



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



Química Farmacéutico Biológica

Área Bioquímica Clínica

# **Manual de Bacteriología y Micología Médicas**

**APROBADO POR EL COMITÉ ACADÉMICO DE CARRERA  
6 de marzo de 2020**



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/2020</b>	1	<b>2/320</b>

Manual de Bacteriología y Micología Médicas  
ISBN 978-970-32-4982-4

Aprobado por el Comité Académico de la Carrera de Química Farmacéutico  
Biológica.  
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza  
Universidad Nacional Autónoma de México

Esta obra fue financiada por el Programa de Apoyo a Proyectos Institucionales  
Para el Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) Proyecto PE 204706



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	3/320

# MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y MICOLOGÍA MÉDICAS

SGC-FESZ-QFB-ML26

Área Bioquímica Clínica

## **Autores**

M. en C. Araceli García del Valle  
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán  
M. en C. Roberto Cruz González Meléndez  
Edición: M. en C. Margarita Cruz Millán

## **Revisión a formato SGC**

M. en C. Araceli García del Valle  
Mtro. Roberto Cruz González Meléndez  
Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán  
M. en C. Margarita Cruz Millán  
Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez  
Q.F.B. Georgina Bermejo Torres

APROBADO POR EL COMITÉ ACADÉMICO DE CARRERA  
6 DE MARZO DE 2020



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	4/320

## ÍNDICE

### Prólogo

### Presentación

### Objetivo

#### Piel y músculo esquelético

Introducción

Práctica no. 1. Familia *Micrococcaceae*

Práctica no. 2. Género *Streptococcus*

Práctica no. 3. Familia *Pseudomonadaceae*

Práctica no. 4. Género *Bacillus*, Género *Clostridium*

Práctica no. 5. Diagnóstico de infecciones bacterianas en piel

Práctica no. 6. Dermatomicosis – Dermatoficosis

Práctica no. 7. Micosis subcutáneas

#### Aparato digestivo

Introducción

Práctica no. 8. Familia *Enterobacteriaceae*

Práctica no. 9. Coprocultivo. Diagnóstico de enfermedades bacterianas del tracto gastrointestinal

#### Aparato respiratorio

Introducción

Práctica no. 10. Género *Corynebacterium*

Práctica no. 11. Familia *Mycobacteriaceae*

Práctica no. 12. Agentes causales de neumonía

Práctica no. 13. Diagnóstico de infecciones respiratorias

Práctica no. 14. Micosis generalizadas



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	5/320

## **Aparato cardiovascular**

Introducción

Práctica no. 15. Hemocultivo

## **Aparato genitourinario**

Introducción

Práctica no. 16. Diagnóstico de las infecciones en vías urinarias

## **Referencias**

## **Criterios de evaluación**

## **Reglamento del Laboratorio**

### **Anexos**

Anexo A	Clasificación
Anexo B	Tinciones
Anexo C	Medios de cultivo
Anexo D	Pruebas bioquímicas
Anexo E	Pruebas especiales
Anexo F	Medios de cultivo para grupos específicos de microorganismos
Anexo G	Marchas microbiológicas
Anexo H	Formatos de Reporte
Anexo I	Lista de cotejo
Anexo J	Funciones de los integrantes de equipo



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	6/320

## PRÓLOGO

El laboratorio del módulo de Microbiología Médica es de suma importancia para los estudiantes, ya que aprenderán a determinar la presencia de patógenos en diferentes muestras clínicas, tales como tejidos, fluidos corporales o en secreciones de pacientes y si es que éstos están presentes, aislar, identificar y caracterizar dicho microorganismo; con la finalidad de diagnosticar las enfermedades infecciosas más importantes en México, haciendo uso del método científico, de la normatividad vigente y de los procedimientos adecuados de laboratorio. Por lo que para lograr este objetivo se han planteado una serie de prácticas que conforman este manual.

Este laboratorio proporciona al alumno los conocimientos y las habilidades, de tal forma que pueda obtener información útil para la identificación y caracterización de los microorganismos a través de:

- el examen microscópico directo de las muestras,
- el cultivo e identificación de los microorganismos a partir de muestras,
- la medición de la respuesta inmune del huésped expuesto al microorganismo y
- la detección de macromoléculas del patógeno en el huésped.

Así mismo, el grado de confiabilidad de los informes que proporciona el laboratorio depende de la naturaleza del patógeno; algunos pueden detectarse fácilmente, cultivarse, identificarse y caracterizarse; otros requieran metodologías específicas para detectar su presencia, lo cual se enfatiza en este material.

Sin embargo, la capacidad del laboratorio clínico de microbiología actualmente se está expandiendo y mejorando rápidamente; y gracias a la revolución de la biología molecular se están introduciendo nuevos procedimientos diagnósticos en la práctica clínica.

Por lo anterior se requiere de personal capaz, con una mente crítica, desarrollada para comprender la aplicación de los métodos actuales y los antiguos, para valorar una elección con conocimientos de su justo valor y disponibilidad, a fin de obtener el máximo provecho en beneficio de los pacientes.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	7/320

Cabe mencionar que la primera versión del manual de Biología Médica fue elaborada por los profesores: Q.B.P. Lucia Nelly Cantú de Carlos, Q.B.P. Martha Pérez Reyes y Q.B.P. José Luis Villarreal López de la Sección de Microbiología, hoy Coordinación del área Bioquímica-clínica de la Carrera de Química Farmacéutico-biológica.

A partir de los cambios del Plan de Estudios de la Carrera de QFB y el documento anterior, se elaboró la primera versión del Manual de Microbiología Médica incorporando las modificaciones pertinentes en su momento, por parte de la Mtra. Araceli García del Valle y la Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán.

Sin embargo al considerar este contexto se requirió la revisión de la primera edición del Manual de Microbiología Médica y esta versión, buscó responder a la evidente necesidad, tanto de mantenerlo actualizado como de enriquecerlo con la experiencia producto de su instrumentación; incorporando las modificaciones que se consideraron adecuadas para hacerlo más completo, explícito y operativo, asimismo se hicieron dibujos, esquemas y diagramas, conservando además la intención de que los alumnos que cursan el módulo, dispongan de la información anticipada para la realización correcta de su trabajo de laboratorio.

Con la actualización del Plan de Estudios de la Carrera de Q.F.B., aprobado el 3 de julio de 2015 por el Consejo Académico del Área de las Ciencias Biológicas, Químicas y de la Salud (CAABQYS), se efectuaron las siguientes modificaciones al manual de prácticas:

- a) El nombre actual del módulo es el de Bacteriología y Micología Médicas.
- b) El manual actual quedo con 16 prácticas.
- c) Se introdujeron nuevos criterios de evaluación, como son: lista de cotejo y exámenes parciales y globales de medios de cultivo, pruebas bioquímicas y tinciones.
- d) Para fortalecer el trabajo en equipo, se designaron funciones específicas para cada uno de los integrantes de los equipos. Dichas funciones se rolarán entre los integrantes del equipo durante el semestre.
- e) El manual será editado en versión electrónica.

Esta nueva versión electrónica que sigue los criterios del Sistema de Gestión de Calidad que se instrumenta en estos momentos en la Facultad, fue elaborado por



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/2020</b>	1	<b>8/320</b>

los profesores: M. en C. Araceli García del Valle, M en C. Roberto Cruz González Meléndez y Q.F.B. María de las Mercedes Zamudio Durán, con la colaboración del Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez y la Q.F.B. Georgina Bermejo Torres.

Este manual, como todo material de apoyo, es perfectible y se espera que a través de su proceso de actualización se mantenga como una herramienta útil para los alumnos y profesores de este módulo.

Araceli García del Valle  
Roberto Cruz González Meléndez  
María de las Mercedes Zamudio Durán





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	9/320

## PRESENTACIÓN

Este manual está integrado por 16 prácticas que corresponden a cinco aparatos y sistemas: 1) piel y músculo esquelético, 2) tracto gastrointestinal, 3) aparato respiratorio y 4) aparato circulatorio y 5) aparato urinario. Consta de procedimientos para aprender el manejo de los principales microorganismos patógenos: bacterias y hongos principalmente.

Es importante tomar en cuenta que, con las diferentes estrategias de aprendizaje empleadas en el curso, se impulsa el trabajo en equipo y las relaciones interpersonales, en donde deberán aprender a organizar, poner en práctica, llegar a acuerdos, informar y comunicarse en cada uno de los roles a seguir en las diferentes actividades, en el papel que deberán desempeñar en su vida profesional, dentro de un laboratorio clínico microbiológico como parte del equipo de salud.

