÉNICOS	71
ANEXO VI. CUESTIONARIO	74



I. Introducción

El sistema circulatorio también llamado sistema cardiovascular transporta fluidos a través del cuerpo; está formado por los sistemas cardiovascular y linfático. El corazón y los vasos sanguíneos configuran la red de transporte de sangre y forman el sistema cardiovascular. A través de este sistema, el corazón bombea la sangre a través del vasto sistema de vasos sanguíneos. Los vasos sanguíneos son las arterias, los capilares y las venas. La sangre transporta nutrientes, oxígeno y productos de desecho de las células. ⁽¹⁾

El sistema cardiovascular transporta la sangre desde el corazón a los tejidos y desde estos al corazón. El sistema linfático tiene dos funciones: recoge el fluido perdido de la sangre, retornándolo a través de los vasos linfáticos al torrente circulatorio y colabora en la lucha contra las infecciones microbianas.

De forma ocasional los microorganismos infectan la superficie endotelial de un componente específico del aparato cardiovascular. Estas infecciones intravasculares se denominan **endarteritis** cuando afectan una arteria, **endocarditis** cuando afectan un sitio endotelial en el corazón y **flebitis** si se localiza en la luz de una vena. ⁽²⁾

Las dos categorías principales de infecciones del torrente sanguíneo son las intravasculares (que se originan dentro del sistema cardiovascular) y las extravasculares (que resultan de la entrada de bacterias en la circulación a través del sistema linfático, provenientes de otro sitio de infección).

Los factores que contribuyen con la iniciación de infecciones del torrente sanguíneo son los agentes inmunosupresores, el uso prolongado de antibióticos de amplio espectro que suprime la flora normal y permiten la aparición de cepas de bacterias resistentes, los procedimientos invasivos que permiten el acceso de las bacterias en el interior del huésped, los procedimientos quirúrgicos extensos y la supervivencia prolongada de pacientes debilitados y con enfermedades graves.

La septicemia es un síndrome clínico caracterizado por fiebre, temblores, taquicardia, hiperventilación y toxicidad o postración, que se produce cuando una bacteria circulante se multiplica a una tasa que excede la remoción por fagocitos.



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

La bacteriemia o la fungemia se caracterizan por la presencia de microorganismos vivos en la sangre, según se demuestra por un hemocultivo positivo. Estos dos términos no describen el estado clínico, que varía desde asintomático hasta una enfermedad leve o grave. ^(3, 4)

La bacteriemia o bacteremia se puede definir como:

- ❖ **Transitoria** (un único episodio con una duración inferior a 20 minutos).
- ❖ **Intermitente:** implica la manipulación de una zona extravascular, como un absceso por *S. aureus*, en la que las bacterias se introducen en los vasos linfáticos en diferentes momentos y, desde este punto, alcanzan la sangre.
- ❖ **Continua:** implica un origen intravascular, se presenta en casos en que microorganismos tienen acceso directo al torrente sanguíneo y la endocarditis constituye el ejemplo más importante, seguido de fístulas arteriovenosas infectadas, catéteres intraarteriales, cánulas permanentes.

Las bacteriemias y fungemias se diagnostican por hemocultivo, que consiste en el cultivo de una muestra de sangre en medios adecuados para recuperar las bacterias y los hongos adecuados que son capaces de crecer en medios artificiales. ⁽⁵⁾

Los hemocultivos se pueden clasificar según el tipo de paciente, pues los microorganismos son distintos en pacientes inmunosuprimidos o inmunocompetentes, adultos o pediátricos, que estén o no bajo terapia antibiótica; según la toma de la muestra, pueden ser clasificados en hemocultivos periféricos o centrales (obtenidos a través de un catéter venoso central).

También pueden clasificarse según el tipo de microorganismos que se esté investigando, ya que se requieren distintos sistemas de hemocultivos si se sospechan bacterias aeróbicas, anaeróbicas, fastidiosas, micobacterias, hongos o virus. Por último, se pueden clasificar según la metodología de los distintos sistemas de hemocultivos en métodos convencionales (manuales), en sistemas semiautomatizados (lisis-centrifugación) o en sistemas automatizados (BACTEC, BacT/Alert, Septichek, etcétera).

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

Sistemas de hemocultivos. Diferentes métodos tienen distintos rendimientos en cuanto a sensibilidad y rapidez en la detección de las bacterias en el torrente sanguíneo. En general existen 3 tipos de sistemas de hemocultivos:

- ❖ Manuales o convencionales
- ❖ Semiautomatizados: lisis-centrifugación.
- ❖ Automatizados

Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

Fase preanalítica: es importante, y de ella depende en gran medida el resultado final. Aquí se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma. Se indica las propiedades de los reactivos que serán empleados, y en este caso la correcta manipulación de las cepas ATCC, más representativas a utilizar para cada módulo.

Fase analítica: se describen los métodos de laboratorio empleados en esta área, los cuales son explicados de manera clara, precisa y sencilla para ser llevados a cabo por el personal del área que lo consulte y lograr la correcta ejecución de las pruebas ya que en esta etapa se exigen técnicas estandarizadas, equipos adecuados bien calibrados y reactivos. El control de estos sistemas se establece, y se describen las especificaciones y características de los instrumentos, sus normas de funcionamiento, calibración, o bien se hace referencia al manual de instrucciones del fabricante. Se explica ampliamente como realizar un examen directo para poder efectuar una interpretación, de igual manera se explican las propiedades de los medios cultivos selectivos, diferenciales, de transporte, medios de enriquecimiento y pruebas bioquímicas y especiales. También se explica los métodos modernos de diagnóstico como el sistema API 20 y el uso de los medios cromogénicos.

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

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

Sin embargo aún establecidas estas tres etapas en escrito, el control de calidad es responsabilidad de la persona a cargo del área de microbiología, que debe asegurarse de que las pruebas realizadas sean procesadas con calidad y de que los resultados sean confiables, reproducibles y tan exactos como sea posible, siguiendo los procedimientos establecidos. Los resultados se deben de entregar en un informe que sea legible y fácil de comprender. ⁽⁶⁾

En el presente trabajo se establecen los métodos tradicionales y métodos modernos de diagnóstico (sistema API 20 y medios cromogénicos) empleados para el diagnóstico microbiológico de microorganismos encontrados frecuentemente en septicemias, el estudio se realizará en el laboratorio de la FES Zaragoza, para posteriormente implementarlo en el módulo de Microbiología Médica y en la clínica multidisciplinaria de la FES Zaragoza.

Debido a que no se cuenta con prácticas desde el punto de vista anatómico, es decir, prácticas que permitan el diagnóstico de microorganismos que causan patologías en aparatos y sistemas del cuerpo humano. Para ello, se pretende diseñar prácticas con un formato novedoso y entendible, siguiendo los criterios de control de calidad. Estas prácticas están encaminadas al diagnóstico microbiológico de microorganismos causantes de patologías diversas, con el objeto de una mejor comprensión de la identificación de los microorganismos por género y especie.

Cabe señalar que al final de la práctica se encuentra un cuestionario que tiene por objetivo validar la utilidad de la misma, que con las opiniones de alumnos y profesores establecen un proceso de mejora continua de esta práctica.

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



II. Objetivos

- Utilizar los procedimientos de los métodos: tradicional y de los métodos modernos de diagnóstico microbiológico para la identificación de microorganismos encontrados frecuentemente en septicemias.
- Utilizar sistema API 20 y medios cromogénicos como métodos modernos de diagnóstico.
- Utilizar cepas ATCC de bacterias (frecuentemente encontradas en septicemias: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*) como control de calidad en los métodos: tradicional y en los métodos modernos de diagnóstico.

III. Medidas de bioseguridad

De acuerdo con la publicación de la OMS en 2005 se hace referencia a los peligros relativos que entrañan los microorganismos clasificándolos por grupos de riesgo. Y esta clasificación se utiliza exclusivamente para el trabajo de laboratorio. Existe una relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad y con ello la clasificación del tipo de laboratorio y el equipo de seguridad.

La asignación de un nivel de bioseguridad tiene en consideración el microorganismo (agente patógeno) utilizado, las instalaciones disponibles, el equipo, las prácticas para trabajar con seguridad en el laboratorio (Tabla 1). Por ello el nivel de bioseguridad que tiene el laboratorio de Microbiología Médica de la FES Zaragoza es nivel 1.

Tabla 1. Relación del grupo de riesgo con el nivel de bioseguridad, las prácticas y el equipo.

Grupo de riesgo	Nivel de bioseguridad	Tipo de laboratorio	Prácticas de laboratorio	Equipo de seguridad
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación	Técnicas microbiológicas apropiadas	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

Grupo de riesgo 1 (riesgo individual y poblacional escaso o nulo): microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o en animales.

Cada laboratorio debe adoptar un manual de seguridad o de trabajo en el que identifiquen los riesgos conocidos y potenciales y se especifiquen las prácticas y los procedimientos encaminados a eliminar o reducir al mínimo esos riesgos.

A continuación se mencionan algunos aspectos importantes en cuanto a las medidas de bioseguridad.

PROTECCIÓN PERSONAL:

- Se usarán en todo momento batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
- Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan entrañar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados. Una vez utilizados, los guantes se retirarán de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos (Figura 1).
- El personal deberá lavarse las manos después de manipular materiales y animales infecciosos, así como antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
- Se usarán gafas de seguridad, viseras u otros dispositivos de protección cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impactos y fuentes de radiación ultravioleta artificial.
- Estará prohibido usar prendas protectoras fuera de laboratorio.
- En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
- La ropa protectora de laboratorio no se guardará en los mismos armarios o taquillas que la ropa de calle.



Figura 1. Protección personal

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



ZONAS DE TRABAJO DEL LABORATORIO:

- El laboratorio se mantendrá ordenado y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso, al inicio y al final de cada jornada de trabajo. (7)

Manipulación de desechos:

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



IV. Propósito del examen

El diseño de esta práctica va encaminado al diagnóstico microbiológico de microorganismos encontrados frecuentemente en septicemias. Se utilizarán dos métodos: método tradicional y un método moderno de diagnóstico (medios cromogénicos y sistema API 20), empleando cepas ATCC de bacterias frecuentemente encontradas en septicemias, que se considerarán como control de calidad en ambos métodos. Con el objetivo de conocer los fundamentos y pasos a seguir de los mismos. Por último y de manera significativa se pretende mejorar el proceso de enseñanza y aprendizaje, así como mejorar la preparación académica de los alumnos que cursan el módulo de laboratorio de Microbiología Médica. Los alumnos tendrán los conocimientos básicos teóricos y prácticos necesarios para cada una de las etapas de control de calidad de la práctica.

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



V. Metodología

Se utilizarán dos métodos: método tradicional y el método moderno de diagnóstico (sistema API 20 y medios cromogénicos). Con fines de control de calidad, la práctica se dividirá en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica.

En esta primera sección de la metodología se hará mención de la fase preanalítica. La fase preanalítica es importante, y de ella depende en gran medida el resultado final. Aquí se establecen las condiciones del paciente para una buena toma de muestra, se recaba información del paciente como datos personales y clínicos necesarios, además se establecen las condiciones para la obtención de la muestra con la mejor calidad que preserve la integridad de la misma.

V.1. Fase Preanalítica

INDICACIONES Y PRECAUCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA

Explicar al paciente sobre el procedimiento a realizar.

- Efectuar siempre la extracción de sangre antes de iniciar la terapia antibiótica.
- En pacientes en los que ya se haya iniciado el tratamiento antibiótico y en los que no se considere conveniente retirarlo, deberá realizarse la extracción justo antes de la administración de una dosis.
- Sin embargo, que un paciente haya estado recibiendo antibióticos no necesariamente impide la obtención de muestras, aunque ésta debe tenerse en cuenta cuando se interpretan los resultados de los cultivos.



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha: 30/09/2016

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	REACTIVOS PARA PRUEBAS BIOQUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Asa bacteriológica ▪ Portaobjetos ▪ Cubreobjetos ▪ Guantes ▪ Cubrebocas ▪ Mechero ▪ Jeringa 10 ml con aguja ▪ Tintura de yodo al 3% ▪ Torundas con alcohol al 70% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colorantes para tinción de Gram: ✓ Cristal violeta ✓ Lugol ✓ Alcohol-Cetona ✓ Safranina ▪ Colorantes para tinción de cápsula. ✓ Rojo congo ✓ Mordiente de cápsula 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Frascos con medio de Ruiz Castañeda ▪ ASC 5% ▪ McConkey ▪ Sal y manitol ▪ Sabouraud. ▪ Cetrinida ▪ Agar Müeller Hinton 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Citrato de Simmon´s ▪ Fenilalanina desaminasa ▪ LIA ▪ MIO ▪ SIM ▪ TSI ▪ Urea de Christensen ▪ Caldo nitrato ▪ Caldo nitrato con campana ▪ Caldo RM-VP ▪ O/F Hugh Leifson con/sin sello de nujol ▪ Rojo de fenol + CHO´s 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fenilalanina desaminasa ▪ Indol ▪ Caldo nitrato ▪ RM-VP <div style="background-color: #008080; color: white; padding: 5px; text-align: center; font-weight: bold;">Cepas ATCC</div> <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>C. albicans</i> ▪ <i>S. aureus</i> ▪ <i>E. coli</i> ▪ <i>P. aeruginosa</i>

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA.

Se deben seguir las indicaciones establecidas en el procedimiento para la toma de la muestra, de igual manera es de suma importancia los puntos mencionados en indicaciones y preocupaciones para la toma de la muestra.

Para reducir las posibilidades de microorganismos contaminantes de la piel, los sitios de punción venosa se preparan como sigue:

- 1) Antes y después de cada procedimiento lavarse las manos correctamente.



- 2) Es importante el uso de cubrebocas y de guantes estériles o desinfectar los guantes antes de la punción venosa.



- 3) Tener listo el material para la punción venosa: ligadura, torundas (con alcohol al 70% y yodo povidona al 3%) jeringas con agujas y frascos para hemocultivo.



- 4) Cada frasco debe rotularse (nombre del paciente, sexo y edad).



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

- 5) Retirar los tapones externos de los frascos y desinfectar los tapones de goma con alcohol al 70%, dejar secar.



- 6) Localizar por palpación la vena a puncionar.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

- 7) Aplicar tintura de yodo al 3% o yodo povidona en el sitio a puncionar y permitir secar durante 1 o 2 minutos.*

*en el caso que el paciente sea alérgico al yodo, se aplicará 2 veces alcohol al 70% para realizar una correcta antisepsia.



- 8) Remover el exceso de yodo con alcohol al 70%.



- 9) Extraer la sangre sin tocar el campo desinfectado, si fuese necesario palpar la vena, deberá desinfectarse la zona nuevamente y los dedos.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

- 10) Extraer sangre de dos sitios diferentes, si es posible de ambos brazos, siguiendo los mismos pasos de antisepsia. (Pasos 6-9).



Tomando en cuenta lo siguiente:

- ✓ Volumen de sangre por frasco HEMO-CHEK

Realizar la toma de muestra considerando de 1 a 3 ml para frascos de 20 ml y de 4 a 7 ml para frascos de 50 ml.

- 11) Introducir la sangre en los frascos evitando que entre aire en el frasco anaerobio y de manera cuidadosa para evitar la hemólisis (se inoculará en primer lugar el frasco anaerobio).



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

12) Mover los frascos para que la sangre se mezcle con el medio de cultivo.