Cabe señalar que en algunas prácticas se trabaja con especímenes biológicos provenientes de pacientes reales que asisten a los Laboratorios de Análisis Clínicos de la FES Zaragoza, por lo que es de suma importancia fomentar en el estudiante el uso de técnicas de Bioseguridad y el Manejo de Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos para el cuidado personal y del trabajo en equipo dentro del laboratorio del módulo de Bacteriología y Micología Médicas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/2020</b>	<b>1</b>	<b>10/320</b>

## OBJETIVO

Proporcionar a los alumnos las herramientas microbiológicas para realizar el diagnóstico de cepas patógenas, bacterianas y micóticas causantes de infección en el ser humano, de importancia médica en México.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/2020</b>	<b>1</b>	<b>11/320</b>

# PIEL Y MÚSCULO ESQUELÉTICO



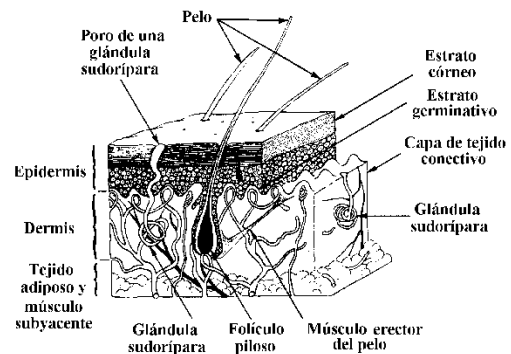
Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	12/320

## Introducción

La inflamación de las cutículas, las infecciones de los pequeños cortes en la piel y el pie de atleta nos ocurren con tanta frecuencia que apenas nos damos cuenta. Estas afecciones leves y en general sin consecuencias representan un extremo de las infecciones de la piel. El otro extremo incluye enfermedades menos frecuentes pero potencialmente severas, como el herpes-zóster, la candidiasis o la celulitis bacteriana. Las infecciones de la piel pueden ser causadas por virus, hongos o bacterias. La comprensión de la patogenia de las infecciones de la piel y los tejidos blandos requiere el conocimiento de la anatomía y fisiología de estas partes del cuerpo. La piel está dividida en tres capas diferentes la epidermis, la dermis y la capa grasa. La epidermis es una hoja delgada que se autorrenueva y cubre todo el cuerpo. En la mayor parte de éste su espesor es de 0.1 mm y está desprovista de vasos y nervios. Las células basales de la epidermis los queratinocitos, se dividen, se diferencian y finalmente son eliminados. A medida que ascienden desde la capa basal hacia la superficie se vuelven más estratificados y producen una capa cornificada de células muertas, el estrato córneo. Esta capa más externa consiste en queratinocitos muertos ricos en la fuerte proteína fibrosa queratina y son mantenidos juntos por lípidos neutros intercelulares. El estrato córneo es la principal barrera física que impide el ingreso de sustancias químicas y los microorganismos ambientales. Además de los queratinocitos, la epidermis contiene tipos celulares menores, las células de Langerhans y los melanocitos que contienen pigmento.

Los denominados apéndices cutáneos, que incluyen el pelo, las glándulas sebáceas y las glándulas sudoríparas se originan en la capa basal de la epidermis, se invaginan hacia la dermis y salen a la superficie a través de la epidermis. Las bacterias pueden obviar el estrato córneo a través de estos conductos.

La dermis tiene varios milímetros de espesor y está separada de la epidermis por una membrana basal. Las proteínas fibrosas colágena y elastina están embebidas en una matriz glucoproteica y constituyen la fuerte estructura dérmica de sostén. Está atravesada por un rico plexo de vasos sanguíneos y linfáticos. La interrupción del flujo sanguíneo dérmico





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	13/320

predispone a las infecciones por la limitación del acceso de las defensas humorales y celulares contra los invasores porque compromete la nutrición de la barrera epidérmica.

La grasa subcutánea, la tercera capa de la piel, consiste de manera predominante en células lipídicas que no sólo desempeñan un papel estético sino que también son efectivas como aisladores térmicos, absorbedores de golpes y depósitos de reservas calóricas. Por debajo de esta capa hay una fascia superficial que separa la piel de los músculos.

Cualquiera o todas estas capas de "tejidos blandos" pueden estar involucradas en un proceso infeccioso dado.

La fascia profunda es una delgada membrana fibrosa, que está en contacto con la fascia superficial, libre de grasa que cubre los músculos, separando los varios grupos y músculos individuales, forma fundas para los nervios y vasos, se especializa alrededor de articulaciones para formar ligamentos, envuelve órganos y glándulas y mantiene unidas todas las estructuras juntas en una masa firme compacta.

El tejido muscular se caracteriza por la habilidad de contracción; a grosso modo el músculo esquelético es un conjunto de fibras musculares estriadas conectadas en uno o ambos extremos con el armazón óseo del cuerpo, un tejido conectivo cuya matriz consiste de fibras colágenas y una sustancia en la que se depositan sales de calcio (fosfatos, carbonatos y fluoruros) en forma de una apatita.

La piel es estéril en el momento del nacimiento. Pronto es colonizada por una biota cuyo número varía de  $10^2$ - $10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>. Muchos factores afectan la distribución, la composición y la densidad de esta biota incluyen no sólo el clima ambiental, sino también los microclimas del cuerpo.

Las dos propiedades que hacen que la piel sea hostil al crecimiento bacteriano son la exfoliación y la sequedad. La eliminación constante de las células del estrato córneo desaloja muchas bacterias que se adhieren a su superficie. Otros factores son el pH bajo (5.5), la temperatura baja (33°C) y la composición química.

Los miembros de la biota residente son poco virulentos y rara vez causan infecciones significativas. Esta biota incluye bacterias capaces de multiplicarse en la piel y regularmente presentes, y bacterias transitorias, que sobreviven en la piel durante un tiempo pero que no pueden establecer una residencia permanente.

Los agentes infecciosos ingresan en la piel y los tejidos blandos subyacentes de muchas maneras diferentes.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	14/320

- Desde el exterior, a través de cortes, heridas, picaduras de insectos, enfermedades cutáneas u otras pérdidas de la integridad del estrato córneo.
- Desde el interior, a partir del tejido subyacente o transportados por la sangre.

**Las infecciones en piel** se comportan de un número limitado de formas que se dividen en tres categorías generales:

1. Infecciones que se diseminan, denominadas impétigo cuando están limitadas a la epidermis, erisipela cuando afectan vasos linfáticos dérmicos y celulitis cuando el foco principal es la capa grasa subcutánea.
2. La formación de abscesos, conocidos como foliculitis, furúnculos y ántrax estafilocócico.
3. Las infecciones necrotizantes, incluyendo la fasciitis y la gangrena gaseosa (mionecrosis).

Las infecciones secundarias ocurren tanto en los huéspedes inmunocompetentes como en los inmunosuprimidos, pero con diferentes grados de incidencia y severidad.

Asimismo, las infecciones sistémicas se manifiestan en una variedad de formas: abscesos, necrosis (p.ej. púrpura fulminante en la meningocemia crónica o en la septicemia por *Pseudomonas*); erupciones o exantemas.

La piel responde a las toxinas elaboradas durante las infecciones que ocurren en sitios alejados (p.ej. escarlatina descamación de la piel de las extremidades por faringitis por estreptococos grupo A). Los estafilococos causan dos enfermedades cutáneas inducidas por toxinas específicas el síndrome de la piel escaldada y el síndrome del shock tóxico.

**Infecciones de los músculos (miositis).** Es raro que los microorganismos infecciosos estén involucrados en las mialgias y rigidez musculares. Las infecciones específicas de los músculos esqueléticos son poco comunes. Cuando ocurren pueden deberse a un amplio espectro de microorganismos entre ellos bacterias, hongos, virus y parásitos. Los músculos pueden ser invadidos desde sitios contiguos de infección o por la diseminación hematógena desde un foco alejado. Los tipos de infecciones y su frecuencia dependen del huésped, la región geográfica o de los hábitos alimentarios del paciente. Algunas presentaciones clínicas son tan distintivas que sugieren de inmediato el agente etiológico (p.ej. la presencia de gas en el músculo hace pensar en una gangrena gaseosa



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	15/320

secundaria al *Clostridium perfringens*). El tratamiento de las mialgias inespecíficas en general es sintomático. Cuando se identifica un agente etiológico específico la terapia debe apuntar contra este agente. Si hay tejido necrótico presente puede ser necesario el rápido drenaje de los abscesos y un extenso debridamiento quirúrgico.

**Las infecciones de los huesos u osteomielitis** pueden ser resultado de infecciones transmitidas por la sangre (diseminación hematógena) o de la introducción directa de los microorganismos desde fuentes externas ambientales o contiguas (los tejidos blandos o las articulaciones). Un tipo especial en esta última categoría es la infección de los huesos de los pies que ocurre en los pacientes diabéticos.

**Las infecciones de las articulaciones** pueden ser causadas por bacterias, virus y hongos. Es factible diferenciar entre estas posibilidades por la presentación clínica del paciente y por los resultados de las pruebas de laboratorio del líquido sinovial. En general las infecciones bacterianas son más comunes que los otros tipos de infecciones y producen mayor número de leucocitos en el líquido articular con predominio de los neutrófilos. La frecuencia con la cual los agentes infecciosos causan artritis séptica varía con la edad. *Staphylococcus aureus* es el agente etiológico más común y afecta a todos los grupos etarios. Además de la antibioticoterapia por vía parenteral y altas dosis, debe drenarse el líquido sinovial infectado (aspiraciones repetidas o drenaje quirúrgico a cielo abierto).

## LESIONES EN PIEL

- **Mácula.** Es un área circunscrita de cambio del color normal de la piel sin elevación o depresión de la piel alrededor. Hay lesiones que pueden parecer máculas pero que la iluminación oblicua muestra que son elevadas (p. ej. pápulas), esto puede ser importante en lesiones pigmentadas. Las máculas pueden ser de cualquier tamaño y son resultado de (1) hipopigmentación (p. ej. vitiligo) o hiperpigmentación -melanina o hemosiderina, (2) anomalías vasculares permanentes de la piel, como un hemangioma capilar, o (3) dilatación capilar temporal (eritema).
- **Pápula.** Es una lesión sólida generalmente menor a 5 mm de diámetro. La mayoría se eleva hacia arriba, más que profundamente del plano de piel alrededor. En las pápulas dérmicas la elevación es causada por depósitos metabólicos en la dermis o por infiltrados localizados en la dermis o por hiperplasia localizada de elementos celulares en la dermis. La topografía de



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	16/320

una pápula o placa puede consistir de múltiples, pequeñas, compactas elevaciones que se conocen como vegetaciones. La confluencia de pápulas conduce al desarrollo de elevaciones grandes, usualmente planas, circunscritas conocidas como placas.

- Placa. Es una elevación sobre la superficie de la piel que ocupa una gran superficie en comparación con su altura sobre la piel. Frecuentemente se forma por la confluencia de pápulas como en la psoriasis y las micosis. La liquenificación es una proliferación de queratinocitos y el estrato córneo que forma una estructura semejante a una placa. La piel aparece engrosada y sus marcas están acentuadas. El proceso resulta del roce de la piel y frecuentemente se desarrolla en personas con atopía. La liquenificación se presenta típicamente en la dermatitis eccematosa pero también en la psoriasis y en las micosis.
- Roncha. Es una pápula o placa rosada, plana, redondeada que es característicamente evanescente, desapareciendo en horas. Las ronchas pueden ser redondas, irregulares, con pseudópodos cambiando rápidamente de tamaño y forma debido al edema fluctuante en la dermis.
- Nódulo. Es una lesión palpable, sólida, redonda o elipsoide de mayor profundidad que una pápula y está en la dermis o en el tejido subcutáneo o en la epidermis. La profundidad involucrada y la palpabilidad más que el diámetro diferencia un nódulo de una pápula. Los nódulos resultan de infiltrados, neoplasias o depósitos metabólicos en la dermis o el tejido subcutáneo y frecuentemente indican una enfermedad sistémica. La tuberculosis, micosis profundas, linfoma y neoplasias metastásicas p. ej., pueden presentarse como nódulos cutáneos.
- Absceso o pústula. Es una elevación circunscrita de la piel que contiene un exudado purulento que puede ser blanco, amarillo o amarillo verdoso. Puede originarse en un folículo piloso o independientemente. Las pústulas pueden variar de tamaño y forma, las pústulas foliculares son siempre cónicas y generalmente contienen un pelo en el centro. Las lesiones vesiculares de enfermedades virales (varicela, viruela, herpes simple y herpes-zóster) pueden volverse pustulares secundariamente.
- Vesícula/ampolla. Una vesícula (menos de 5 mm) o una ampolla (más de 5 mm), es una lesión circunscrita elevada que contiene fluido. Sus paredes son tan delgadas que son translúcidas y el suero, fluido linfático o fluido extravascular pueden verse. Las vesículas o ampollas se originan de la ruptura de varios niveles de la piel; la ruptura puede ser en la epidermis o





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	17/320

en la interfase epidermis-dermis. Cuando la ruptura es justo bajo el estrato córneo resulta una vesícula subcórnea como en el impétigo.

- Costras. Se desarrollan cuando suero, sangre o exudado purulento seca sobre la piel, son el sello de la infección piogénica y se requieren cultivos. Pueden ser delgadas, delicadas y friables (fácilmente desmenuzables) o gruesas y adherentes. Se presentan melicéricas, delicadas y brillosas en la superficie típicamente en el impétigo. Cuando el exudado involucra la epidermis completa las costras pueden ser gruesas y adherentes, esta condición se conoce como ectima.
- Descamación. Las células epiteliales se reemplazan completamente cada 27 días el producto final de este proceso holocrino es el estrato córneo, la capa más externa de la piel, normalmente no contiene núcleo y se pierde imperceptiblemente. Cuando un incremento en la velocidad de proliferación de células epiteliales como en la psoriasis, el estrato córneo no se forma normalmente y las capas externas de la piel conservan el núcleo (paraqueratosis). Estas capas descamativas de la piel se observan como escamas, densamente adherentes que tienen una sensación arenosa resultado de un aumento localizado de estrato córneo y son una característica de la queratosis solar.
- Úlcera. Es un defecto de la piel en que ha habido pérdida de la epidermis y la capa papilar superior de la dermis. Ciertas características que ayudan a determinar la causa de la úlcera incluyen localización, bordes, base, descarga y cualquiera otra característica topográfica asociada, tales como nódulos, excoriaciones, varicosidades, presencia o ausencia de sudoración y pulsaciones.

Generalmente un reporte del laboratorio de bacteriología puede indicar sólo el hallazgo microscópico y el examen de los cultivos. Así un diagnóstico etiológico se confirma o se rechaza. La deficiencia para aislar al microorganismo causal, sin embargo, no se debe necesariamente a la utilización de métodos inadecuados en cambio es frecuentemente el resultado de una mala técnica de toma de muestra y transporte.

Las siguientes son consideraciones generales respecto a la toma de muestra para el cultivo. Las instrucciones específicas para el manejo de diversas muestras serán señaladas en el momento oportuno:

Siempre que sea posible, las muestras deberán obtenerse antes de que se administren agentes antimicrobianos.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	18/320

Es evidente e indiscutible que el material deberá tomarse del lugar en donde sea más probable encontrar al microorganismo sospechoso, con tan poca contaminación externa como sea posible. Una pequeña cantidad de drenado seroso a partir de la superficie de una úlcera en el pie de un diabético con osteomielitis subyacente probablemente no rendirá organismos del hueso infectado; y realmente puede no rendir ningún microorganismo. En este ejemplo la muestra ideal podría ser una biopsia de hueso (útil histológica y bacteriológicamente). Aunque no es posible frecuentemente obtener tejido infectado, el tejido es la muestra ideal, en segundo lugar, lo sería el drenado francamente purulento. En el caso de una lesión de la piel y el tejido subcutáneo que se extiende (p.ej. la gangrena progresiva bacteriana sinérgica), el material del margen activo y no la porción central de la lesión es probablemente el reflejo bacteriano más preciso del proceso. El material obtenido por hisopado a partir de un tracto sinuoso abierto con frecuencia no proporciona los microorganismos infecciosos verdaderos. Una biopsia profunda del tracto sinuoso sería mucho más real.

La piel y todas las superficies mucosas están pobladas con flora indígena y pueden también adquirir una flora transitoria o aún estar colonizadas por largos períodos con patógenos potenciales a partir del ambiente hospitalario. Por esta razón, deben emplearse procedimientos especiales para distinguir entre los organismos involucrados en el proceso infeccioso y aquellos que representan flora normal o "anormal" colonizadores, que no están causando la infección. Para resolver este problema:

1. Utilizando una torunda, limpie el área con germicida frotando suficientemente para eliminar también mecánicamente. Inicie en el centro y desplácese en círculos concéntricos hacia afuera. Repita la acción usando una torunda nueva cada vez. El alcohol al 70% es satisfactorio para la piel (2 min. de contacto húmedo son necesarios), el yoduro (2%) actúa más rápido (1 min.) y es más efectivo contra agentes esporulados.
2. Evite completamente las áreas de flora normal (p.ej. aspiración transtraqueal en lugar de expectoración).
3. Cultive sólo para un patógeno específico (p.ej. estreptococo grupo A en faringe).
4. Reportar los resultados del cultivo cuantitativo es una forma para determinar el agente más probablemente involucrado en la infección. Una cuantificación menos formal también será satisfactoria y puede usarse rutinariamente, se puede graduar una escala de +4 a +1 o simplemente: crecimiento abundante, moderado, ligero; cuatro colonias, etc.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	19/320

Otro factor importante que contribuye al éxito del aislamiento del agente causal es la etapa de la enfermedad.

Las muestras deberán ser de una cantidad suficiente que permita el examen completo y se colocarán en recipientes estériles que eviten el riesgo al paciente y todo aquel personal que tenga contacto con ellos. Deberán entregarse rápido al laboratorio para su procesamiento inmediato.

Aunque no es una función directa de quien toma la muestra, es un prerrequisito esencial que se proporcione al laboratorio suficiente información clínica que guíe al microbiólogo en la selección de medios y técnicas apropiadas. El personal de laboratorio podría rechazar muestras inapropiadamente obtenidas, y desde luego, exponiendo sus razones al médico solicitante, cuidando de no descartar la muestra antes de discutirlo. La cooperación cercana y la consulta frecuente entre el clínico y el microbiólogo deberían ser la regla y no la excepción.

## TOMA DE MUESTRA

### Piel

Muestras superficiales. Si la lesión no es exudativa, el cultivo tiene valor limitado. Se puede muestrear a pacientes con celulitis inyectando solución estéril de Ringer-lactato a través de la superficie de la piel decontaminada y luego retirando la solución por aspirado, colecte la muestra del margen de avance de la inflamación. La tinción de Gram de estas muestras es por lo general infructuosa debido a los relativamente pocos microorganismos presentes.

Para recuperar dermatofitos colecte la muestra raspando la superficie de la tiña o piel infectada (borde activo) o depilando el pelo infectado.

Si se trata de una lesión vesicular, su contenido deberá aspirarse.

Tractos sinuosos, fístula, úlcera, decúbito. Invariablemente están contaminados con microorganismos del medio cuya interpretación puede confundir los resultados de los cultivos. Por lo tanto la superficie de la lesión debe limpiarse escrupulosamente y tomar la muestra de la base de la lesión. Los cultivos para anaerobios no están indicados a menos que se sospeche de *Actinomyces*.