13) Realizar una suspensión bacteriana (con la cepa ATCC asignada) con solución fisiológica e inocular con una pequeña cantidad a los frascos de hemocultivo.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

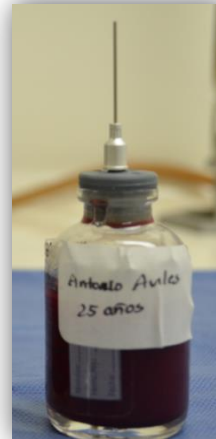


UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

- 14) Colocar la unidad ventiladora en los frascos para hemocultivo, quitando la tapa blanca, introducir la aguja corta a través del tapón del frasco. En caso de que los cultivos sean aerobios se retira el capucho de plástico transparente y volver a colocarlo.



- 15) Para los medios anaerobios no se retira el capuchón transparente.



- 16) Colocar los frascos en posición vertical e incubar a 37 °C y observar cada 24 horas, si hay turbidez en la fase líquida.

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



V.2. Fase Analítica

En esta fase se describen los métodos: tradicional (A) y el método moderno de diagnóstico (B), los cuales son explicados a manera de resumen en la siguiente tabla (Tabla 2), mostrando el procedimiento a seguir para el diagnóstico microbiológico a partir de muestra clínica o partiendo de cepas ATCC. Posteriormente ambos métodos (A y B) serán detallados de forma clara, precisa y sencilla.

Tabla 2: Procedimiento del método: tradicional y método moderno.

A.Método tradicional		B.Método moderno	
Origen de la muestra a analizar		Origen de la muestra a analizar	
Cepas ATCC	Muestra clínica	Cepas ATCC	Muestra clínica
<p>Realizar las siguientes actividades:</p> <p>Observación semanal: si hay cambios en la fase sólida y líquida de los frascos.</p> <p>↓</p> <p>Obtener una pequeña cantidad de muestra de los frascos de hemocultivo con una jeringa para los análisis posteriores*</p> <p>↓</p> <p>*Realizar frotis y realizar tinción de Gram: Examen microscópico utilizando objetivos 40X y 100X</p> <p>↓</p> <p>*Realizar resiembras en los medios de cultivo: ASC 5%, McConkey, Sal y Manitol, Sabouraud y Cetrimida.</p> <p>↓</p> <p>Incubar placas a 37 °C, 24 horas.</p> <p>↓</p> <p>Describir morfología colonial de cada uno de los medios inoculados.</p>		<p>Realizar las siguientes actividades:</p> <p>*Manejo de medios cromogénicos</p> <p>↓</p> <p>Extender la muestra para aislamiento en la superficie del medio.</p> <p>↓</p> <p>Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 24 hrs.</p> <p>↓</p> <p>Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella.</p> <p>↓</p> <p>Observar colonias después de la incubación.</p> <p>Manejo del sistema API 20:</p> <p>↓</p> <p>A partir de una colonia aislada, realizar una suspensión con agua estéril, obtener una turbidez equivalente a 0.5 McFarland (API 20 STAPH).</p> <p>↓</p>	

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

↓
Hacer pruebas diferenciales según la morfología microscópica y colonial con pruebas bioquímicas.

Llenar con la suspensión de bacterias los microtubos, no las cúpulas.
↓
Llenar la cúpula de los pocillos ADH y URE con aceite mineral.
↓
Poner la tira en su propia cámara húmeda de incubación.
↓
Colocar agua en panal de pocillos de la cámara para proporcionar una atmósfera húmeda durante la incubación.
↓
Cerrar las cámaras de incubación.
↓
Incubar a $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 18-24 horas.
↓
Tras la incubación se anotan los resultados inmediatos, determinadas pruebas requieren ser reveladas: VP, NIT y PAL
↓
La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo (con las tablas de lectura que proporciona el proveedor).
↓
La identificación se obtiene a partir del perfil numérico.

(Ver procedimiento de API20E y API20AUX)

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

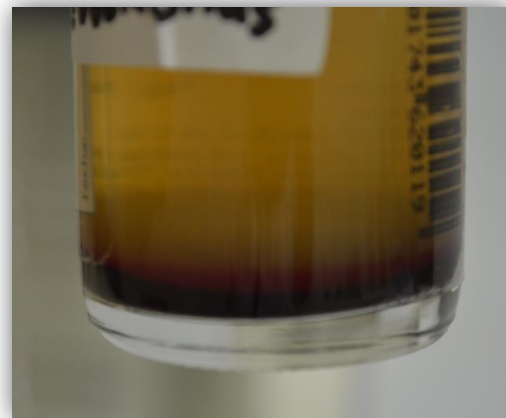
Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

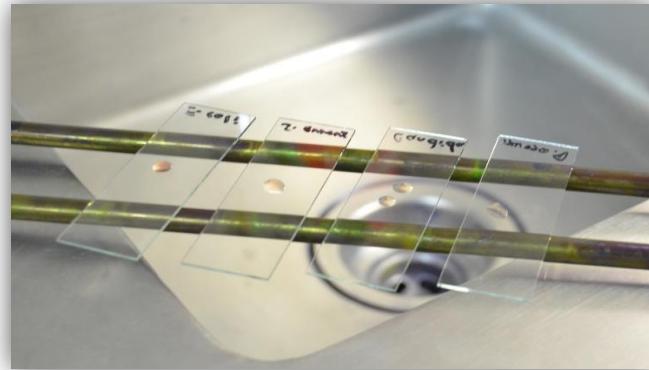
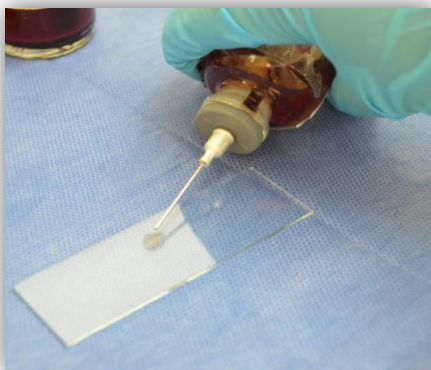


A. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO TRADICIONAL

- 1) Observar diariamente el aspecto macroscópico en busca de signos que indiquen desarrollo bacteriano: hemólisis, turbidez, presencia de gas, colonias, formación de película y coágulo.



- 2) En caso de que aparezcan cambios en el medio, realizar un frotis colocando una pequeña muestra con la unidad ventiladora (quitar el capuchón transparente) de cada uno de los frascos para hemocultivo y teñir con la técnica de Gram. Siempre trabajar al lado del mechero.



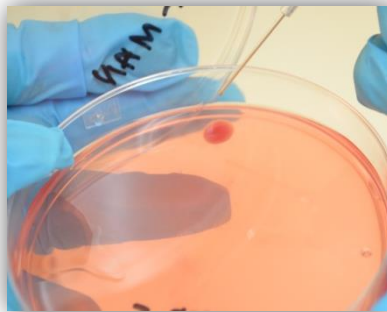
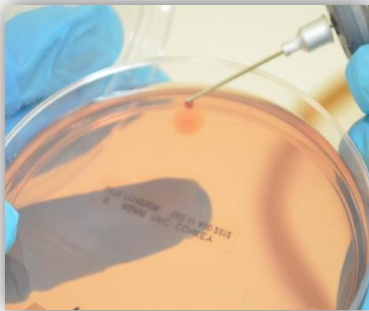
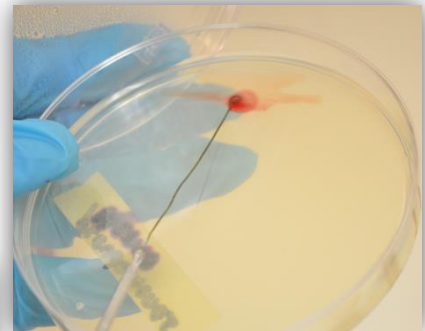
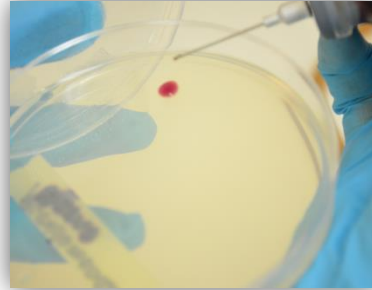
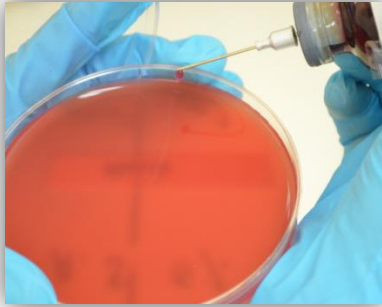


UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

3) Realizar resiembras, colocando una pequeña muestra en cada uno de los medios de cultivo (McConkey, ASC 5%, Sal y Manitol, Sabouraud y Cetrimida).



4) Incubar las placas a 37 °C durante 24 horas.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

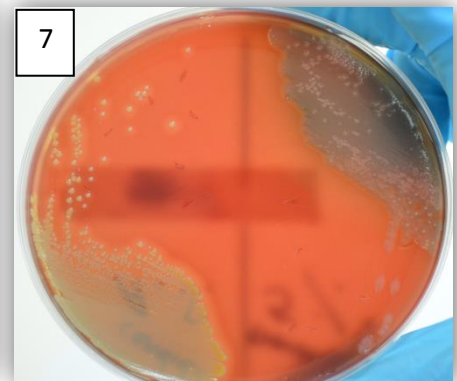
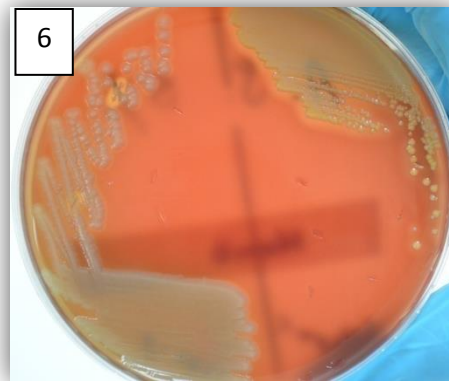
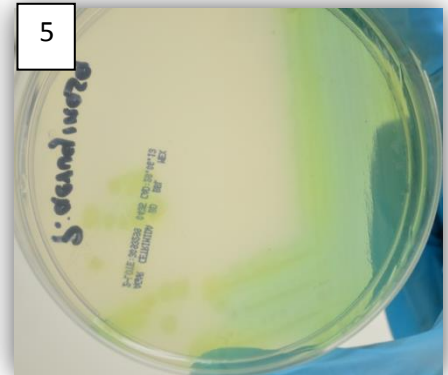
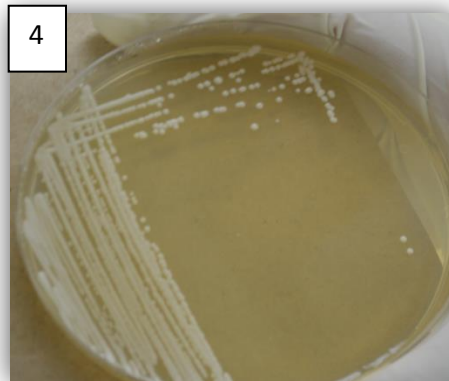
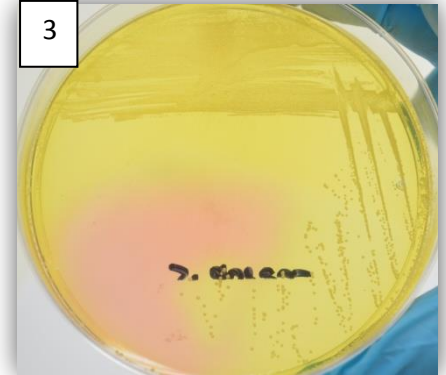
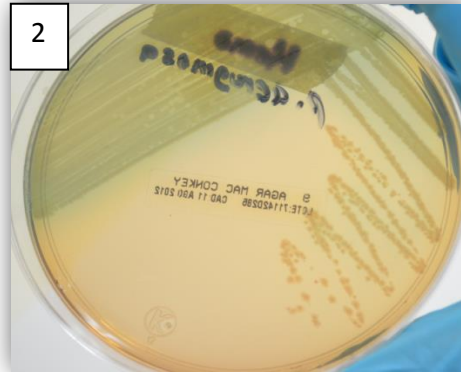
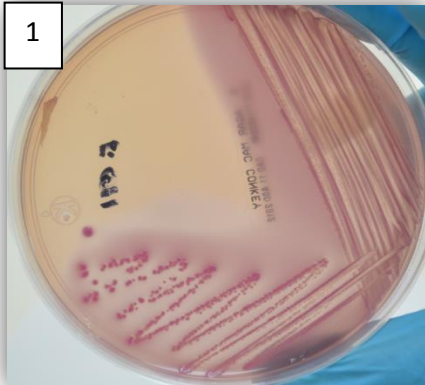


UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

5) Observar las características más relevantes de la morfología colonial en cada uno de los medios inoculados, a fin de seleccionar el crecimiento del posible patógeno.



Cepas inoculadas en medios:

Agar McConkey

1-*E. coli*

2-*P. aeruginosa*

Agar Sal y -manitol

3-*S. aureus*

Agar Sabouraud

4-*C. albicans*

Agar Cetrimida

5-*P. aeruginosa*

ASC 5%

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

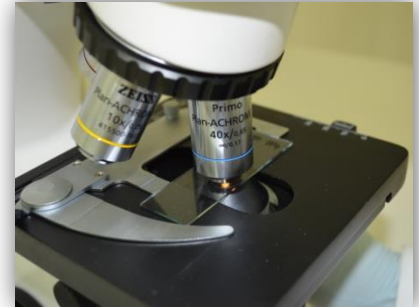
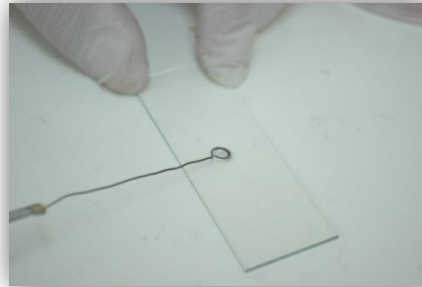


UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

- 6) Realizar tinción de Gram de los medios inoculados. Observar la preparación en el microscopio, utilizando objetivos 10X y 40X.



- 7) Realizar la inoculación en las pruebas bioquímicas, a partir de colonias bien aisladas de los medios de cultivo utilizados, de acuerdo al criterio y resultado sugerente al tipo de microorganismo aislado en los mismos.



- 8) Reportar todos los resultados en los formatos, para tinción, morfología colonial, pruebas bioquímicas y pruebas especiales. (ANEXO I)
- 9) Realizar una discusión de los resultados y conclusiones, con ayuda de la tabla de identificación de pruebas bioquímicas. (ANEXO I)

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



B. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO MODERNO

MEDIOS CROMOGÉNICOS

METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO: AGAR CROMOGÉNICO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Asa bacteriológica ▪ Guantes ▪ Cubrebocas 	-----	<ul style="list-style-type: none"> ▪ SAID ▪ CPS ▪ CAN2

- 1) Colocar una pequeña cantidad de la muestra que se obtuvo del frasco de hemocultivo con la jeringa, en la superficie de los medios cromogénicos (para *S. aureus* y *P. aeruginosa*) para luego extenderla a partir de dicha zona con un asa bacteriológica.