Absceso. Idealmente un absceso debería muestrearse antes de su ruptura o su drenado. Después que un absceso superficial se abre, puede colonizarse rápidamente con multitud de microorganismos de la piel o el ambiente. Para tomar muestra de un absceso roto, la superficie de la lesión debe limpiarse, drenarse



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	20/320

parcialmente y tomar la muestra a partir de la base del absceso. Para un absceso cerrado, la superficie se desinfecta con etanol al 70% seguido con solución de yodo; luego se aspira con aguja y jeringa. Además, se toma una muestra de la pared del absceso. Durante la cirugía se obtienen del mismo modo.

Nunca debería tomarse material de un absceso utilizando hisopo ya que la cantidad de muestra será inadecuada y se contaminará con microorganismos no significativos.

Si se sospecha de anaerobios como causa probable (p.ej. en cerebro, pulmón, abdomen y tracto genital femenino) la muestra es un aspirado que se debe transportar al laboratorio en la jeringa o en un recipiente con medio de transporte anaeróbico.

La tinción de Gram se efectúa rutinariamente en el laboratorio si se sospecha que la infección es fúngica o micobacteriana deben realizarse también tinciones con KOH o Ziehl-Neelsen.

Quemaduras. El tejido desvitalizado, necrótico, quemado es un medio fértil al crecimiento de bacterias y hongos. Desafortunadamente la superficie de las quemaduras puede estar densamente colonizada con microorganismos potencialmente patógenos que no son significativos para la infección del paciente. Los cultivos cuantitativos son útiles para discriminar entre la infección invasiva y la colonización. Sin embargo, estos cultivos son inútiles a menos que la densa carga de organismos superficiales se retire antes de tomar la muestra. Además, deben de tomarse muestras para exámenes histológicos y microbiológicos. Ninguna prueba por sí misma es suficiente. Generalmente no se necesitan cultivos de anaerobios o micobacterias. Si se recibe esta solicitud el microbiólogo consultará con el médico antes de procesar la muestra.

## Tejido

Muestras quirúrgicas y de biopsia. Son muestras difíciles de obtener y muchas veces no es posible tener una segunda muestra.

Microbiólogo y médico deberán trabajar juntos para asegurar la correcta toma de muestra y la realización de pruebas relevantes. Tome una muestra tan grande como sea posible a partir de cada área infectada. Si hay múltiples focos colecte de áreas representativas para exámenes histopatológicos y cultivos. El principal problema con las muestras de biopsia es su tamaño insuficiente. Las tinciones y cultivos para bacterias aerobias y anaerobias, micobacterias y hongos no pueden realizarse con una pequeña cantidad de tejido.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	21/320

Microbiólogo y médico deben acordar que pruebas son las más apropiadas antes de procesar la muestra. Para muestras muy pequeñas, las tinciones por lo general se omiten y se utiliza el cultivo en caldo para recuperar bacterias y hongos. Aunque esto no es lo ideal, es mucho mejor que inocular 10 a 12 placas de medio y realizar tres diferentes tinciones microbiológicas.

Biopsia de la piel. Es una de las técnicas de diagnóstico más sencillas, y más recompensadas en la práctica médica por el fácil acceso y la variedad de técnicas para el estudio de la muestra extraída. (p.ej. inmunofluorescencia o microscopia electrónica).

La selección del sitio de la biopsia se basa principalmente en el estado de la erupción y lesiones tempranas son usualmente más típicas, esto es especialmente importante en las lesiones de erupciones vesiculosas (p.ej. pénfigo, herpes simple) en las cuales la lesión deberá tener no más de 24 hs. Sin embargo, lesiones más tardías (2-6 semanas) son frecuentemente más características en lupus eritematoso discoide.

Una técnica común para obtener la biopsia para diagnóstico es usar un punzón de 3-4 mm, cuchillo tubular como tirabuzón, el cual mediante movimientos de rotación entre pulgar e índice corta a través de la epidermis, la dermis y el tejido subcutáneo; la base se corta con tijeras.

Para los nódulos, sin embargo, una gran cuña deberá extraerse; además sin importar el tamaño deberá bisectarse, una mitad para histología y la otra mitad en un recipiente estéril para cultivos bacterianos o micóticos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	22/320

## PRÁCTICA No. 1

### Familia *Micrococcaceae*

#### Objetivo.

Realizar el diagnóstico microbiológico de los géneros bacterianos: *Micrococcus*, *Stomatococcus*, *Planococcus* y *Staphylococcus* que causan infecciones de la piel y del músculo esquelético.

#### Fundamento teórico

Ubicada en la sección 12 comprende los géneros: *Micrococcus*, *Stomatococcus*, *Planococcus* y *Staphylococcus*. Sin embargo el análisis genético y la composición de la pared celular muestran que los géneros de esta familia no están estrechamente relacionados.

Las pruebas de oxidación-fermentación de la glucosa, crecimiento en altas concentraciones de cloruro de sodio y sensibilidad o resistencia a la lisostafina (200 µg/ml), eritromicina (0.04 µg/ml), bacitracina (0.04 U) y furazolidona (100 µg/ml) son de gran utilidad en la separación de los tres géneros de la familia que parasitan al hombre (Tabla 1.1.)

De los cuatro géneros de la familia los cocos móviles llamados *Planococcus* no han sido aislados de humanos, los *Micrococcus* y los *Stomatococcus* pueden colonizar al humano pero raramente se asocian a enfermedad.

Los microorganismos de esta familia, se caracterizan por dividirse en más de un plano en forma de paquetes o racimos, miden de 0.5 a 3.5 µm de diámetro, grampositivos; pueden ser móviles o inmóviles, anaerobios facultativos, catalasa positivos; producen ácido sin gas a partir de la glucosa. Sus requerimientos nutricionales son variables, todas las cepas crecen en presencia de NaCl 5%, muchos crecen en concentraciones de 10 a 15%.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	23/320

#### A. Diferenciación de los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus*.

El género *Micrococcus*, consta de cocos grampositivos en pares, tétradas y racimos pequeños, las células individuales muestran tamaño uniforme. Típicamente no móviles y no esporógenos. Aerobios. Catalasas positivas. Atacan los carbohidratos oxidativamente.

Su metabolismo es estrictamente respiratorio, la glucosa es oxidada a acetato o es oxidada completamente a bióxido de carbono y agua. Crecen de 25° a 30° C y en NaCl 5%. Frecuentemente son encontrados en la piel del hombre y otros animales.

El género *Staphylococcus*, cocos en pares o racimos, las células individuales muestran variación en el tamaño y la grampositividad. No móviles, no esporógenos. Aerobios y facultativamente anaerobios. Catalasa positivos; oxidasa negativos. Atacan los carbohidratos por fermentación. Crecen en presencia de NaCl al 10% y a temperatura de 18° a 40° C.

La pared celular contiene dos componentes principales: un peptidoglicano y ácidos teicoicos. Su metabolismo es oxidativo/fermentativo; un amplio rango de carbohidratos puede ser utilizado particularmente en presencia de aire, con la producción de ácido pero no de gas. El crecimiento es más rápido y abundante bajo condiciones aeróbicas; su temperatura óptima es de 35° a 40° C. Gran cantidad de cepas crecen en presencia de 15% o bilis 40%. Presentan resistencia a la lisis por lisozima.

#### B. Identificación de *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*.

Los estafilococos forman parte de la flora normal en la piel y en las mucosas del hombre. Ocasionan diversos procesos infecciosos en pacientes que presentan algún factor predisponente (alcoholismo, anemia, cáncer, desnutrición, drogadicción o inmunosupresión).

Dentro del número de especies estafilocócicas sólo tres suelen asociarse a enfermedad humana: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*.

*S. aureus*, es la cepa tipo del género, es la de mayor importancia médica. Algunas cepas poseen cápsulas en cultivos jóvenes, después la pierden. Las colonias son lisas, un poco convexas, brillantes y con los bordes lisos. La pigmentación de las colonias es variable, la mayoría son de color naranja y amarilla. Su metabolismo es fermentativo. Hay producción de ácido a partir de glucosa, lactosa, maltosa y



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	24/320

manitol.

Causan gran variedad de enfermedades en el humano, los tres grupos más importantes son: las infecciones cutáneas menores, de los órganos y tejidos profundos y las toxinosis.

Entre las primeras destacan por su frecuencia la foliculitis, la celulitis, el impétigo y el carbunco; en órganos y tejidos profundos: endocarditis, meningitis, neumonía, mastitis, abscesos diversos, infecciones de heridas postquirúrgicas, la pioartrosis, la osteomielitis, la enterocolitis y las infecciones genitourinarias adquiridas tanto en la comunidad como las intrahospitalarias; por toxinas: intoxicaciones alimentarias, necrólisis epidérmica tóxica, el síndrome de piel escaldada y el síndrome del shock tóxico.

#### Patogenia, manifestaciones clínicas y complicaciones.

Forúnculo: de 2 a 4 días, de un folículo piloso y su alrededor, microorganismos relativamente defendidos frente a las defensas del huésped se multiplican con rapidez y se extienden localmente. Se ocasiona una reacción inflamatoria intensa con llegada de neutrófilos, se deposita fibrina y la zona queda aislada. Los abscesos contienen típicamente pus cremoso amarillento, formado por gran número de gérmenes y leucocitos necróticos. Continúan aumentando de tamaño lentamente, hasta que acaban abriéndose a la piel subyacente y drenan. El drenaje hacia adentro puede dar lugar a siembra de estafilococos y también puede causar infecciones graves, como: peritonitis, empiema o meningitis.