- 2) Incubar las placas en atmósfera aerobia a $35 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 20-24 hrs en posición invertida.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

- 3) Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella, ya que la luz puede destruir los cromógenos.
- 4) Una vez que los colores de las colonias se hayan desarrollado, el agar cromogénico se puede exponer a la luz, para efectuar la lectura de las placas contra un fondo blanco.
- 5) Anotar el resultado correspondiente en el formato de reporte de resultados. (ANEXO I)

Muestra de frasco de hemocultivo inoculada en medios:

SAID

1-*S. aureus*

CPS

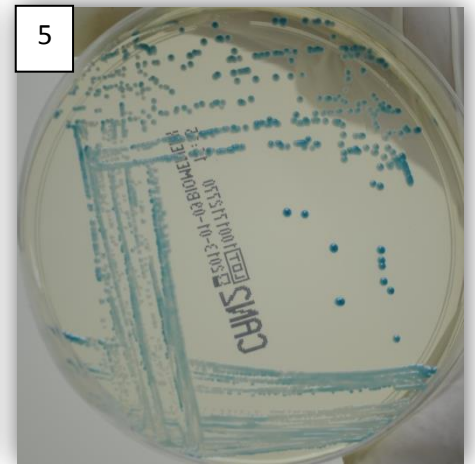
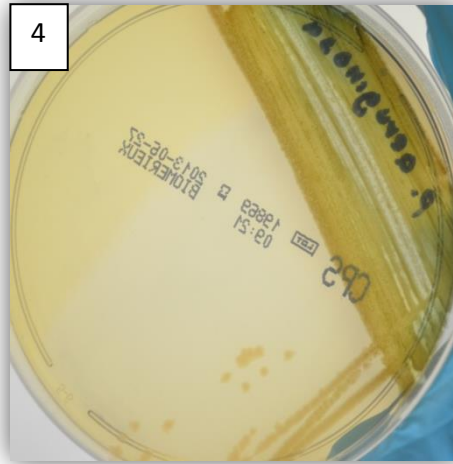
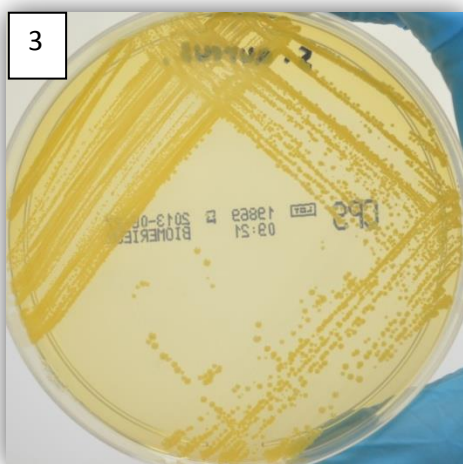
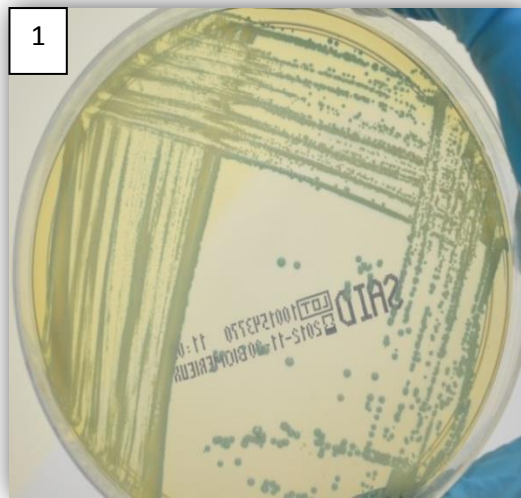
2- *E. coli*

3-*S. aureus*

4-*P. aeruginosa*

CAN2

5-*C. albicans*



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



6) Interpretación de los resultados: Identificación inmediata y directa de los microorganismos más habituales tras 18-24 horas de incubación.

El medio cromogénico para *S. aureus* permite la detección de:

- *S. aureus* produce colonias de color verde. Basada en el desarrollo espontáneo del color verde de las colonias productoras de glucosidasa.
- *S. epidermidis* (colonias blancas).
- *S. saprophyticus* (colonias rosas).
- *S. xylosus* (colonias malva).
- Inhibición de otras bacterias (Gram+ y Gram-) y levaduras. ⁽⁸⁾

En el medio cromogénico CPS permite la detección de:

- *K. pneumoniae*: colonias verdes.
- *P. aeruginosa*: colonias pigmentadas (marrón-amarillas).
- *E. coli*: colonias rosas-borgoña.
- *P. mirabilis*: colonias café claro.
- *Staphylococcus aureus*: colonias amarillas.
- *Candida albicans*: colonias blancas.
- *Streptococcus agalactiae*: colonias violetas.
- Enterococos: colonias turquesa.

En el medio cromogénico Candida ID permite la identificación de:

Identificación directa de *C. albicans* = Colonias azules (lectura en 24 - 48 horas)

Mayor intensidad para las colonias de *C. albicans*.

- Óptima diferenciación en cultivos mixtos.
- Orientación en la identificación de otras especies de Candida (*C. tropicalis*, *C. lusitaniae* y *C. kefyr*) = colonias rosas.
- La nueva fórmula mejora la selectividad (inhibición de bacterias).



MÉTODO MODERNO

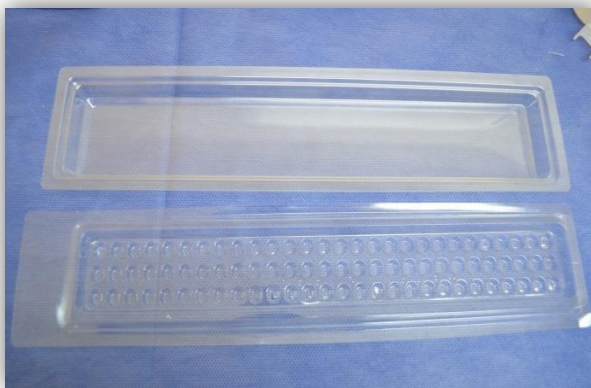
API 20 STAPH

METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS PARA REVELADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Micropipeta ▪ Guantes ▪ Cubrebocas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ VP1 ▪ VP2 ▪ NIT1 ▪ NIT2 ▪ ZYM A ▪ ZYM B 	-----

PREPARACIÓN DE LA TIRA

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





UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

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



- 3) Sacar una galería API Staph de su envase individual y colocar la galería en la cámara de incubación.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



PREPARACIÓN DEL INÓCULO

4) Abrir una ampolla de API Staph Médium:

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



Ampolla y protector



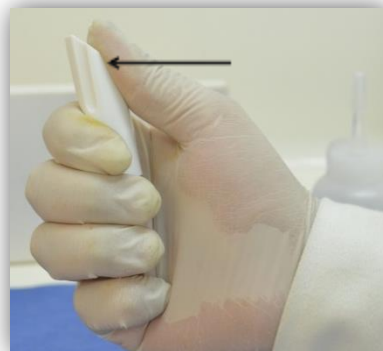
a)



b) y c)



d)



d)



e) y f)



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

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



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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



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



* ADH= Arginina dihidrolasa

* URE= Ureasa

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



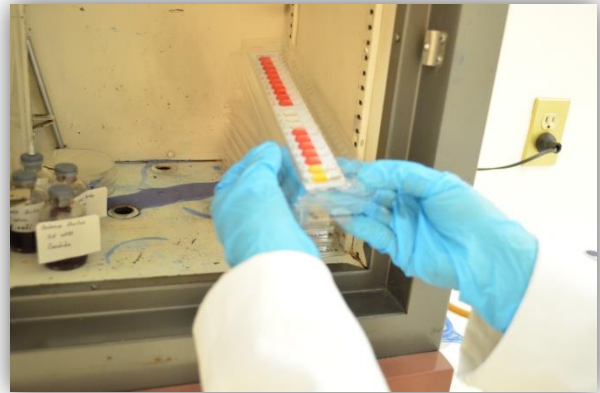
UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

8) Cerrar la cámara de incubación.

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



LECTURA DE LA GALERÍA

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



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

11) Después del periodo de incubación, el desarrollo de las reacciones se dará por la adición de 1 gota de cada uno de los siguientes reactivos y a continuación se interpretan todas las reacciones conforme a la tabla de identificación:

Prueba VP: Reactivos VP 1 y VP 2:

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

Un color rosa pálido o rosa claro obtenido después de 10 minutos debe ser considerado como negativo.



Prueba NIT: Reactivos NIT 1 y NIT 2.

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



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

Prueba PAL:

Reactivos ZYM A y ZYM B (*).
Esperar 10 minutos. Un color violeta indica una reacción positiva.

(*). Se recomienda controlar cada ampolla de reactivo ZYM B antes de la primera utilización.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



DETERMINACIÓN DEL PERFIL NUMÉRICO E IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO.

12) En la hoja de resultados, los tests están separados en grupos de 3. Para obtener el perfil numérico de 7 cifras, a cada pocillo se le dará el valor 0, 1, 2 o 4, de acuerdo a los siguientes criterios:

- ✓ Si la reacción es negativa se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva se pone: 1 si es el primer pocillo de un triplete, 2 si es el segundo, 4 si es el tercero.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. (3, 5, 9)



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016










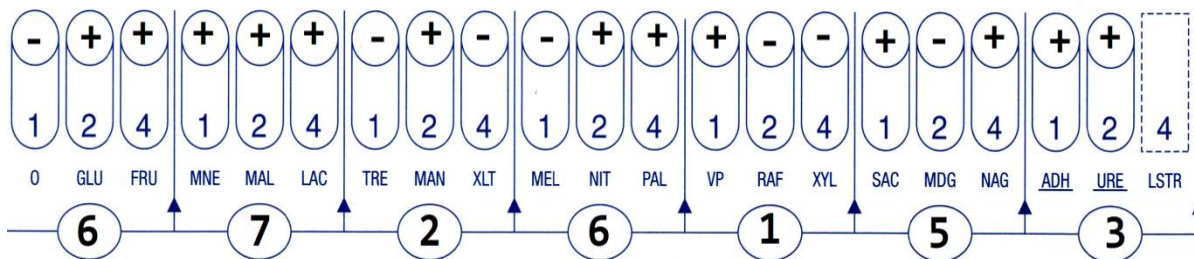
UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

13) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato.
(ANEXO I)

 <p>0 GLU FRU</p>	 <p>MNE MAL LAC</p>	 <p>TRE MAN XLT</p>
 <p>MEL NIT PAL</p>	 <p>VP RAF XYL</p>	 <p>SAC MDG NAG</p>
 <p>ADH URE</p>	<p>PERFIL NUMÉRICO DE 7 CIFRAS: 7144552</p> <p>IDENTIFICACIÓN:</p>	



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

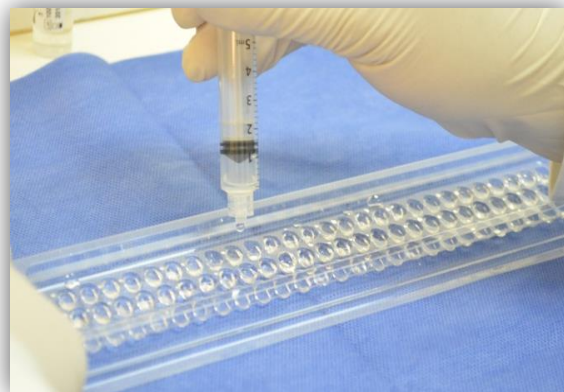
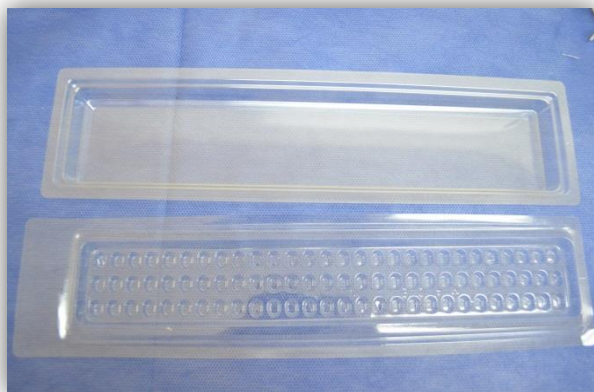
API 20E

METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS PARA REVELADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Micropipeta ▪ Guantes ▪ Cubrebocas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ FeCl₃ 10% (TDA) ▪ KOH al 40% (VP1) ▪ Naftol (VP2) ▪ Kovacs o dimetilamino-cinamaldehído o reactivo de James. ▪ Tetrafenilendiamina ▪ NIT 1 y NIT 2 ▪ Zn 	-----

PREPARACIÓN DE LA TIRA

- 1) Prepare una caja de incubación (bandeja y tapa) y distribuir aproximadamente 5 ml de agua destilada o agua desmineralizada en el panel de pocillos de la bandeja para crear una atmósfera húmeda.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

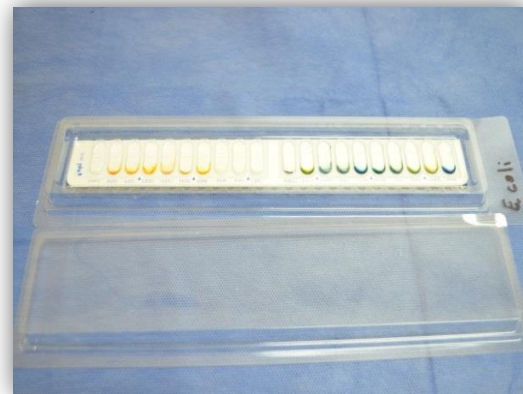
Fecha:30/09/2016

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



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

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



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



PREPARACIÓN DEL INÓCULO

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



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



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

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



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



*CIT= utilización del citrato

*VP= producción de acetoina (Voges Proskauer)

*GEL= gelatinasa (gelatina)

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

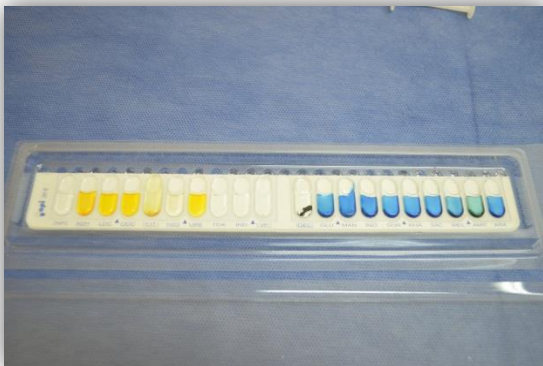
9) Para las otras pruebas, llenar únicamente los tubos (no las cúpulas).



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



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



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



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

LECTURA E INTERPRETACIÓN

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



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

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

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



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

VP: añadir una gota del reactivo VP1 y una gota del reactivo VP2
Positivo = color rosa fuerte o rojo en 5-10 minutos.
Negativo = color rosa débil después de los 10 minutos.



IND: añadir una gota de reactivo de Kovacs¹ o dimetilamino-cinamaldehído². O reactivo de James ³ Dependiendo del reactivo utilizado pueden darse las posibilidades siguientes:

- ¹Positivo = aparece un anillo rosa-rojo
- ²Positivo = color de rosa a morado en todo el pocillo
- ³Positivo = rosa



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

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

Positivo (NO₂)= coloración roja

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

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



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

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

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

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

- ✓ Si la reacción es negativa se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva se pone: 1 si es el primer pocillo de un triplete, 2 si es el segundo, 4 si es el tercero.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. ^{8,9,10}



15) Reportar los resultados de las pruebas que fueron reveladas con reactivos en el formato. (ANEXO I)

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha: 30/09/2016



ONP GADH LDC



ODC CIT H2S



URE TDA IND



VP GEL GLU



MAN INO SOR



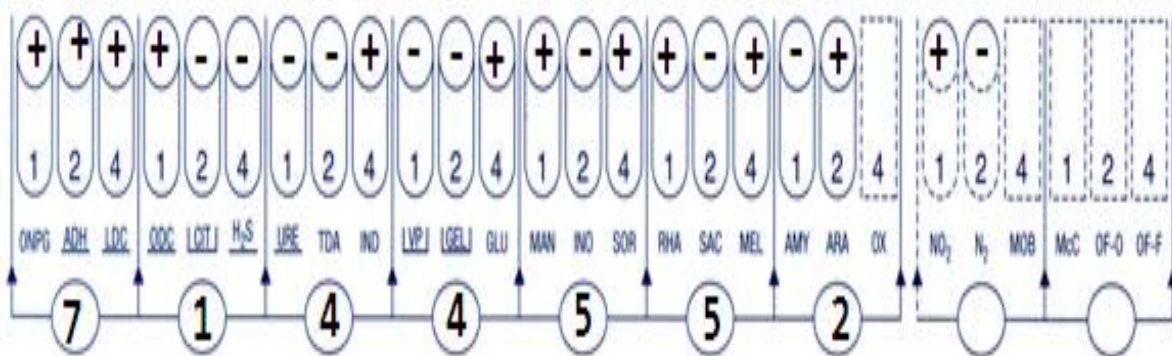
RHA SAC MEL



AMY ARA OX NO2 N2

PERFIL NUMÉRICO DE 7 CIFRAS: **7144552**

IDENTIFICACIÓN:



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



MÉTODO MODERNO

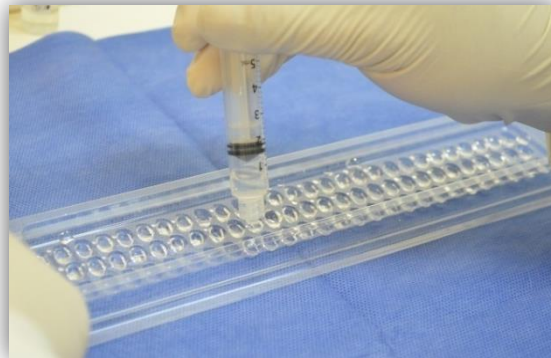
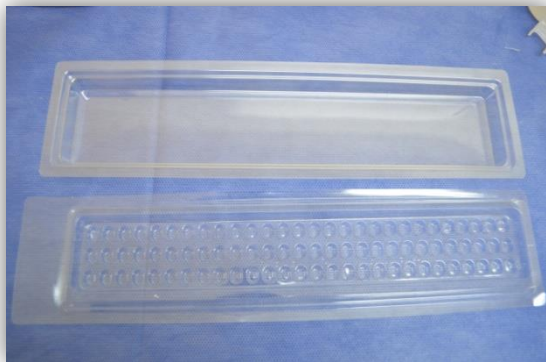
API 20C AUX

METODOLOGÍA

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Micropipeta ▪ Guantes ▪ Cubrebocas 	-----	-----

PREPARACIÓN DE LA TIRA

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



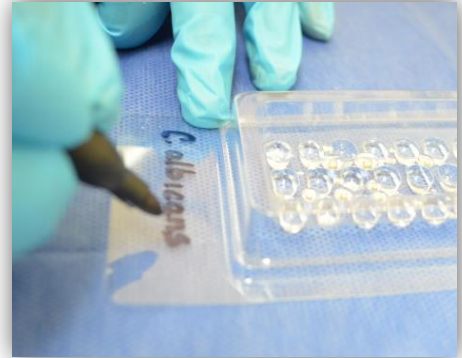


UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

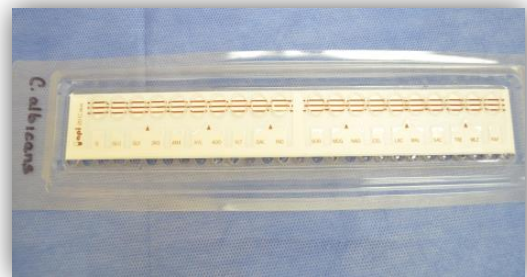
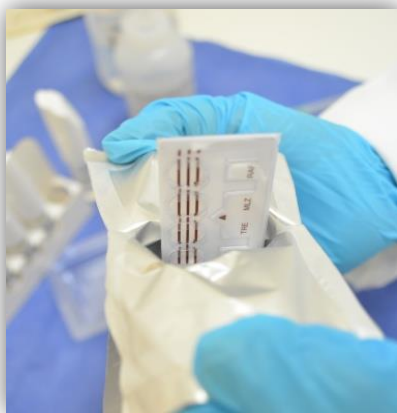
Fecha:30/09/2016

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



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

4) Colocar la galería en la cámara de incubación.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



PREPARACIÓN DEL INÓCULO

5) Abrir una ampolla de API 20 Aux:

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



Ampolla y protector



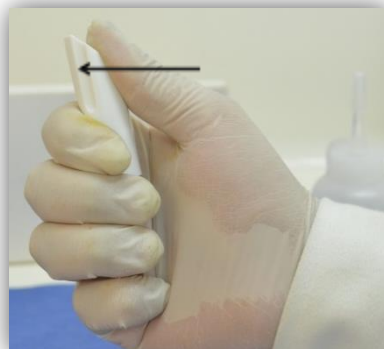
a)



b) y c)



d)



d)



e) y f)



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

- 6) A partir de un cultivo joven de la levadura a identificar, realizar una suspensión en 2 ml de agua destilada estéril hasta obtener una turbidez igual a 2 de McFarland. Se recomienda utilizar cultivos jóvenes (18-24 horas). Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación.



INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

- 7) Con la ayuda de la micropipeta, transferir 100 microlitros (2 gotas) de esta suspensión a una ampolla de C Medium y homogeneizar evitando la formación de burbujas. Llenar las cúpulas con la suspensión evitando la formación de burbujas y apoyando la punta de la micropipeta sobre el borde de la cúpula.



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

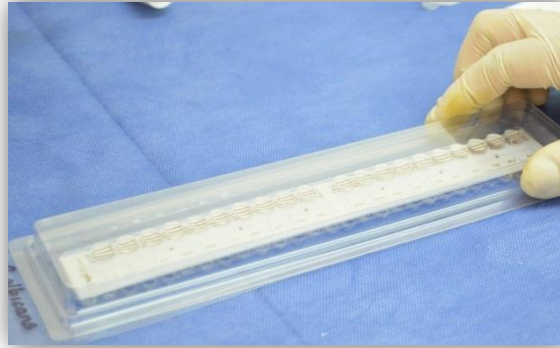


UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

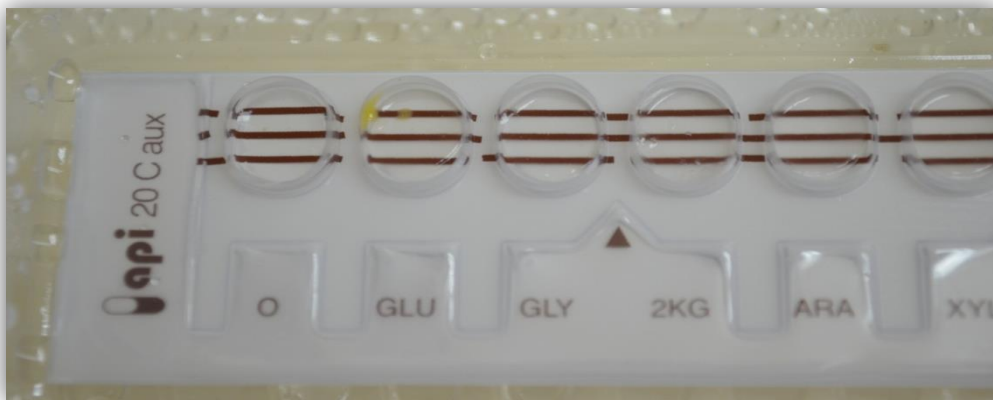
Fecha:30/09/2016

8) Cerrar las cámaras de incubación. E Incubar a 30 °C durante 24-72 horas.



LECTURA DE LA GALERÍA

9) Tras la incubación observar el crecimiento de las levaduras en comparación con la cúpula del control negativo. Una cúpula más turbia que el testigo indica una reacción positiva que debe anotarse en la hoja de resultados. La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con las tablas de lectura que proporciona el proveedor, y anotando el resultado como positivo o negativo. (ANEXO I)



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



DETERMINACIÓN DEL PERFIL NUMÉRICO E IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO.

10) Del conjunto de reacciones y resultados se obtiene un perfil numérico de 7 cifras. Los pocillos están separados en grupos de tres: en total tenemos 7 grupos de tres tubos o tripletes.

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

- ✓ Si la reacción es negativa se pone 0.
- ✓ Si la reacción es positiva se pone: 1 si es el primer pocillo de un triplete (si hay presencia de turbidez o crecimiento de levaduras en el pocillo), 2 si es el segundo, 4 si es el tercero.
- ✓ Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata. ⁽⁹⁾



11) Reportar los resultados de las pruebas en el formato. (ANEXO I)

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

METODOLOGÍA

EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	REACTIVOS	MEDIOS DE CULTIVO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bata ▪ Asa bacteriológica ▪ Portaobjetos ▪ Cubreobjetos ▪ Guantes ▪ Cubrebocas ▪ Mechero 	----	Agar Müeller Hinton

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



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

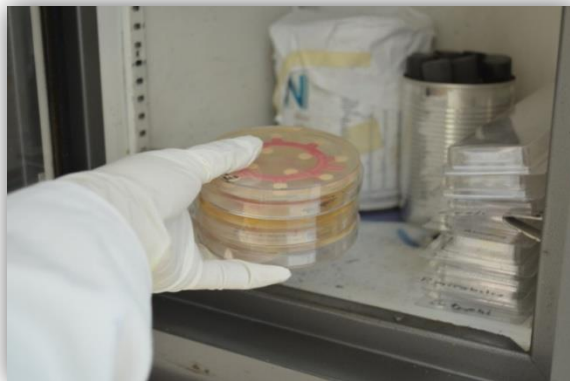


UNIDAD 7: Aparato circulatorio

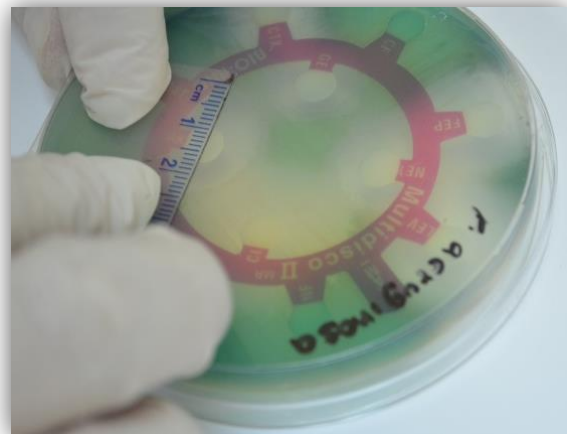
Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

2) Incubar la placa a 35 °C por 24 horas.



3) Realizar la lectura del antibiograma, utilizando la hoja para susceptibilidad a antibióticos suministrada por el proveedor. ⁽¹⁰⁾ (ANEXO I)



Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



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

V.3. Fase Postanalítica

En la fase postanalítica se refieren los resultados obtenidos y se especifican en el informe del laboratorio, al cual se llega partiendo de que las fases preanalítica y analítica. Los resultados se deben de entregar en un informe que sea legible y fácil de comprender: informe de laboratorio. (**ANEXO II**)

De igual manera se debe reportar la susceptibilidad a antibióticos del microorganismo identificado, para ello se realizará el antibiograma, siguiendo los criterios establecidos por el proveedor.

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



VI. Referencias

1. Keith L., Agur A., Moore M. Anatomía con orientación clínica. 5ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2006
2. Schaechter M., Medoff G., Eisenstein B. Guerra H. Microbiología mecanismos de las enfermedades infecciosas. Enfoque mediante resolución de problemas. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1994.
3. Koneman E., Allen S., Janda W., Schreckenberger P., Winn W. Diagnóstico microbiológico texto y atlas color. 5ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2002.
4. Spicer W. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas. Texto y atlas en color. 2ª ed. Barcelona: Elsevier; 2009
5. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid; Médica Panamericana; 2005
6. Ingraham J. Introducción a la microbiología. Barcelona: Reverte; 1998.
7. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3º ed. Organización mundial de la salud: Ginebra, 2005. [223 páginas]. Disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf
8. Catálogo de medios de cultivo. Biomérieux. 2010. [79 páginas]. Disponible en: <http://ebookbrowse.com/catalogo-medios-de-cultivo-2010-es-pdf-d52553760>
9. API Staph. Sistema de identificación de estafilococos, micrococos y géneros relacionados. 2009. [44 páginas]. Disponible en: <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/6.pdf>
10. Multidiscos MR II. Biorad 2010; [2 páginas]. Disponible en: <http://sdpmexico.com.mx/files/MULTIDISCOS.pdf>

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

ANEXO I. Formato de resultados método tradicional

TINCIÓN DE GRAM

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

MORFOLOGÍA COLONIAL

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

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

TINCIONES ESPECIALES

CLAVE CEPA			
NOMBRE TINCIÓN			
ESTRUCTURA DEL MICROORGANISMO			
PRESENCIA Y ABUNDANCIA			

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha: 30/09/2016

ANEXO II. Formato de resultados método moderno

API 20 Staph

CEPA	0	G L U	F R U	M N E	M A L	T A C	M R E	X A N	M L T	N I T	P A L	V P	R A F	X Y L	S A C	M D G	N A G	A D H	U R E	-	Identificación	
1																						
2																						
3																						
4																						
5																						

API 20E

CEPA	O N P G	A D H	L D C	O D C	C D T	H I S	U R E	T D A	I N D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A	O X	N O ₂	N ₂	Identificación	
1																									
2																									
3																									
4																									
5																									

API 20 Aux

CEPA	0	G L U	G L Y	2 K G	A R A	X Y L	A D O	X L T	G A L	I N O	S O R	M D G	N A G	C E L	L A C	M A L	S A C	T R E	M L Z	R A F	Identificación	
1																						
2																						
3																						

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

FORMATO DE RESULTADOS MÉTODO MODERNO MEDIO CROMOGÉNICO

MORFOLOGÍA COLONIAL

Clave Cepa				
Medio Cromogénico				
Tamaño				
Forma				
Borde				
Color				
Superficie				
Luz Reflejada				
Luz Transmitida				
Crecimiento				
Otras ¹				

¹ Características que dependen del medio de cultivo: halos.