Síndrome de la piel escaldada. -Enfermedad de Ritter en los lactantes; enfermedad de Lyell o necrólisis epidérmica tóxica en niños mayores-esporádica y como brotes epidémicos. *S. aureus* productora de exfoliatina o toxina del síndrome de la piel escaldada causa destrucción de las conexiones intercelulares y separa las capas de la epidermis de modo que al cabo de 1 a 2 días se pierden grandes áreas de piel. El lactante se muestra irritable e incómodo, pero rara vez muestra signos de enfermedad grave. Sin embargo, el tratamiento debe tener en cuenta el riesgo de pérdida de líquidos a través de la superficie dañada y quizá sea necesario sustituirlos. Se debe administrar una penicilina resistente a  $\beta$ -lactamasa por vía parenteral.

Síndrome de shock tóxico. Esta infección sistémica es causada por cepas que producen la toxina del síndrome de shock tóxico (TSST). La enfermedad se asoció con el uso de tampones en mujeres sanas pero no se limita a ellas y puede ocurrir





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	25/320

como resultado de la infección de *S. aureus* en zonas distintas del área genital. Existen septicemia y toxemia y las manifestaciones cutáneas incluyen un exantema seguido por descamación cutánea, sobre todo en las palmas de las manos y las plantas de los pies.

*S. aureus*, produce gran variedad de metabolitos de significancia patológica, como: hemolisinas  $\alpha$  y  $\delta$ , leucocidinas, toxina dermonecrótica, enterotoxinas, penicilinasa, coagulasa, fosfatasa, hialuronidasa, desoxirribonucleasa y fibrinolisisina.

*S. epidermidis*. Las colonias son circulares, convexas, con superficie lisa o ligeramente granular, bordes enteros o ligeramente irregulares; son usualmente blancas o amarillas, ocasionalmente naranjas y rara vez púrpuras. Su metabolismo es fermentativo; producen ácido de glucosa, lactosa y maltosa.

Muchas cepas producen una hemolisina termoestable que causa una completa hemólisis a eritrocitos de cobayo, conejo, caballo, carnero y humano; esta hemolisina probablemente es idéntica a la delta hemolisina de *S. aureus*.

Se encuentra como flora normal de piel y mucosas de animales de sangre caliente.

*S. epidermidis* produce infecciones de origen intrahospitalario y se presentan en pacientes a los que es necesario colocarles algún cuerpo extraño (p. ej. válvulas cardíacas, sistemas de derivación de líquido cefalorraquídeo y todo tipo de catéteres). La colonización de *S. epidermidis* de estos materiales produce frecuentemente enfermedades sistémicas graves.

*S. saprophyticus*, coloniza el aparato genitourinario y es un agente etiológico de uretritis en el hombre. En mujeres hospitalizadas entre 16 y 35 años y con vida sexual activa se presenta como el segundo agente etiológico en frecuencia en infecciones de vías urinarias, además juega un papel importante en algunos casos de leucorrea.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	26/320

TABLA 1.1. Características de los géneros de la familia *Micrococcaceae*

CARACTERÍSTICA	<i>Micrococcus</i>	<i>Stomatococcus</i>	<i>Planococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
Racimos irregulares	+	+	+	+
Tétradas	+	-	-	-
Cápsula	-	+	-	-
Movilidad	-	-	+	-
Crecimiento G-furazolidona 100µg/ml	+	-	-	-
Fermentación de glucosa	-	+	-	+
Oxidasa y bencidina	+	-	ND	-
Resistencia a lisostafina 200µg/ml	R	R	R	S
Glicina en péptido-glicana	-	-	-	+
Ácidos teicoicos en pared celular	-	-	-	+
% en moles G+C en el ADN	65-75	56-60	39-42	30-39

Fuente: Sneath, 1986

Símbolos: ND no desarrolla  
R resistencia



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	27/320

TABLA 1.2. Pruebas clave para la identificación de las especies estafilocócicas de mayor importancia médica.

PRUEBA	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Pigmento colonial	+	-	d
Coagulasa	+	-	-
Factor de agregación	+	-	-
Nucleasa termoestable	+	-	-
Fosfatasa alcalina	+	+	-
Pirrolidonil arilamidasa	-	-	-
Ornitina descarboxilasa	-	(d)	-
Ureasa	d	+	+
$\beta$ -galactosidasa	-	-	+
Producción de acetoina	+	+	+
R a novobiocina 5U	-	-	+
R a polimixina	+	+	-
D-trehalosa	+	-	+
D-manitol	+	-	d
D-manosa	+	(+)	-
D-furanosa	+	(d)	+
D-xilosa	-	-	-
D-celulosa	-	-	-
D-maltosa	+	+	+
D-sacarosa	+	+	+

Adaptada de Murray, 1995

Símbolos: - <10% de las cepas positivas  
+ >89% de las cepas positivas  
d 10-89% de las cepas positivas  
( ) reacción tardía



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	28/320

TABLA 1.3 Hemolisinas de *Staphylococcus*

Tipo serológico	Eritrocitos susceptibles	Leucocitos susceptibles	Fuente común	Toxicidad a animales
ALFA ( $\alpha$ )	Conejo borrego	conejo humano	humano	dermonecrótica para conejo, letal para ratón y conejo
BETA ( $\beta$ )	* borrego *buey *humano	ninguno	animal	letal para conejo en grandes dosis
GAMMA ( $\gamma$ )	conejo, humano, borrego, cobayo, buey, rata, caballo	?	humano	dermonecrótica leve para conejo y cobayo; letal para conejo
DELTA ( $\delta$ )	conejo, humano, borrego, cobayo, rata, caballo	conejo humano ratón, cobayo	humano	edema e induración, únicamente en conejo y cobayo

\* Reacción caliente-frío: lisis después de incubar a 37°C y conservar en refrigeración toda la noche.

Adaptada de Cantú, 1990.

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

### A. Diferenciación de los géneros *Staphylococcus* y *Micrococcus*

Cepas: *Staphylococcus* sp.

*Micrococcus* sp.

- 1 placa de agar sangre de carnero al 4.5 %
- 1 placa de agar S-110
- 2 tubos con glucosa (Hugh-Leifson) con sello de nujol.
- 2 tubos con glucosa (Hugh-Leifson) sin sello de nujol.
- 2 tubos con SIM



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	29/320

2 tubos con agar nutritivo (prueba de fosfatasa)

Juego de reactivos para tinción de Gram

Reactivos para: catalasa, indol y fosfatasa

B. Identificación de *S. aureus* y *S. epidermidis*

Cepas: *S. aureus*

*S. epidermidis*

- 1 placa de agar S-110
- 1 placa de agar Vogel Johnson
- 1 placa de agar sangre humana al 2%
- 1 placa de agar sangre de carnero al 2%
- 2 tubos de manitol (Hugh-Leifson) con sello
- 2 tubos de manitol (Hugh-Leifson) sin sello
- 2 tubos con SIM
- 2 tubos con caldo rojo de fenol más trehalosa
- 2 tubos limpios de 12 x 75

Juego de reactivos para tinción de Gram

## Procedimiento

A. Diferenciación de los géneros *Staphylococcus* y *Micrococcus*

1. Realizar frotis de cada cepa y teñir con la técnica de Gram. (Anexo B - Tinciones) Observar la morfología microscópica.
2. Sembrar cada una de las cepas por estría cruzada en la mitad de las placas de agar sangre y S-110.
3. Sembrar cada cepa en los medios: agar nutritivo, SIM y, Hugh-Leifson glucosa.
4. Incubar a 37°C durante 24 horas.
5. Describir la morfología colonial y hemólisis en agar sangre, abundancia de crecimiento en S-110, presencia de pigmento y morfología colonial.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	30/320

6. Observar si hay producción de ácido sulfhídrico, indol y movilidad en el medio de SIM.
7. Observar la vía metabólica utilizada en el medio de Hugh - Leifson.
8. Realizar la prueba de la fosfatasa (Anexo-pruebas especiales) a partir del cultivo en agar nutritivo.
9. Realizar la prueba de la catalasa a partir de las cepas proporcionadas. (Anexo E - Pruebas Especiales).
10. Comparar los resultados obtenidos, con la tabla 1.1. realizar la discusión y conclusiones de sus resultados.