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN PRUEBAS BIOQUÍMICAS

	KIA	GAS	H ₂ S	RM	VP	IND	CIT	PAD	URE	MOV	LIS	ARG	ORN	ONPG
Tribu I: Escherichieae														
Género: Escherichia														
<i>E.coli</i>	A/A	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-/+	+/-	+
Género: Shigella														
Grupos A, B, C	Alc/A	-	-	+	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.sonnei</i>	Alc/A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Tribu II: Edwarsielleae														
Género: Edwarsiella														
<i>E. tarda</i>	Alc/A	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
Tribu III: Salmonelleae														
Género: Salmonella														
	Alc/A	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+/-	+	-
Tribu IV: Citrobactereae														
Género: Citrobacter														
<i>C. freundii</i>	Alc/A	+	+	+	-	-	+	-	+/-	+	-	+/-	-/+	+
<i>C. koseri</i>	Alc/A	+	-	+	-	+	+	-	+/-	+	-	+/-	+	+
Tribu V: Klebsielleae														
Género: Klebsiella														
<i>K. pneumoniae</i>	A/A	++	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+
<i>K. axytoca</i>	A/A	++	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
Género: Enterobacter														
<i>E. aerogenes</i>	A/A	++	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+
<i>E. cloacae</i>	A/A	++	-	-	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	+
Género: Hafnia														
<i>H. alvei</i>	Alc/A	+	-	-/+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+
Género: Pantoea														
<i>P. agglomerans</i>	Alc/A	-/+	-	-/+	+/-	-/+	+/-	-/+	-/+	+	-	-	-	+
Género: Serratia														
<i>S. marcescens</i>	Alc/A	+	-	-/+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+
Tribu VI: Proteeae														
Género: Proteus														
<i>P. vulgaris</i>	Alc/A	+/-	+	+	-	+	-/+	+	++	+	-	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>	Alc/A	+	+	+	+/-	-	+/-	+	++	+	-	-	+	-
Género: Morganella														
<i>M. morganii</i>	Alc/A	+	-	+	-	+	-	+	++	+	-	-	+	-
Género: Providencia														
<i>P. rettgeri</i>	Alc/A	-	-	+	-	+	+	+	++	+	-	-	-	-
<i>P. stuartii</i>	Alc/A	-	-	+	-	+	+	+	-/+	+/-	-	-	-	-
<i>p. alcalifaciens</i>	Alc/A	+/-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
Tribu VII: Yersinieae														
Género: Yersinia														
<i>Y. enterocolitica</i>	Alc/A	-	-	+	-	+/-	-	-	+/-	-†	-	-	+	+

Tabla Características claves para la identificación de las *Enterobacteriaceae* más comunes. **KIA**, agar hierro de Kliegler; **H₂S**, sulfuro de hidrógeno; **RM**, rojo de metilo; **VP**, Voges-Proskauer; **IND**, indol; **CIT**, citrato; **PAD**, fenilalanina desaminasa; **URE**, ureasa; **MOV**, movilidad; **Lis**, lisina; **ARG**, arginina; **ORN**, ornitina; **ONPG**, o-nitrofenil-β D-galactopiranosido; ++, fuerte reacción positiva; +, 90% o más de cepas positivas; -, 90% o más de cepas negativas; +/-, 50%-90% de cepas positivas; -/+, 50% - 90% de cepas negativas; las áreas sombreadas indican las reacciones claves. * Movilidad dispersa demostrada en medio no inhibidor. † No móvil a 36°C, móvil a 22°C. (2)

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha: 30/09/2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 Staph

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANT. (mg/cúp.)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
0	Sin substrato		Testigo negativo	Rojo	----
GLU	D-glucosa	1.56	(testigo positivo) (D-glucosa)	Rojo *	Amarillo
FRU	D-fructosa	1.4	Acidificación (D-fructosa)		
MNE	D-manosa	1.4	Acidificación (D-manosa)		
MAL	D-maltosa	1.4	Acidificación (D-maltosa)		
LAC	D-lactosa (origen bovino)	1.4	Acidificación (D-lactosa)		
TRE	D-trehalosa	1.32	Acidificación (D-trehalosa)		
MAN	D-manitol	1.36	Acidificación (D-manitol)		
XLT	Xilitol	1.4	Acidificación (D-xilitol)		
MEL	D-melibiosa	1.32	Acidificación (D-melibiosa)		
NIT	Nitrato de potasio	0.08	Reducción de nitratos a nitritos		
PAL	B-nafti fosfato	0.0244	Fosfatasa alcalina	<u>ZYM A+ ZYM B/10 min</u> Amarillo	Violeta
VP	Pirivato de sodio	1.904	Producción de acetil-metil-carbinol (voges proskauer)	<u>VP 1+ VP2/10 min</u> Incoloro-rosa claro	Violeta-rosáceo
RAF	D-rafinosa	1.56	Acidificación (rafinosa)	Rojo	Amarillo
XYL	D-xilosa	1.4	Acidificación (xylosa)		
SAC	D-sacarosa (sucrosa)	1.32	Acidificación (sacarosa)		
MDG	metil- α -D-glucopiranosida	1.28	Acidificación (metil- α -D-glucopiranosida)		
NAG	N-acetil-glucosamina	1.28	Acidificación (N-acetil-glucosamina)		
ADH	L-arginina	1.904	Arginina dihidrolasa		
URE	Urea	0.76	Ureasa	Amarillo	Rojo-violeta

Los ensayos de acidificación deberían compararse con los testigos negativo (0) y positivo (GLU).

* Cuando MNE y XLT van precedidos o seguidos por ensayos positivos, la prueba naranja debería considerarse negativa.

Las cantidades indicadas pueden ser ajustadas en función de los títulos de las materias primas.

Ciertas cúpulas contienen componentes de origen animal, especialmente peptonas. ⁽⁷⁾

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

TABLA DE IDENTIFICACIÓN: API 20 E

TEST	COMPONENTES ACTIVOS	CANTIDAD (mg/cúp)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
ONPG	2-nitro-fenil- β Dgalactopiranosida	0.223	β -galactosidasa (orto-nitrofenil- β Dgalactopiranosidasa)	Incoloro	Amarillo (1)
ADH	L-arginina	1.9	Arginina-dihidrolasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
LDC	L-lisina	1.9	Lisina Decarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
ODC	L-ornitina	1.9	Ornitina Decarboxilasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
CIT	Citrato trisódico	0.756	Utilización del Citrato	Verde pálido/ amarillo	Azul-verde/azul (3)
H2S	Tiosulfato sódico	0.075	Producción de H ₂ S	Incoloro/grisáceo	Depósito negro/fin liserado
URE	Urea	0.76	Ureasa	Amarillo	Rojo/anaranjado (2)
TDA	L-triptófano	0.38	Triptófano Desaminasa	<u>TDA/ inmediato</u>	
				Amarillo	Marrón-rojizo
IND	L-triptófano	1,9	Producción de Índol	<u>James/ inmediato</u>	
				Incoloro Verde pálido/amarillo	Rosa
VP	Piruvato sódico	1,9	Producción de acetoína (Voges Proskauer)	VP1 + VP2/10 min	
				Incoloro/rosa pálido	Rosa/rojo (5)
GEL	Gelatina(origen bovino)	0.6	Gelatinasa (Gelatina)	No difusión	Difusión pigmento negro
GLU	D-glucosa	1,9	Fermentación/oxidación (Glucosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo/amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	1,9	Fermentación/oxidación (Manitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
INO	Inositol	1,9	Fermentación/oxidación (Inositol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentación/oxidación (Sorbitol) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
RHA	L-ramnosa	1,9	Fermentación/oxidación (Rhamnosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
SAC	D-sacarosa	1,9	Fermentación/oxidación (sacarosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
MEL	D-melibiosa	1,9	Fermentación/oxidación (Melibiosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
AMY	Amigdalina	0,57	Fermentación/oxidación (Amygdalina) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo
ARA		1,9	Fermentación/oxidación (Arabinosa) (4)	Azul/azul verdoso	Amarillo

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 73

UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

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

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

FECHA: 31/07/2015

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

FECHA: 25/09/2015

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 30/09/2016

Inicio



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

ANEXO III. Sensibilidad a antibióticos

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm

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

R= resistente

I= intermedio

S=sensible

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

FORMATO DE REPORTE DE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS (ANTIBIOGRAMA)

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

R= resistente I= intermedio S=sensible

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Química Farmacéutico Biológica

Módulo: Microbiología Médica

Página 1 de 73

UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

ANEXO IV. Formato de informe de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA



FECHA: / /

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

FOLIO: _____ EDAD: _____ SEXO: (M) (F)

LOCALIDAD: _____

NOMBRE DEL MÉDICO SOLICITANTE: _____

ESTUDIOS REALIZADOS

VALORES DE REFERENCIA

OBSERVACIONES

SELLO DEL LABORATORIO

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016

Inicio



ANEXO V. Principio del método moderno de diagnóstico: API 20 y medios cromogénicos

API 20

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

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

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

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

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

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

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

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

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

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

La galería API Staph incluye 20 microtubos que contienen substratos deshidratados. Los microtubos se inoculan con una suspensión bacteriana, preparada en API Staph Médium, que reconstituye los ensayos.

MEDIOS CROMOGÉNICOS

Medios selectivo-diferenciales

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

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

Dichas sustancias son productos químicos de síntesis que son incoloros cuando se unen a sustratos naturales por enlaces que son hidrolizados por enzimas microbianas específicas.

Cuando la enzima microbiana hidroliza el enlace, se libera el enlace cromogénico, que adquiere un color intenso. Así, por ejemplo, la galactosa se une a un colorante, el ortonitrofenol (ONF), por un enlace químico que es reconocido por una enzima bacteriana, la β -galactosidasa, cuya función natural es reconocer e hidrolizar el enlace entre la galactosa y la glucosa (que constituyen la lactosa). El complejo galactosa-ONF es incoloro, pero cuando es hidrolizado por la β -galactosidasa y se libera el ONF, éste adquiere un intenso color amarillo.

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



UNIDAD 7: Aparato circulatorio

Práctica: Hemocultivo

Fecha:30/09/2016

La aparición de ese color en la colonia y a su alrededor indica la presencia de la enzima. Algunas enzimas son específicas de un género, una especie o propias de un reducido número de especies, por lo que su detección permite su identificación. (2, 4)

La identificación directa de *S. aureus* basada en el desarrollo espontáneo del color verde de las colonias productoras de glucosidasa.

Mayor rapidez con la identificación inmediata de *S. aureus* = colonias verdes (lectura entre 18 y 24 horas).

Mayor fiabilidad:

- ❖ Excelentes prestaciones para el cultivo de *S. aureus* debido a la capacidad nutritiva, sensibilidad de detección y especificidad de la coloración.
- ❖ Diferenciación óptima de cultivos mixtos gracias a la presencia de un 2º sustrato.
- ❖ Orientación en la identificación hacia Estafilococos = *S. epidermidis* (colonias blancas).

S. saprophyticus (colonias rosas), *S. xylosus* (colonias malva).
Inhibición de otras bacterias (Gram+ y Gram-) y levaduras.

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: M en C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



ANEXO VI. Cuestionario

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

Elaboró: Ana Laura Loreto Pérez
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez

Revisó: Men C. Roberto Cruz González Meléndez

Aprobó: Comité Académico de la Carrera

FECHA: 31/07/2015

FECHA: 25/09/2015

FECHA: 30/09/2016



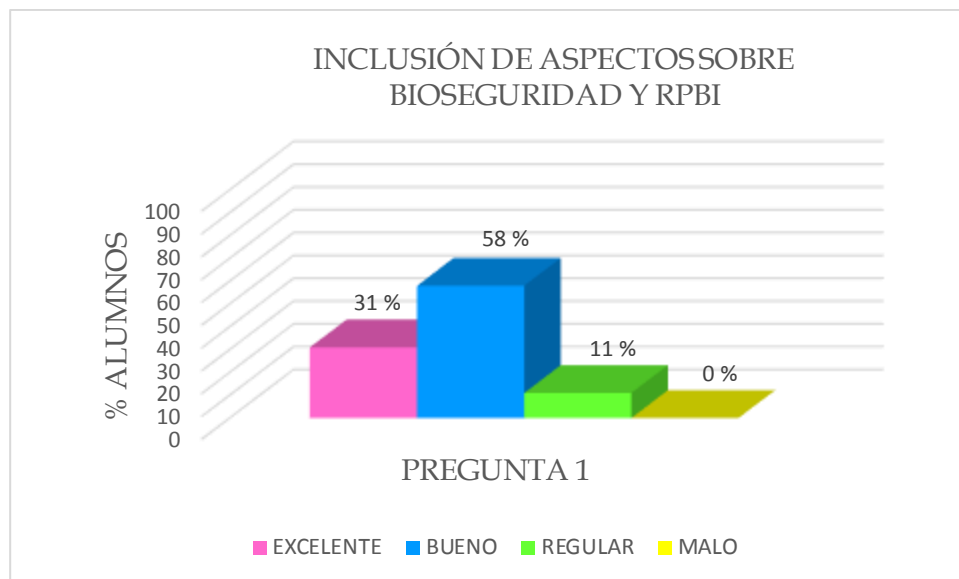
FES Zaragoza
UNAM

7.2 VALIDACIÓN DEL MANUAL

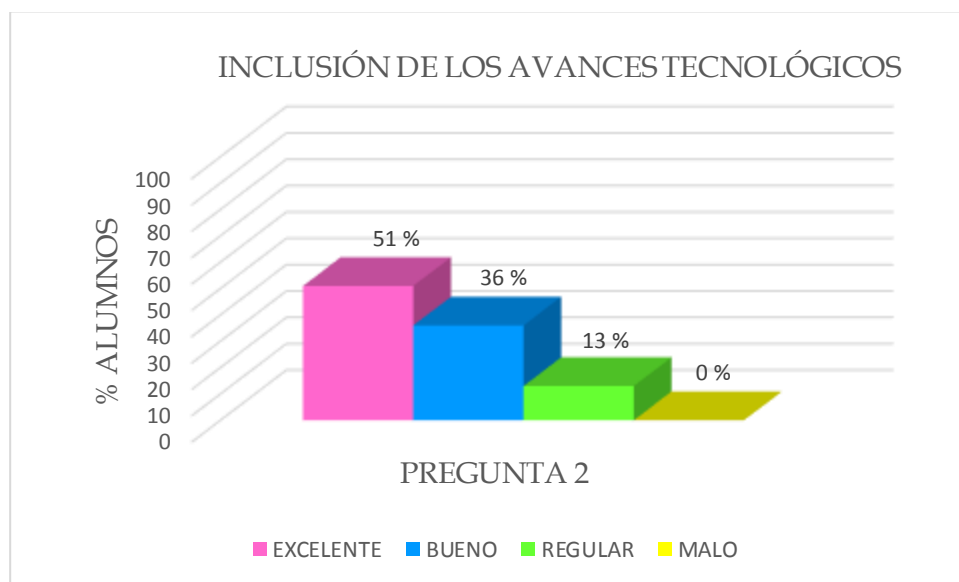
LAS NUEVAS PRÁCTICAS PARA MICROBIOLOGÍA MÉDICA: UN ENFOQUE POR ANATOMÍA HUMANA

CUADRO 1 Resultados obtenidos de la aplicación del cuestionario a los alumnos del módulo de Microbiología Médica.