B. Identificación de *S. aureus* y *S. epidermidis*

1. Realizar frotis de cada cepa y teñir por la técnica de Gram. (Anexo B - Tinciones). Describir la morfología microscópica de cada cepa.
2. Sembrar cada cepa por estría cruzada en la mitad de las placas de agar sangre humana y de carnero, Vogel Johnson y S- 110.
3. Sembrar cada cepa, en los medios de manitol (Hugh-Leifson) con sello y sin sello, en el medio SIM, en el caldo trehalosa.
4. Incubar a 37°C durante 24-48 horas.
5. Observar la morfología colonial característica de cada cepa en los medios de agar sangre (hemólisis), Vogel Johnson y S-110.
6. Realizar la prueba de la coagulasa. (Anexo E - Pruebas Especiales)
7. Discusión y conclusiones de los resultados de acuerdo a la Tabla 1.2. Ver Diagrama 1.1

## Equipo

Microscopio óptico



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	31/320

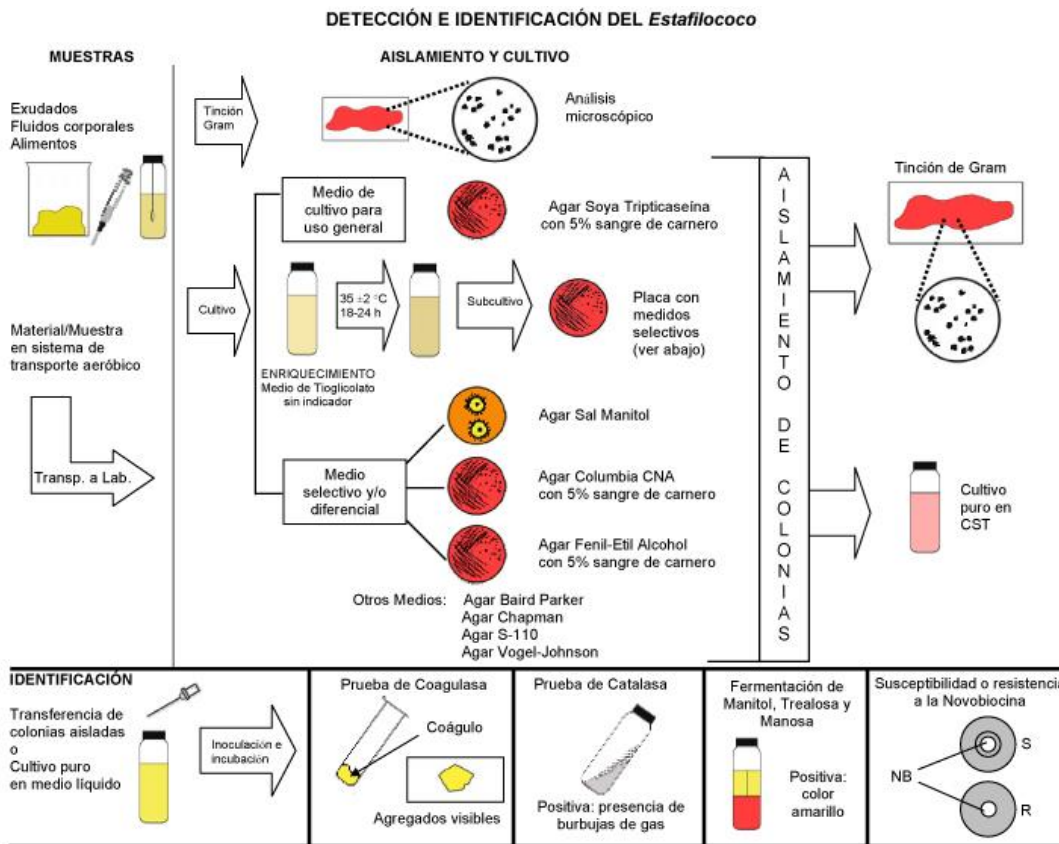
### Servicios.

- Servicio de gas
- Servicio de agua
- Servicio de luz

### Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H

Diagrama 1.1 DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL *Estafilococo*





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	32/320

## PRÁCTICA No. 2

### Género: *Streptococcus*

#### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico del género bacteriano: *Streptococcus* que causa infecciones de la piel y del músculo esquelético

#### Fundamento teórico

El género *Streptococcus* abarca una amplia gama de especies de células ovales o esféricas de 0.5µm a 1.0µm de diámetro, se pueden encontrar agrupados en pares o en cadenas, en cultivos líquidos, normalmente aparecen como cadenas largas, más que en los cultivos de agar; grampositivos dependiendo de las condiciones de crecimiento y de la edad del cultivo; son inmóviles, no esporógenos, en general son catalasa negativos, carecen de enzimas citocromo; la mayoría de las especies son anaerobios facultativos, aunque los requisitos atmosféricos varían desde especies estrictamente aerobias hasta capnofílicas (cuyo crecimiento depende de dióxido de carbono); con metabolismo fermentativo, en el que se producen ácido láctico, fórmico, etanol y bióxido de carbono; crecimiento óptimo a 37 °C.

La demanda nutricional es compleja y su aislamiento requiere el empleo de sangre o medios enriquecidos con suero.

Las colonias son pequeñas, translúcidas o ligeramente opacas, circulares, generalmente < 1 mm de diámetro, convexas; también hay colonias mucoides, originadas por las cepas virulentas.

Los medios selectivos que se recomiendan, dependen del origen de la muestra clínica, p. ej. los inhibidores para bacilos gramnegativos son neomicina (30 µg/ml) o ácido nalidíxico (15 µg/ml) y polimixina (10 µg/ml) no son útiles en exudados





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	33/320

faríngeos pero sí en exudado vaginal, hisopo rectal e infecciones de heridas; por el contrario, cristal violeta (1 mg/ml) inhibidor de estafilococos que se encuentran frecuentemente en garganta, es útil en cultivo de hisopos faríngeos; el agar selectivo (AST) conteniendo gentamicina (5.0 µg/ml) se ha reportado mejora la recuperación de neumococos en orofaringe. El caldo para enriquecimiento más usado es el Pike que tiene azida de sodio (1:16000) para inhibir a los bacilos gramnegativos y cristal violeta (1:500000) para inhibir *Staphylococcus*, este medio se enriquece adicionando sangre de conejo o carnero al 5%. El enriquecimiento selectivo para aislar *Streptococcus* del grupo B se hace a partir de caldo Todd-Hewitt con ácido nalidíxico (15 µg/ml), gentamicina (8 µg/ml) o ácido nalidíxico (15 µg/ml), polimixina (1 µg/ml) y cristal violeta (0.1 µg/ml).

#### A. Diferenciación de especies de importancia médica.

Algunas especies de estreptococos forman parte de la flora normal del hombre, si bien la importancia de estos microorganismos en la enfermedad humana se advirtió tempranamente, la diferenciación de las especies y su papel en la enfermedad humana se definió de un modo relativamente lento, proponiéndose al menos cuatro esquemas diferentes de clasificación para los estreptococos en función de:

- el hábitat o la presentación clínica: el Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey enlista: 1) hemolíticos piógenos, 2) orales, 3) enterococos y 4) del ácido láctico;
- las propiedades serológicas: el esquema de clasificación serológica fue desarrollado por Lancefield en 1933 para diferenciar las cepas patógenas β-hemolíticas; grupos de Lancefield: A a H K a V (la mayoría de las cepas beta hemolíticas poseen antígenos grupoespecíficos, que son carbohidratos o ácidos teicoicos de la pared celular.
- los patrones de hemólisis: la hemólisis es la característica más útil para la identificación de los estreptococos. La acción hemolítica de los estreptococos en ASC fue descrita y definida por Brown en 1919, estas definiciones se utilizan para caracterizar colonias que crecen en la superficie estriada de las placas de gelosa sangre si bien las observaciones de Brown se basaron en el examen microscópico de colonias subsuperficiales obtenidas en gelosa sangre por placa vaciada, como sigue:



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	34/320

1. alfa- hemolisis: una zona de destrucción parcial de eritrocitos de carnero alrededor de la colonia, acompañada por una decoloración verdosa a café del medio.
2. beta-hemólisis: una zona clara, incolora alrededor de la colonia, en la que los eritrocitos de carnero han sufrido una hemólisis completa.
3. no hemólisis: no hay actividad hemolítica aparente.
4. alfa-prima o zona amplia de alfa hemólisis: un pequeño halo de eritrocitos de carnero intactos o parcialmente lisados permanecen adyacentes a la colonia, rodeados por una zona de hemólisis completa que se extiende más allá hacia el medio. Al observarla macroscópicamente la hemólisis alfa- prima puede confundirse con beta hemólisis.

Por lo tanto esta aplicación extendida no puede hacerse fácilmente por las características de las hemolisinas involucradas en la beta hemólisis así como la interpretación equívoca de hemólisis alfa- prima como beta hemólisis. (Ver ejemplos en la tabla 2.1)

Así que si las placas de gelosa sangre se estrían deberán “picarse” con el asa bacteriológica para obtener crecimiento subsuperficial.

- y las propiedades bioquímicas (fisiológicas; Tabla 2.2.)

TABLA 2.1. Clasificación de los patógenos estreptocócicos habituales del ser humano.

Clasificación serológica	Clasificación bioquímica	Patrón hemolítico
A	<i>S. pyogenes</i>	$\beta$
B	<i>S. agalactiae</i>	$\beta, \alpha, \gamma$
C	<i>S. equisimilis</i>	$\beta$
D	<i>S. bovis</i>	$\alpha, \gamma$
F	Grupo <i>S. milleri</i>	$\gamma, \beta, \alpha,$
G	Grupo <i>S. milleri</i>	$\gamma, \beta, \alpha$
-	<i>S. pneumoniae</i>	$\alpha$
Viridans	<i>S. salivarius</i> <i>S. sanguis</i> <i>S. mutans</i> <i>S. acidominimus</i> <i>S. uberis</i> <i>S. mitis</i>	$\alpha, \gamma$

Tomada y adaptada de Murray y col.2006



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	35/320

TABLA 2.2. Identificación presuntiva de estreptococos.

	Susceptibilidad a:		Hidrólisis de:		Crecimiento en:		CAMP	SAT	PYR	SOL bilis
	Bacitracina	Optoquina	Hipurato	Esculina	Bilis	NaCl 6.5% <sup>1</sup>				
Estreptococos β-hem. Grupo A	S	R	+	-	-	-	-	-	+	-
Grupo B	R <sup>2</sup>	R	-	+	-	+ <sup>2</sup>	+	-	-	-
Estreptococos gpo D	R	R	+ <sup>2</sup>	-	+	+	-	-	+	-
<i>Enterococcus</i> No	R	R	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus</i>	R	R	-	-	+	-	-	-	-	-
Estreptococos gpo. <i>viridans</i>	R <sup>2</sup>	R	-	- <sup>2</sup>	- <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
NVS *	R	R	NC	-	-	-	-	+	+	-
<i>S. pneumoniae</i>	R	S	-	-	-	-	-	-	-	+

- 1 Caldo infusión-NaCl 6.5%
  - 2 puede haber variantes
  - 3 actualmente reconocido como género
  - 4 incluido *S. bovis*
- SAT fenómeno de satelitismo  
PYR pirrolidónilamidasa  
\* Estreptococos nutricionalmente variantes

Tomada y adaptada de Murray y col. (1993).