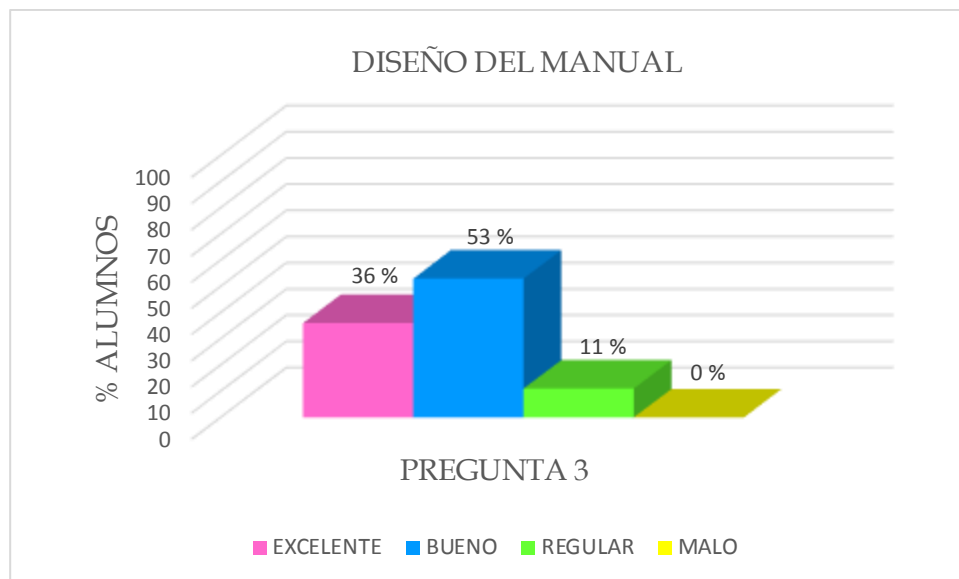
CALIFICACIÓN									
PREGUNTAS	EXCELENTE		BUENO		REGULAR		MALO		% TOTAL
	FRECUENCIA	%	FRECUENCIA	%	FRECUENCIA	%	FRECUENCIA	%	
1	14	31	26	58	5	11	0	0	100
2	23	51	16	36	6	13	0	0	100
3	16	36	24	53	5	11	0	0	100
4	9	20	31	69	5	11	0	0	100
5	17	38	22	49	6	13	0	0	100
6	5	11	26	58	12	27	2	4	100
7	6	13	24	54	15	33	0	0	100
8	18	40	21	47	6	13	0	0	100
9	9	20	29	64	7	16	0	0	100



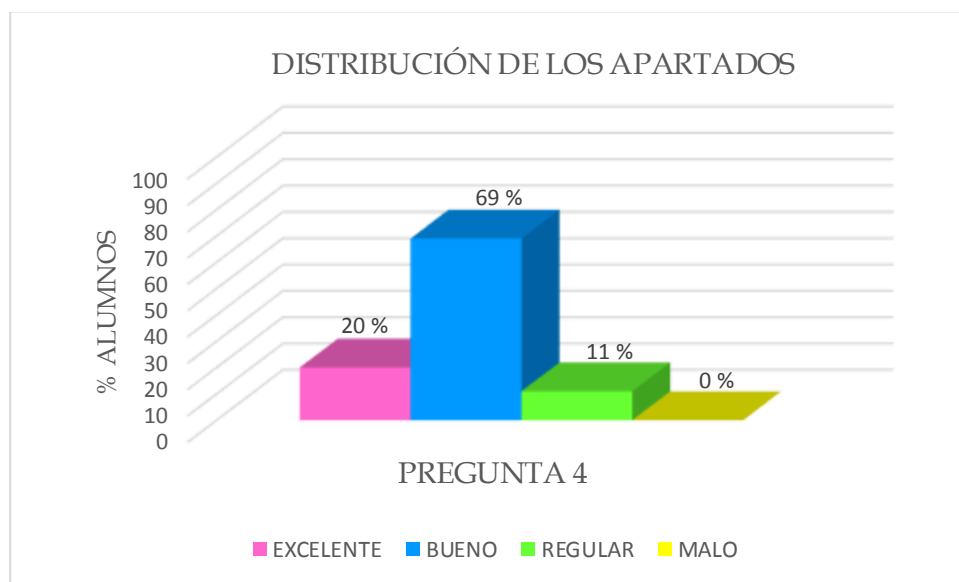
GRÁFICA 1. Se puede observar que el 89% consideran de bueno a excelente la inclusión de dichos aspectos. Cabe señalar que ningún alumno lo calificó como malo.



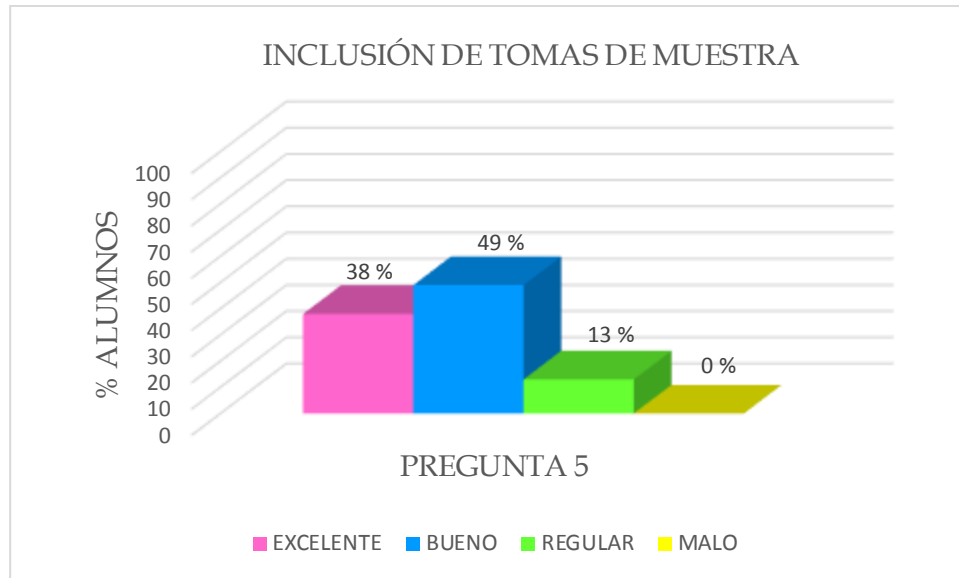
GRÁFICA 2. Podemos observar que el 87% de los alumnos consideraron de bueno a excelente la inclusión de avances tecnológicos. Es importante mencionar que ningún alumno lo consideró como malo.



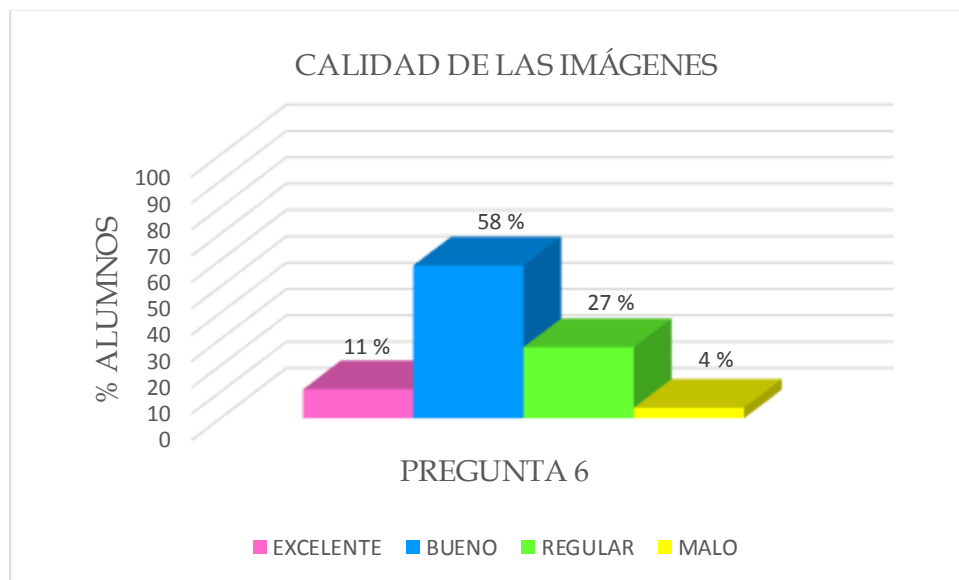
GRÁFICA 3. Como podemos observar en esta gráfica el 89% de los alumnos consideran de bueno a excelente el diseño del manual. Es relevante señalar que ningún alumno lo considero como malo.



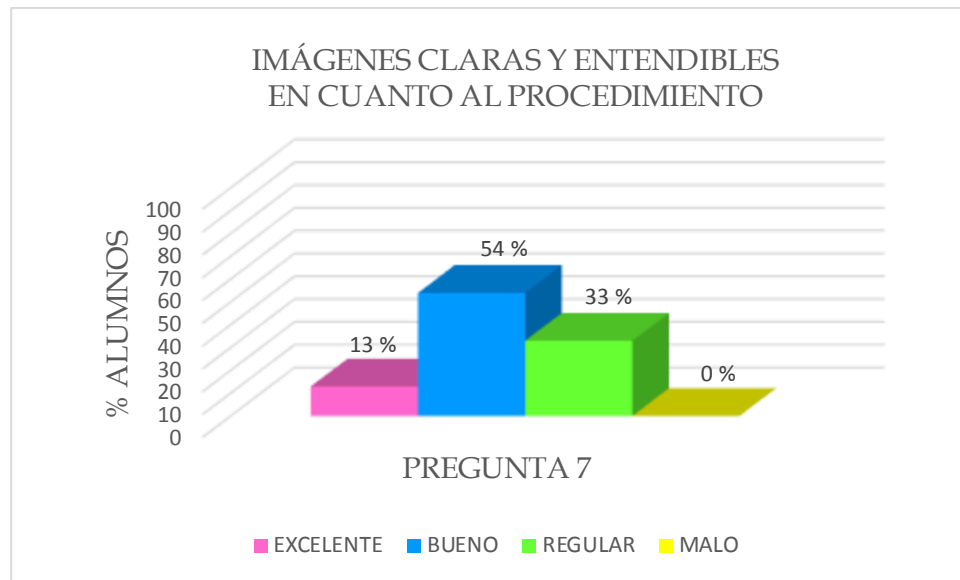
GRÁFICA 4. Se observa que el 89% de los alumnos consideran de bueno a excelente la distribución de los apartados por los cuales está conformado el manual. Es importante señalar que ningún alumno lo considero como malo.



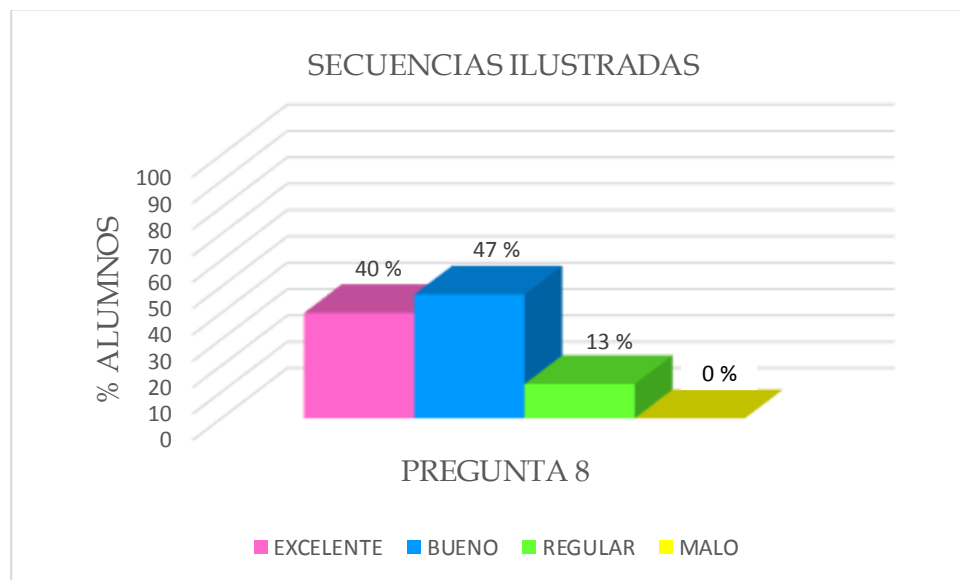
GRÁFICA 5. Como se puede observar en la gráfica, el 87% consideró de bueno a excelente la inclusión de tomas de muestra. Cabe señalar que ningún alumno lo consideró como malo.



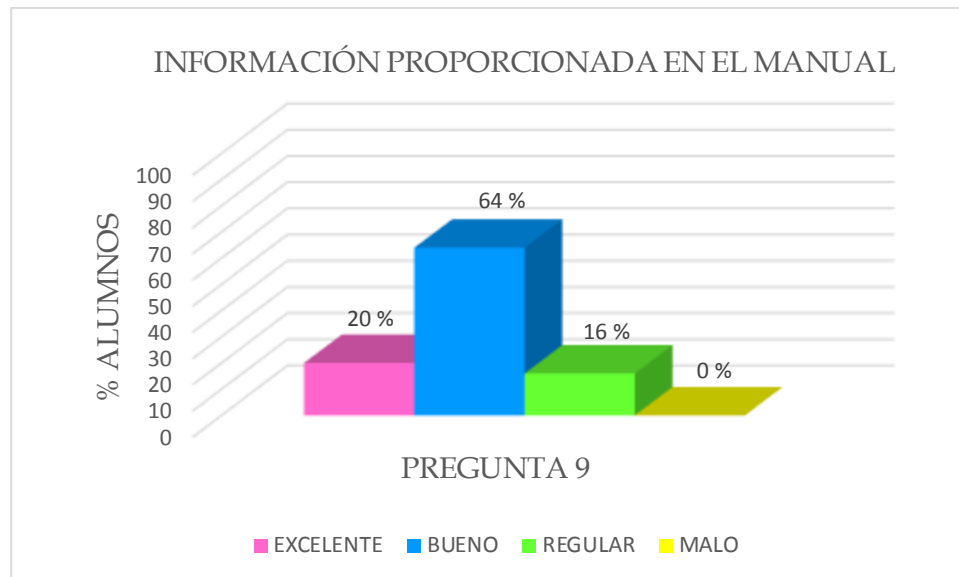
GRÁFICA 6. En esta gráfica podemos observar que el 69% de los alumnos del módulo de Microbiología Médica consideraron de bueno a excelente la calidad de las imágenes por las cuales está conformado el manual. Sin embargo, el 4% de los alumnos lo consideró como malo.



GRÁFICA 7. Podemos observar que el 67% consideraron de bueno a excelente las imágenes, ya que son claras y entendibles en cuanto al procedimiento a realizar. Es importante resaltar que ningún alumno lo considero como malo.



GRÁFICA 8. Se puede observar que el 87% de los alumnos consideran de bueno a excelente las secuencias ilustradas con fotografías originales. Es importante mencionar que ningún alumno lo consideró como malo.

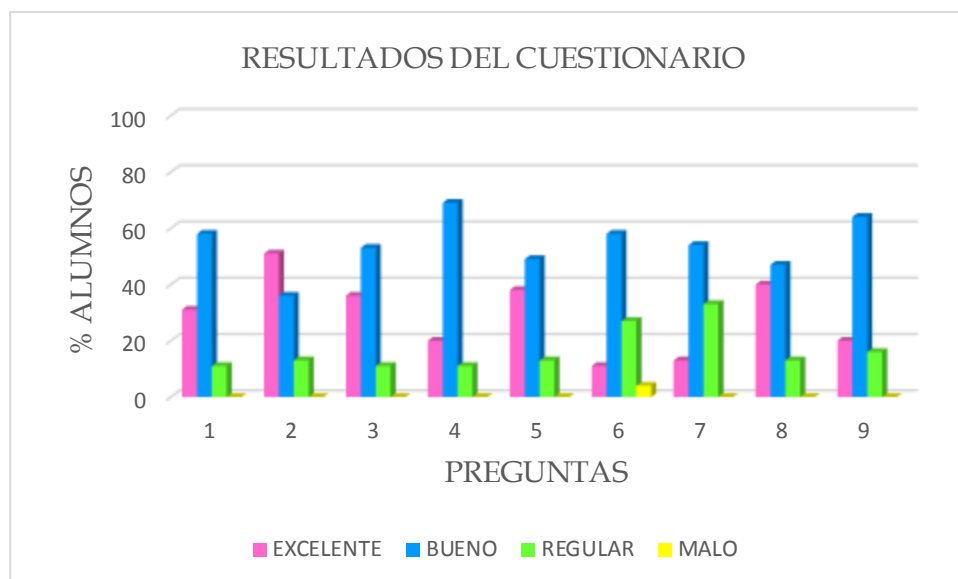


GRÁFICA 9. En esta gráfica, el 84% de los alumnos consideraron de bueno a excelente la información proporcionada en el manual. Es importante señalar que ningún alumno lo consideró como malo.

PREGUNTA 10. De acuerdo a tus observaciones. ¿Qué propondrías para mejorar el manual?