Se ha aceptado separar a las especies del género *Streptococcus* para formar tres géneros: *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Lactococcus*.

*S. pyogenes*, pertenece al grupo A, la causa más común de faringitis bacteriana en menores de 5 a 10 años, aunque es rara la complicación supurativa de esta enfermedad pueden resultar abscesos peritonsilar y retrofaríngeo, la infección por diseminación hematógena puede dar lugar a: absceso cerebral, artritis séptica, endocarditis bacteriana aguda o meningitis.

El estreptococo del grupo A puede infectar secundariamente heridas traumáticamente adquiridas, postoperatorias o por quemadura, sin embargo el pioderma estreptocócico o impétigo se supone resulta de la invasión intradérmica que sigue a la colonización de la piel de los niños pequeños. El estreptococo que elabora toxina eritrogénica puede producir fiebre escarlatina.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	36/320

De mayor importancia son las secuelas no supurativas: fiebre reumática aguda y glomerulonefritis aguda.

Sus colonias son mucoides, mates o lustrosas; se subdivide en tipos serológicos con base en la presencia de proteínas M y T. La proteína M presenta más de 63 tipos y se asocia con la virulencia.

*S. agalactiae*, pertenece al grupo B, su importancia más notable es como agente causal de enfermedad neonatal; se han reconocido dos formas considerando los aspectos clínico y epidemiológico: enfermedad de inicio precoz (aparece en los primeros 10 días del nacimiento, se cree que es adquirida tal vez por aspiración de los microorganismos a través del tracto genital femenino al momento del nacimiento) enfermedad de inicio tardío (manifiesta después de 10d y hasta 3m después del nacimiento debida tal vez a la adquisición intrahospitalaria del microorganismo). La bacteremia es común en ambas formas de enfermedad, sin embargo la neumonía predomina en la de inicio precoz y la meningitis en la de inicio tardío.

Otras infecciones causadas por estreptococos del grupo B en niños y adultos incluyen: bacteriemia, endocarditis, neumonía, osteomielitis, artritis séptica y fiebre puerperal.

*Enterococcus*, están frecuentemente asociados con bacteriemia en pacientes que tienen una anormalidad estructural subyacente o han tenido manipulaciones urológicas; en bacteriemia seguida a cirugía urológica, intrabdominal o hepatobiliar; sepsis de heridas o sepsis intrabdominal; o endocarditis bacteriana subaguda. Las infecciones estreptocócicas de heridas intrabdominales y urinarias así como las bacteriemias son frecuentemente polimicrobianas acompañadas por *Enterobacteriaceae* y *Bacteroidaceae*. La bacteriemia enterocócica puede presentarse perinatalmente, si bien se presenta frecuentemente en pacientes viejos que tienen serios problemas médicos subyacentes, que han tenido una hospitalización prolongada y han recibido antibióticos antes, más frecuentemente cefalosporinas de amplio espectro.

Estreptococos del grupo *viridans*. Aunque se conocen principalmente por su papel en la cariogénesis y la endocarditis, la bacteriemia parece estar ocurriendo con mayor frecuencia en pacientes con neutropenia. También se han reportado p.ej. infecciones pulmonares, meningitis, bacteriemia en niños, empiema con pericarditis, mediastinitis, tromboflebitis séptica, osteomielitis y peritonitis.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	37/320

Streptococos nutricionalmente variantes (NVS). Se relacionan con el 5% aproximadamente de las endocarditis por estreptococos viridans y pueden infectar las válvulas ya sean naturales o prostéticas.

*S. pneumoniae*, es común su hallazgo en orofaringe, aunque la frecuencia de portadores es variable según la edad, el ambiente, la estación y la presencia de infección respiratoria. Es la principal causa de neumonía adquirida en la comunidad y una frecuente causa de otitis media, sinusitis y meningitis.

La búsqueda de cocos grampositivos, catalasa negativos en cualquier muestra clínica, se inicia con la observación directa por tinción de Gram, prueba de “quellung” así como la detección de antígeno por las técnicas de IF, ELISA o por aglutinación con anticuerpos pegados a látex o a *S. aureus*.

TABLA 2.3. Diferenciación de especies de estreptococos.

Grupo/especie	Red.AM	C en Litmus milk	Lactosa	Trehalosa	Sorbitol	Manitol	Sacarosa
<b>HEMOLÍTICO PIOGÉNICO</b>							
<i>S. pyogenes</i>	-	-	+	+	-	-	+
<i>S. agalactiae</i>	-	+	+	+	-	-	+
<i>S. equi</i>	-	-	-	-	-	-	-
<b>ORALES</b>							
<i>S. salivarius</i>	-	V+	+	V+	-	-	+
<i>S. mutans</i>	-	NR	+	+	+	+	+
<i>S. termophilus</i>	-	+	+	-	-	NR	NR
<b>DEL ÁCIDO LÁCTICO</b>							
<i>S. lactis</i>	+	+	+	NR	-	NR	NR
<i>S. cremoris</i>	+	+	+	NR	-	NR	NR
<b>ENTEROCOCOS</b>							
<i>E. faecalis</i>	NR	NR	NR	NR	+	+	+
<i>S. liquefaciens</i>	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
<i>S. zymogenes</i>	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
<i>E. durans</i>	NR	NR	NR	NR	-	-	-

Red. AM = Reducción de azul de metileno  
Tomada de García y Zamudio, 1998.

C = coágulo NR = No reportado



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	38/320

### Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Cepas: *E. faecalis*

*Staphylococcus aureus*  $\beta$ -lisina positivo

*Streptococcus agalactiae*

*S. mutans*

*S. pyogenes*

- 4 placas de agar sangre de carnero al 5%
- 2 placas de agar soya tripticasa pH = 9.6
- 4 tubos con infusión cerebro corazón + NaCl 6.5%
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + lactosa
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + trehalosa
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + sorbitol
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + manitol
- 4 tubos con leche tornasolada
- 4 tubos con leche azul de metileno

Juego de reactivos para tinción de Gram

Reactivo para catalasa

Discos de bacitracina 0.04 U

### Procedimiento

1. Realizar frotis de cada cepa y teñir mediante la técnica de Gram. (Anexo B - Tinciones). Observar la morfología microscópica.
2. Realizar la prueba de catalasa para cada una de las cepas.
3. Sembrar cada una de las cepas por estría cruzada en una placa de agar sangre. En el primer cuadrante (descarga), colocar el disco de bacitracina.
4. Realizar la prueba de CAMP con cada una de las cepas  $\beta$  hemolíticas.
5. Pruebas de crecimiento en AST pH=9.6 y BHI NaCl 6.5%. Sembrar cada una de las cepas por estría simple muy cerrada la placa de AST e inocular un tubo con BHI.
6. Sembrar cada una de las cepas en los caldos con carbohidratos, leche tornasolada y leche azul de metileno.
7. Incubar a 37°C durante 24 horas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	39/320

8. Describir la morfología colonial y hemólisis en agar sangre de carnero, presencia o ausencia de crecimiento en AST pH=9.6 y caldo BHI NaCl 6.5%; utilización de carbohidratos; las diversas pruebas en leche tornasolada, la reducción en leche azul de metileno; sensibilidad a la bacitracina; prueba de la catalasa y CAMP.
9. Comparar los resultados obtenidos, con las Tablas 2.2 y 2.3. realizar la discusión y conclusiones de sus resultados.

### **Equipo**

Microscopio Óptico

### **Servicios**

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

### **Formato para el reporte de resultados**

Ver Anexo H



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	40/320

## PRÁCTICA No. 3

### Familia: *Pseudomonadaceae*

#### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico del género bacteriano: *Pseudomonas* que causa infecciones de la piel y del músculo esquelético

#### Introducción

La familia *Pseudomonadaceae* está constituida por cocos y bacilos Gram negativos aerobios, es una mezcla compleja de patógenos oportunistas de animales y plantas. Incluye los géneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Frateuria* y *Zoogloea*. *Pseudomonas* es uno de los cuatro géneros incluidos en esta familia, y tiene como características generales: bacilos rectos o ligeramente curvados de 0.5-1.0 x 1.5-5.0 µm, Gram negativos, móviles por poseer uno o más flagelos polares, aerobios estrictos con un metabolismo de tipo respiratorio, quimiorganotróficos capaces de usar como única fuente de energía compuestos simples de carbono orgánico e inorgánico. Son catalasa y oxidasa positivos con una relación molar % de G-C del ADN de 58-71; crecen desde 4°C y hasta 43°C. Algunas cepas tienen un aspecto mucoso debido a una abundante cápsula polisacárida y también producen pigmentos difusibles, particularmente en medios deficientes de hierro, p.ej. piocianina (azul), fluoresceína (amarillo), piorrubina (rojo-marrón) o piomelina (café).