- ❖ Incluir imágenes de crecimiento de microorganismos en los medios cromogénicos.
- ❖ Mejorar la calidad de las imágenes.
- ❖ Incluir un cuestionario de evaluación.
- ❖ Incluir más referencias bibliográficas y páginas actualizadas.
- ❖ Incluir tipos de cepas más comunes y que se cuente con la cepa para la práctica.
- ❖ Colocar imágenes de resultados posibles de cada práctica, así como de la flora normal.
- ❖ Que el manual este disponible en forma electrónica.
- ❖ Referenciar cada procedimiento tanto en tomas de muestra como técnicas microbiológicas.
- ❖ Que las imágenes sean más grandes.
- ❖ Que se realicen videos de los procedimientos en donde se utilizan los simuladores anatómicos.

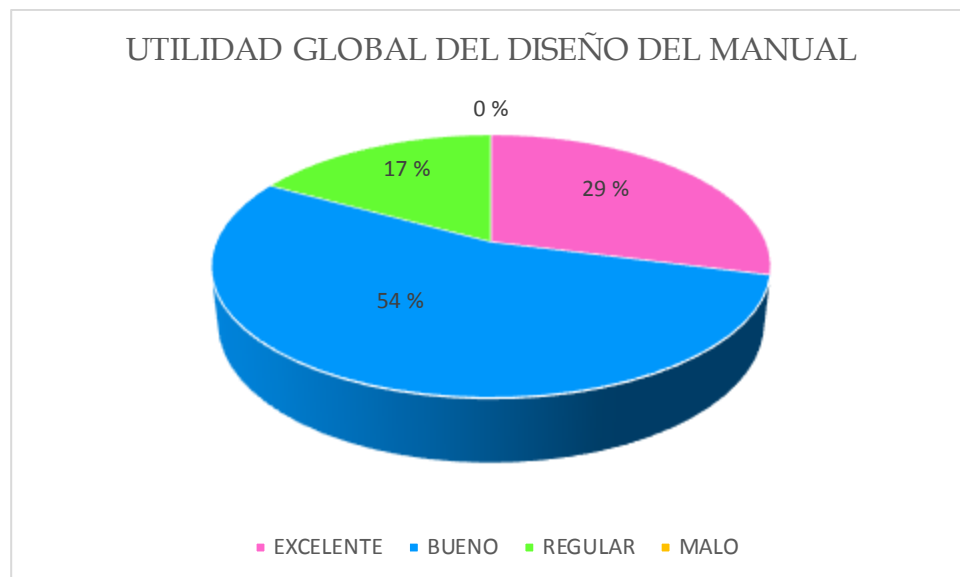
TABLA 1 Se observa la última pregunta que contempla el cuestionario, esta fue abierta y los alumnos plantearon algunas observaciones y/o propuestas que posteriormente se tomarán en cuenta para la mejora del manual.



GRÁFICA 10. En esta gráfica se muestran los resultados en conjunto de las 9 preguntas aplicadas a 45 alumnos del módulo de Microbiología Médica, como podemos observar la mayoría tienen una aceptación de bueno a excelente por parte de los alumnos.

PREGUNTAS	CALIFICACIÓN							
	EXCELENTE		BUENO		REGULAR		MALO	
	FRECUENCIA		FRECUENCIA		FRECUENCIA		FRECUENCIA	
1	14	31%	26	58%	5	11%	0	0%
2	23	51%	16	36%	6	13%	0	0%
3	16	36%	24	53%	5	11%	0	0%
4	9	20%	31	69%	5	11%	0	0%
5	17	38%	22	49%	6	13%	0	0%
6	5	11%	26	58%	12	27%	2	4%
7	6	13%	24	54%	15	33%	0	0%
8	18	40%	21	47%	6	13%	0	0%
9	9	20%	29	64%	7	16%	0	0%
TOTAL	117		219		67		2	
%	29		54		17		0	
TOTAL DE ALUMNOS	45							

CUADRO 2 Se puede observar que a partir de las frecuencias obtenidas para las 9 preguntas del cuestionario se obtuvo un porcentaje para cada una de las calificaciones y con ello se observa a manera de resumen la utilidad global del diseño del manual.



GRÁFICA 11. En esta gráfica podemos observar que el 83% de los alumnos tienen una aceptación de buena a excelente en el diseño del manual. Es relevante destacar que los alumnos no lo consideraron como malo.

Es importante mencionar los resultados de la validación individual de las nueve prácticas que fueron recabadas del instrumento (cuadro 3). La aceptación total de las nueve prácticas fue del 91.1%.

NOMBRE DE LA PRÁCTICA	% ACEPTACIÓN DE ALUMNOS
Urocultivo	93
Exudado vaginal	80
Exudado uretral	90
Hemocultivo	100
Coprocultivo	97
Exudado ótico	93
Exudado nasofaríngeo	88
Exudado faríngeo	87
Aislamiento de hongos en uñas	92

Cuadro 3 Prácticas diseñadas y elaboradas con el enfoque actual.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las prácticas recopiladas con la perspectiva por órganos y sistemas del cuerpo humano para la realización del manual de prácticas para el módulo de Microbiología Médica se elaboraron de modo que las muestras biológicas sean obtenidas por el Q.F.B., dado que en el campo laboral es imprescindible tener la habilidad para desarrollar las diferentes técnicas dependiendo del examen requerido. Al respecto, es importante mencionar que en el manual de prácticas vigente no se había tenido en consideración tener un apartado que enseñará a los estudiantes a realizar la toma de muestra, más bien los profesores guiaban a los alumnos cuando efectuaban dichas técnicas.

Por lo tanto, la toma de muestra correcta es importante porque a partir de ella podemos obtener un acertado diagnóstico microbiológico a fin de apoyar al médico en la confirmación diagnóstica y la elección de la terapia antimicrobiana en beneficio del paciente. Además se debe tener en cuenta que para obtener el máximo rendimiento en los exámenes microbiológicos, se debe acortar al mínimo el tiempo entre la extracción de la muestra y su posterior siembra en el medio de cultivo específico en el laboratorio.

Por otro lado, es importante mencionar que la inclusión de los avances tecnológicos como lo son: medios cromogénicos y sistemas miniaturizados API 20, es otro aspecto que no se había considerado con anterioridad en las prácticas del módulo de Microbiología Médica. Actualmente en el manual solo aparece el método tradicional en el cual se muestra a grosso modo el procedimiento a realizar, en el manual por anatomía humana podemos observar incluso los materiales, la cantidad de muestra requerida, la forma de preparación de los reactivos y pruebas requeridas. Dichos avances cuentan con ventajas como son: disminución en la cantidad de muestra requerida para la prueba, menor tiempo en la identificación y diagnóstico microbiológico, así como, reducción en la cantidad de residuos peligrosos biológico infecciosos que se producen en el laboratorio; esto en comparación con los métodos tradicionales utilizados en el manual de prácticas vigente.

Así mismo, el uso de simuladores anatómicos femenino y masculino los cuales proporcionan al alumno las destrezas necesarias, de tal manera que, cuando se enfrente al ámbito profesional tenga la capacidad de desempeñar adecuadamente los procedimientos que tienen inconvenientes para realizarlos en pacientes reales. De igual manera, el empleo de simuladores anatómicos es nuevo, así como las prácticas en donde fueron utilizados, estas son; exudado vaginal y exudado uretral, en las cuales es importante tener esta representación, ya que los exámenes son efectuados en zonas muy delicadas y por lo tanto, hay que tener extremo cuidado y provocar la menor molestia posible en los pacientes.

De mismo modo, emplear cepas ATCC es relevante para tener un control de calidad en dichas técnicas microbiológicas.

Cabe destacar, que la realización de un manual electrónico es un formato novedoso, ya que no se había tomado en consideración en dicho módulo. Al crear un manual con dicho formato tiene como finalidad que pueda ser consultado en plataformas digitales, sea descargable y además los alumnos puedan imprimir solo las partes que requieren de las prácticas o la totalidad del manual dependiendo de las necesidades académicas de cada estudiante.

Por otra parte, la aceptación del manual de prácticas por anatomía humana para el módulo de Microbiología Médica fue del 83%, mientras que la aceptación total de las nueve prácticas validadas de forma individual fue de 91%, como podemos observar, es mayor el porcentaje en las prácticas validadas individualmente, esto puede deberse a que en el momento en que los alumnos observaron las prácticas y realizaron dicha encuesta les pareció una propuesta útil, novedosa e interesante, pero al recibir la información y efectuar el cuestionario los estudiantes percibieron que tiene algunas mejoras.

Esto, se puede deducir por las respuestas de la pregunta 10, en la cual tienen distintas observaciones y/o sugerencias como son: incluir imágenes de crecimiento de microorganismos en los medios de cultivo del método moderno, posibles resultados y de la flora normal que podemos encontrar en los diferentes órganos y sistemas del cuerpo humano; cabe mencionar que el manual contiene algunas imágenes pero los alumnos consideraron que falta agregar más ejemplos, estas observaciones se considerarán en la siguiente edición del manual.

Otra recomendación fue agrandar y mejorar la calidad de las fotografías, además incluir un cuestionario de evaluación, referencias bibliográficas actualizadas y referenciar los procedimientos de las tomas de muestra. De acuerdo con lo anterior, se tomarán en cuenta dichas propuestas para enriquecer el contenido del manual en la siguiente edición.

Es importante mencionar, que el presente manual será de mucha utilidad como recurso informativo, ilustrativo y de enseñanza, en la formación de los alumnos del área de Bioquímica Clínica. También para los profesores del laboratorio de Microbiología y profesionales en ciencias de la salud les servirá como texto de consulta y referencia e incluso a los pacientes que les interese conocer la manera en la cual debe realizar la toma de muestra y/o a lo que se someterá durante el estudio que requiera. Cabe resaltar, el aspecto valioso de la información es que tiene un enfoque actual de los procesos habituales de laboratorio, lo que permite enfrentar el reto de manejar pruebas más sensibles, específicas y efectivas en el monitoreo de la salud y la enfermedad y por lo tanto la posibilidad de obtener resultados a tiempo y el costo-beneficio que representa.

Es por ello, que el QFB recurre al laboratorio de microbiología con el único propósito de obtener resultados confiables y en el menor tiempo posible.

Es importante mencionar que el manual vigente, señala los pasos a seguir en forma de lista y de manera general; lo cual, en comparación con el manual por anatomía humana podemos observar los materiales y como deben utilizarse; técnicas convencionales y modernas para el diagnóstico de algunas de las enfermedades infecciosas más frecuentes; cada paso a realizar es ejemplificado con fotografías originales.

Además se hace énfasis en los procedimientos a seguir desde la etapa inicial que es la toma de muestra con imágenes a color; lo cual no había sido tomado en cuenta en el manual vigente y es una fase decisiva en el aislamiento, identificación y diagnóstico. También contiene pruebas de susceptibilidad de los microorganismos involucrados, tablas de identificación del método miniaturizado API 20 que sirve de ayuda para reconocer los resultados de las pruebas y así registrarlos correctamente en los formatos de reporte de resultados.

Además, las metodologías descritas se presentan en una forma clara y sencilla, su presentación gráfica en forma de fotografías a color facilita la comprensión global de las técnicas utilizadas para el diagnóstico microbiológico. Lo antes mencionado no había sido tomado en consideración en el manual de prácticas vigente, lo cual hace que el manual de prácticas por anatomía humana sea sobresaliente, ya que las capacidades del laboratorio del módulo de microbiología médica se están ampliando y perfeccionando, gracias a los avances tecnológicos, lo que ha permitido introducir nuevos métodos diagnósticos en la práctica clínica.

Otro aspecto importante, dada la trascendencia que los informes de laboratorio pueden tener para la atención al paciente, resulta evidente que se debe disponer de un sistema que asegure la calidad de sus resultados; por ello, se tomó en cuenta dicho aspecto en el manual de prácticas por anatomía humana y se distribuyeron en cada una de las nueve prácticas en fase preanalítica, analítica y postanalítica como control de calidad, lo cual en el manual vigente no fue contemplado.

Además la incorporación temas de bioseguridad y residuos peligrosos biológico infecciosos, son aspectos nuevos que tienen la finalidad de promover las buenas prácticas de laboratorio en la manipulación de fluidos biológicos, así como, educar al alumno y a las personas que se encuentren dentro del laboratorio para minimizar los riesgos que puedan ocurrir.

Es relevante decir que, en los manuales que se encuentran al alcance de los estudiantes hoy en día, no existe ninguno que contenga información tan detallada y explícita; así como una colección de imágenes originales a color que le indique al alumno lo que tiene que realizar paso por paso, esto lo hace un material de apoyo incomparable.

9. CONCLUSIONES

Se realizó la agrupación de las nuevas prácticas con un enfoque por anatomía humana. Cada práctica incluye secuencias ilustradas con fotografías originales de los procedimientos tradicional y moderno, de modo que para el alumno sea más claro y entendible para que le permita integrar y aplicar los conocimientos aprendidos en su futura profesión y permita dar diagnósticos microbiológicos confiables.

Además se incorporaron los avances tecnológicos utilizados en microbiología como son medios cromogénicos, sistemas API 20, cepas ATCC y simuladores anatómicos. Además de procedimientos ilustrados para las técnicas de toma de muestra lo cual proporciona al alumno las bases y conocimientos necesarios para que este, realice la identificación y diagnóstico microbiológico en su quehacer profesional.

Y aunque los procedimientos convencionales de identificación de microorganismos que consisten en observación de características físicas y tintoriales (morfología colonial, tinción de Gram) y de reacciones bioquímicas han sido muy beneficiosos; es un gran avance que en la actualidad, se cuente con metodologías de identificación microbiológica más rápida, utilizando menor cantidad de muestra para la prueba y generando menos RPBI que la convencional.

Dicho lo anterior, tiene la finalidad de reforzar el método de enseñanza y aprendizaje del módulo de Microbiología Médica, relacionando y generando nuevos conocimientos y por lo tanto, egresen mejor preparados para enfrentarse al campo laboral y desempeñen las funciones que se le soliciten en el laboratorio clínico.

Por otra parte, se realizó la digitalización en formato electrónico del manual de prácticas, el cual se puede consultar, descargar e imprimir, esto; en base al interés de cada estudiante. Dicho formato le permite al alumno contar con una herramienta innovadora, que sea de apoyo en el aprendizaje en las tomas de muestra y técnicas microbiológicas, y así tener los conocimientos con antelación a la realización de las prácticas.

En base a lo anterior, la microbiología médica está cambiando rápidamente en los últimos tiempos, como respuesta a la evidencia tecnológica de contar con información de manera anticipada, así como la necesidad del laboratorio de hacer sus procesos más eficientes. Esto implica a su vez, la exigencia de una adaptación de los alumnos a las nuevas tecnologías, interpretando correctamente los resultados obtenidos en la identificación microbiológica.

Otro elemento importante a considerar en toda actividad práctica que no hay que olvidar, es la necesidad de conocer las medidas de seguridad que deberán cumplir los alumnos y toda persona involucrada en el proceso de laboratorio de microbiología médica, es por ello que se determina la inclusión de temas sobre bioseguridad, control de calidad y residuos peligrosos biológico infecciosos, a fin de inculcar una cultura de protección frente a los riesgos que existen al trabajar con muestras biológicas.

Por otra parte, respecto a la validación del manual, cabe señalar que la aceptación por parte de los alumnos del módulo de Microbiología Médica fue mayor del 80 %. Sin embargo, la aceptación total de las prácticas validadas individualmente fue del 91% y aunque evidentemente este último porcentaje es mayor que el primero, se determina la aprobación por parte de los alumnos del módulos de Microbiología Médica del manual de prácticas con un enfoque por anatomía humana, así como la incorporación de los avances tecnológicos que existen para la identificación y diagnóstico microbiológico y la inclusión de tomas de muestra.

El presente manual de prácticas sirve de orientación para integrar los elementos que conformarán la guía de ejecución de un total de nueve prácticas. Así, el manual podrá ser utilizado en el proceso de laboratorio como un medio didáctico que proporcione información sobre el tema en estudio, procedimientos y/o técnicas, coadyuve a corregir errores y ofrezca al alumno mediante la observación y experimentación obtener y comprender los resultados obtenidos.

10. PERSPECTIVAS

A partir de los resultados y discusiones presentados en esta tesis, las perspectivas para mejorar el manual en ediciones futuras serían, aumentar el tamaño y la calidad de las imágenes para que puedan apreciarse mejor tanto en formato electrónico, como en impresión en papel, en caso de que los alumnos así lo deseen. Además de que con ello se podrá observar con mayor claridad el procedimiento a realizar en cada una de las técnicas en tomas de muestra, así como en las pruebas microbiológicas.

Además, sería importante ampliar la información proporcionada en el manual, sobre las características de los agentes patógenos e incorporando diversas imágenes de la apariencia de los microorganismos en el método moderno; es decir, en los medios cromogénicos de modo que les facilite a los estudiantes la observación y reconocimiento del hongo o bacteria del que se trate para un confiable diagnóstico microbiológico.

Además de fotografías de la microbiota normal del cuerpo humano, esto con la finalidad de que los estudiantes puedan aislar, reconocer y diferenciar a los diversos microorganismos y valorar de forma cuidadosa cuales son habitantes normales de ese sitio y cuáles no. Así como, imágenes de los posibles resultados que pueden existir dependiendo de la práctica de la que se trate y que tengan una idea más clara de lo que pueden hallar al concluir la práctica.

Otra observación importante, además de las ya mencionadas es, incluir los tipos de cepas más comunes que afecten al órgano o sistema del que se trate y por lo tanto que se cuente con la cepa para la práctica correspondiente, y los alumnos tengan el conocimiento de los microorganismos que se estudiarán en ella.

Los alumnos consideraron relevante, incorporar mayor cantidad de referencias bibliográficas y páginas de internet actualizadas y por consiguiente, cada procedimiento y/o técnica microbiológica sea referenciada, y así los estudiantes puedan examinar la información contenida en el manual.

Cada una de las observaciones serán consideradas en las siguientes ediciones del manual, el cual cada vez seguirá enriqueciendo su contenido con el propósito, de que los alumnos cuenten con un material de apoyo para las prácticas del módulo de Microbiología Médica, que les proporcione mayor información en forma detallada, de manera que les permita realizar dichas prácticas con seguridad y conocimiento, y por consiguiente, obtener los resultados deseados.

11. REFERENCIAS

1. Bio – Rad Laboratories [Internet]. R. Neill Carey; c2008 [actualizado 2008 Oct 09; citado 2016 May 17]. Sistemas de control de calidad básico e intermedio para el laboratorio clínico; [aprox. 10 páginas]. Disponible en: http://www.qcnet.com/Portals/60/PDFs/BasicQCBklt_Sp_May11.pdf
2. Vives JL, Aguilar JL. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. 3ª ed. España: Elsevier; 2006.
3. Técnicos superiores sanitarios [Internet]. [citado 2016 May 17]. Control de calidad; [aprox. 1 página]. Disponible en: http://perso.wanadoo.es/sergioram1/control_de_calidad.htm
4. Bioseguridad en el laboratorio clínico [Internet]. c2004 [citado 2016 Feb 20]; [aprox. 10 páginas]. Disponible en: http://www.med.ufro.cl/Recursos/Bioquimica-offline/Apuntes/clinica1/bioseguridad_imp.pdf
5. Uline [Internet]. México: Uline especialistas en material de empaque; c1996-2015 [actualizado 2016 Feb 01; citado 2016 Ene 20]. Guantes; [aprox. 2 pantallas]. Disponible en: http://es.uline.mx/Cls_30/Gloves
6. Equipos, herramientas y seguridad industrial S.A de C.V. [Internet]. México: Empresa EHSI; [citado 2016 Ene 20]. Servicio médico; [aprox. 6 pantallas]. Disponible en: <http://www.equipo.com.mx/listados.php?c1=7&c2=81>
7. Aislinn productos de limpieza [Internet]. México: Aislinn químicos; [citado 2016 Ene 20]. Cubrebocas plizado; [aprox. 2 pantallas]. Disponible en: http://www.aislinn.com.mx/product_info.php?products_id=215
8. AliExpress [Internet]. Ali Express; c2010-2015 [citado 2015 Nov 20]. Recursos educativos; [aprox. 8 pantallas]. Disponible en: <http://es.aliexpress.com/item/lab-safety-goggles-eye-shield-laboratory-equipment/682913065.html>
9. Guía para el manejo de los residuos peligrosos biológico infecciosos en unidades de salud [Internet]. c2009 [citado 2015 Nov 20]; [aprox. 31 páginas]. Disponible en: http://www.promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/influenza/mat/Guia_manejo_de_residuos_biologicos.pdf
10. Errores históricos [Internet]. Errores históricos; c2015 [actualizado 2015 Sept 09; citado 2016 Ene 20]. El origen del símbolo riesgo biológico; [aprox. 1 página]. Disponible en: <http://www.erroreshistoricos.com/curiosidades-historicas/ciencia/1846-el-origen-del-simbolo-riesgo-biologico.html>

11. Ecología Jalisco [Internet]. Ecología Jalisco; c2016 [citado 2016 Ene 20]. Insumos; [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: http://ecologiajalisco.mex.tl/142844_insumos.html
12. Koneman EW. Diagnóstico microbiológico. 5ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 1999.
13. De medicina [Internet]. Demedicina.com; c2016 [actualizado 2012 Mar 15; citado 2016 Ene 20]. Pruebas de orina; [aprox. 1 página]. Disponible en: <http://demedicina.com/pruebas-de-orina/>
14. Blogspot [Internet]. Rocío Reyes Romero; c2012 [actualizado 2012 Mar 18; citado 2016 Ago 19]. Determinación del grupo sanguíneo; [aprox. 12 pantallas]. Disponible en: http://rocioreyesromero.blogspot.mx/2012/03/v-behaviorurldefaultvmlo_18.html
15. Zelian equipamiento de laboratorio [Internet]. Argentina: Zelian SA; [citado 2016 Ene 20]. Frascos; [aprox. 5 pantallas]. Disponible en: <http://www.zelian.com.ar/index.php/catalogo/plastico/envases/frascos/?page=4&page=7>
16. Laboratorio Cemedic [Internet]. Perú: Cemedic; [citado 2016 Ene 20]. Catálogo de frascos; [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: <http://www.laboratoriocemedic.com/frascos.html>
17. Técnico laboratorista clínico [Internet]. Rosa Ili Zúñiga; [actualizado 2011 May 30; citado 2016 Ene 20]. Etapa preanalítica, analítica y postanalítica; [aprox. 15 pantallas]. Disponible en: <http://zunigamartinez.blogspot.mx/2011/05/etapa-preanalitica-analitica.html>
18. Es lo cotidiano [Internet]. México: Leopoldo Navarro; c2015 [actualizado 2015 Ene 27; citado 2016 Ene 20]. La SSG impulsa el Laboratorio Estatal de Salud Pública; [aprox. 1 página]. Disponible en: <http://www.eslocotidiano.com/articulo/sociedad/ssg-impulsa-laboratorio-estatal-salud-publica/20150127163323016638.html>
19. Bienestar 180 el sitio que mejora tus hábitos de vida [Internet]. Consuelo Hernández; c2012 [actualizado 2012 Jun 11; citado 2016 Ene 20]. Orina revela nivel de hidratación; [aprox. 14 pantallas]. Disponible en: <http://bienestar.salud180.com/salud-dia-dia/orina-revela-nivel-de-hidratacion>
20. Jawetz, Melnick, Adelberg. Microbiología médica. 19ª ed. Madrid: El manual moderno SA de CV; 2008.
21. Mushroom observer [Internet]. Tom Volk; c2009 [actualizado 2010 Abr 11; citado 2016 Ene 20]. *Microsporium gypseum*; [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: http://mushroomobserver.org/name/show_name/16497
22. Study droid [Internet]. [citado 2016 Ene 20]. Superficial & Subcutaneous mycoses; [aprox. 11 pantallas]. Disponible en: <https://studydroid.com/printerFriendlyViewPack.php?packId=476045>

23. How Med [Internet]. c2015 [actualizado 2013 Ago 23; citado 2016 Ene 20]. Cutaneous mycoses; [aprox. 9 pantallas]. Disponible en: <http://howmed.net/microbiology/cutaneous-mycoses/>
24. Arenas Guzmán R. 2ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana editores; 2003.
25. Lennette EH. Manual de microbiología clínica. 4ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1991.
26. LagriHost [Internet]. c2002-2016 [actualizado 2015 Sep 14; citado 2016 Ene 20]. Mis amígdalas y la cebolla; [aprox. 10 pantallas] <https://foro.lagrihost.com/tema-mis-amigdalas-y-la-cebolla>
27. Escuelapedia información didáctica [Internet]. c2016 [actualizado 2014 Feb 22; citado 2016 Ene 20]. La faringe; [aprox. 12 pantallas]. Disponible en: <http://www.escuelapedia.com/la-faringe/>
28. Duerden B.I. Microbiología de Enfermedades Infecciosas. México: Limusa SA de CV; 1993.
29. García Monroy L. Sistema urogenital. México; 1987.
30. W. W. Norton and Company, Inc [Internet]. C2010 [citado 2016 Ene 20]. Etopics Diphtheria Toxin; [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: <http://www.wwnorton.com/college/biology/microbiology2/ch/25/etopics.aspx>
31. Taylor da Cunha e Mello ML, Giono Cerezo S, Haro Arteaga I de, et al. Guía de bacteriología médica. México: McGraw-Hill Interamericana editores; 2007.
32. Latarjet M, Ruiz Liard A. Anatomía humana. 4ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 2007.
33. Equaphon university [Internet]. Facundo Ramón; c2016 [actualizado 2014 Nov 13; citado 2016 Ene 20]. ¿Cómo proteger nuestros oídos?; [aprox. 1 página]. Disponible en: <http://www.equaphon-university.net/como-proteger-nuestros-oidos/>
34. García Rodríguez JA, Picazo JJ. Microbiología médica. España: Harcourt Brace; 1998.
35. Laicos.org [Internet]. [actualizado 2010 Mar 11; citado 2016 Ene 20]. Gastroenteritis o infección intestinal; [aprox. 1 página]. Disponible en: <http://www.laicos.org/gastroenteritisoinfeccionintestinal.htm>
36. Skinsight [Internet. Logical Images; c2006-2013 [citado 2016 Ene 20]. Foodborne/Waterborne diseases; [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: <http://www.skinsight.com/diseaseGroups/foodborneDiseases.htm>
37. García Rodríguez JA, Picazo JJ. Compendio de microbiología médica. Madrid: Harcourt; 2000.

38. Oppenheim IA. Manual para técnicos de laboratorio. México: Médica Panamericana; 1988.
39. IntraMed [Internet]. Dra. Alejandra Coarasa; c1997-2016 [actualizado 2015 Ene 16; citado 2016 Ene 20]. Hematuria y proteinuria en niños; [aprox. 18 pantallas]. Disponible en: <http://www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoID=78859>
40. Forbes B. Diagnóstico Microbiológico Bailey y Scott. 11ª Ed. Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2004.
41. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid: Médica Panamericana; 2006
42. Zaragoza Crespo R, Gimeno Cardona C, Pemán García J, et al. Microbiología aplicada al paciente crítico. Madrid: Médica Panamericana; 2008.
43. Sherris JC. Microbiología médica una introducción a las enfermedades infecciosas. México: McGraw-Hill Interamericana editores; 2005.
44. Murray PR, Drew LW, Kobayashi GS, et al. Microbiología médica. Madrid: Mosby-Doyma; 1992.
45. Lynch MJ. Métodos de laboratorio. 2ª ed. México: Nueva editorial Interamericana; 1977.
46. Aula virtual [Internet]. [actualizado 2003 Mar 03; citado 2016 Ene 20]. Métodos de estudio de los microorganismos; [aprox. 5 páginas]. Disponible en: http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/microbiologia/unidades/documen/uni_02/56/cap309.htm
47. Virus usal [Internet]. [citado 2016 Ene 20]. Aislamiento e identificación de *Shigella*; [aprox. 1 página]. Disponible en: http://virus.usal.es/web/demo_fundacua/demo1/shigella.html#g
48. FVTE [Internet]. [actualizado 2015 Abr 09; citado 2016 Ene 20]. Medios de cultivo y métodos de siembra; [aprox. 26 páginas]. Disponible en: <http://www.fvet.edu.uy/sites/default/files/microbiolog%C3%ADa/medios%20y%20siembra%20%5BModo%20de%20compatibilidad%5D.pdf>
49. Cowan ST. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. 2ª ed. México: Continental; 1979.
50. UCV [Internet]. c2010 [actualizado 2010 Jul 21; citado 2016 Ene 20]. Sistemas miniaturizados API ®; [aprox. 5 páginas]. Disponible en: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_SistemasAPI.pdf
51. Medios cromogénicos [Internet]. c2009 [citado 2015 Nov 20]. [aprox. 32 páginas]. Disponible en: <https://docs.google.com/presentation/d/1NnHKuMQphqXv5DhdNd6w9rDs1eCsiz0K-PrayPPXSs/edit?pli=1#slide=id.i193>

52. SlideShare [Internet]. c2016 [actualizado 2012 Ago 09; citado 2016 Ene 20]. bioMérieux – catálogo de placas y medios de cultivo; [aprox. 42 páginas]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/degarden/biomrieux-catalogo-de-placas-y-medios-de-cultivo>
53. Cabero L. Manual para tutores de MIR. España: Médica panamericana; 2007.
54. Tecnología educativa [Internet]. [citado 2016 May 17]. Urología; [aprox. 1 página]. Disponible en: <http://tecnoedu.com/3b/Urologia.php>
55. Revista de Universidad y Sociedad del Conocimiento [Internet]. Edgar Tello Leal; c2007 [actualizado 2008; citado 2017 Abr 21]. Las tecnologías de la información y comunicaciones (TIC) y la brecha digital: su impacto en la sociedad de México; [aprox 8 páginas]. Disponible en: <http://www.uoc.edu/rusc/4/2/dt/esp/tello.pdf>
56. Aprende en línea plataforma académica para investigación [Internet]. [actualizado 2015 Abr 8; citado 2017 Abr 21]. Las TIC como apoyo a la educación; [aprox 1 página]. Disponible en: <http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/investigacion/mod/page/view.php?id=3118>
57. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo [Internet]. José Juan Arista Hernández; c2012 [actualizado 2016 Sep 07; citado 2017 Abr 21]. Tecnologías de la información y la comunicación (TIC) aplicadas a la docencia; [aprox 15 pantallas]. Disponible en: <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa2/n1/e1.html>
58. Educación digital [Internet]. Fiona Miller; c2016 [actualizado 2017 Abr 25; citado 2017 May 04]. Beneficios y ventajas de los libros electrónicos; [aprox 9 pantallas]. Disponible en: <http://educacion.digital/beneficios-y-ventajas-de-los-libros-electronicos/>