A. Diferenciación del género *Pseudomonas* de otros géneros semejantes.

Alrededor del 15% de todos los aislamientos bacterianos efectuados en los laboratorios de microbiología, corresponden a bacterias Gram negativas no fermentadoras de carbohidratos (Tabla 3.1.). Este grupo es predominantemente oportunista, su invasividad o infectividad se observa en huéspedes debilitados, quienes se encuentran comprometidos por medicamentos potentes en el medio





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	41/320

hospitalario.

Generalmente el grupo de bacterias Gram negativas no fermentadoras, son bacilos de metabolismo aerobio, no esporulados que no producen cambio en el medio TSI (ocasionalmente alcalinizan la superficie), son indol y ornitina descarboxilasa negativos (a excepción de *Flavobacterium*).

Para propósito de simplificación taxonómica, estas bacterias se clasifican en tres grupos principales:

- oxidasa positiva, móviles: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*
- oxidasa negativa, inmóviles: *Acinetobacter*
- oxidasa positiva, inmóviles: *Moraxella*, *Flavobacterium*

#### B. Diferenciación de especies del Género *Pseudomonas*.

Las *Pseudomonas* poseen diversos factores estructurales y toxinas que incrementan su potencial virulento y suelen ser resistentes a la mayoría de los antibióticos habituales. Resulta sorprendente que estos organismos no produzcan patología con mayor frecuencia, dada su ubicua presencia, la facilidad de crecimiento en cualquier medio ambiente, su virulencia y su amplia resistencia antimicrobiana.

Dos terceras partes de los aislamientos bacterianos en laboratorios de microbiología corresponden a cepas del género *Pseudomonas*, siendo las especies *P. aeruginosa*, *P. pseudomallei*, *P. mallei*, *P. maltophilia* y *P. cepacia* las que se han asociado a procesos infecciosos como "patógenos oportunistas" de huéspedes comprometidos (es decir, afectan a pacientes con defensas disminuidas).

Las especies del género *Pseudomonas* crecen con facilidad en los medios usados rutinariamente. Para aislar *P. aeruginosa* de muestras clínicas y el medio ambiente, es común el uso de agar S y de medios selectivos, como el agar citrato desoxicolato de Leifson (las colonias que desarrollan son grisáceas, lactosa negativas, con pigmento verde que difunde en el medio e indica la producción de piocianinas), el agar MacConkey o el agar EMB (en éstos se observan colonias grisáceas, lactosa negativas). Hay medios altamente selectivos que nos permiten aislar a este microorganismo a partir de cultivos mixtos en los que su número se encuentra disminuido, como son: agar Pseudocel y agar Irgasan, que contienen el detergente cetrimida (bromuro de hexadeciltrimetilamonio) y el irgasan (2,2,2-tricloro-2-hidroxifenil éter), respectivamente que actúan como inhibidores de otras bacterias Gram negativas y que por su composición favorecen la producción de piocianina que



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA



MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	42/320

se observa de color azul-verdoso; con este mismo propósito se pueden preparar en el laboratorio medios que contengan: la fenentrolina, C-390 ((9-cloro-9-(4-(dietilamino)fenil)-9,10-dihidro-10-fenilacridina ácida) o la combinación de ambos (medio PC). El agar Tech, el agar para *Pseudomonas P* y el agar *Pseudomonas F* se emplean para poner en evidencia la producción de pigmentos difusibles piocianina y pioverina. Las cepas sospechosas de ser *P. aeruginosa* que no producen piocianina deberán ser confirmadas bioquímicamente.

Se identificarán de manera presuntiva como *P. aeruginosa* los aislamientos en AS de colonias grandes irregulares con pigmento verde, hemólisis beta, olor a “masa de tortilla” y la prueba de oxidasa positiva. La identificación con respecto a otros bacilos Gram negativos no fermentadores de la glucosa deberá hacerse siguiendo los criterios de las pruebas para el género *Pseudomonas* a continuación mencionadas: tinción de Gram, morfología colonial, pigmentación y olor a “masa de tortilla”; oxidasa, TSI, O/F glucosa, movilidad, crecimiento a 42°C, tinción de flagelos; las pruebas confirmatorias incluyen: producción de pigmentos en agar *Pseudomonas P*, agar *Pseudomonas F*, arginina deshidrolasa, fenilalanina desaminasa, hidrólisis de gelatina, caldo nitratos con campana, lisina y ornitina en medio base de Moeller, hidrólisis de ADN, lecitina y esculina, acetato de sodio; así como pruebas en el medio base O/F Hugh Leifson con: lactosa, maltosa, manitol y sacarosa.

La especie tipo es *P. aeruginosa* se aísla con frecuencia de muestras clínicas provenientes de bacteriemia que se produce a partir de infecciones del tracto respiratorio inferior, tracto urinario, tejidos blandos y piel -particularmente infecciones de heridas. A veces aparecen lesiones cutáneas características -ectima gangrenoso-La endocarditis por *Pseudomonas* es más frecuente en drogadictos por vía parenteral. Las infecciones del tracto respiratorio inferior van desde la colonización o traqueobronquitis benigna hasta la bronconeumonía grave y necrotizante. *P. aeruginosa* suele asociarse a otitis externa y otitis media crónica así como a otitis externa maligna; así como a otras infecciones localizadas en el tracto gastrointestinal y urinario, ojo, sistema nervioso central y sistema músculo esquelético.

*P. aeruginosa* tiene un alto grado de interés en estudios epidemiológicos, y las cepas pueden ser caracterizadas o tipificadas usando el Juego de reactivos de antisueros específicos somáticos y flagelares, la fagotipia o bien la sensibilidad a bacteriocinas.

*P. pseudomallei* se aísla generalmente de suelo y agua en países tropicales, observándose un crecimiento de colonias con pigmentación que va de crema a naranja brillante. Es el agente causal en el hombre de la melioidosis, la cual muestra manifestaciones clínicas variadas: a partir de un contacto cutáneo, se puede desarrollar una infección supurativa localizada, esta forma se puede resolver sin problemas o progresar rápidamente a una sepsis fulminante; la tercera forma de



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	43/320

infección es la pulmonar, que puede ir desde una bronquitis leve hasta una neumonía necrotizante.

*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri* y *P. cepacia* se consideran ubicuas en la naturaleza pero algunas veces se aíslan de esputo, orina, abscesos, heridas y sangre, al igual que otras especies como organismos oportunistas. *P. cepacia* ha surgido como patógeno en pacientes con fibrosis quística.

TABLA 3.1. Identificación de bacterias Gram negativas no fermentadoras recuperadas con frecuencia a partir de muestras clínicas.

GÉNEROS	O/F glucosa	Oxidasa	Catalasa	reducción de NO <sub>3</sub>		Movilidad	CRECIMIENTO EN:		
				NO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>		MacConkey	SS	Pseudocel
<i>Pseudomonas</i>	O	+	+	V	V	+	+	+(-)	
<i>Acinetobacter</i>	O	-	+	-	-	-	+	V	-
<i>Achromobacter</i>	O	+	+	+	-	+	+	+	+
<i>Alcaligenes</i>	I	+	+	V	-	+	+	V	V
<i>Eikenella corrodens</i>	I	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>Flavobacterium</i>	O	+	+	-	-	-	-	-	-
Gpos del CDC	V	+	+	V	V	V	-	-	V
<i>Moraxella</i>	I	+	+	V	V	-	-	-	-

I=inactivo V=variable (25-75% de las especies) +(-) mayoría de especies positivas

\* excepto *P. maltophilia*

\*\* excepto *P. mallei*

Adaptada de Ballows y col., 1991.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	44/320

TABLA 3.2. Características diferenciales entre algunas bacterias Gram negativas de importancia médica.

CARACTERÍSTICA	<i>Acinetobacter</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>
Catalasa	+	+	+	+
Oxidasa	-	-	+	V+
Crecimiento en MacConkey	C	C	C	C
Red. de nitrato	-	+	V	V
Motilidad (37 °C)	-	V+	V-	V+
O/F glucosa	O	F	O	O
H <sub>2</sub> S	-	-	V	V-
Indol	-	+	V-	-
Citrato de Simmons	V	-	V	V
Urea de Christensen	V	-	-	V-
Rojo de metilo	-	+	-	-
Voges-Proskauer	-	-	-	-

Símbolos:

- + positivo
- negativo
- C crecimiento
- V + variable, en su mayoría positivo
- V - variable, en su mayoría negativo
- F fermentativo
- O oxidativo

Adaptada de Cantú y col., 1990



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	45/320

TABLA 3.3. Características de *Pseudomonas* de importancia médica.

CARACTERÍSTICA	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. pseudomallei</i>
No. de flagelos	1	>2	>2
Oxidasa	+	+	+
Crec. en SS	+	+	-
Crec. a 4°C	-	+	-
42°C	+	-	+
Fluoresceína	+	+	-
Piocianina	+	-	-
H <sub>2</sub> S	(+)	-	-
Red. de NO <sub>3</sub> a NO <sub>2</sub>	+	+	+
N <sub>2</sub>	+	-	+
Ácido de:			
lactosa	-	v-	-
maltosa	-	+	+
sacarosa	-	+	+
trehalosa	-	+	+
Descarb. de:			
lisina	-	-	-
ornitina	-	-	-

Adaptada de Cantú y col., 1990

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

### A. Diferenciación del género *Pseudomonas* de otros géneros semejantes.

Cepas: *Acinetobacter sp.*  
*Escherichia coli*  
*Flavobacterium sp.*  
*Pseudomonas sp.*

- 2 placas de agar MacConkey
- 2 placas de agar cetrimida
- 2 placas de agar SS
- 1 placa de agar BHI (para oxidasa)
- 4 tubos con glucosa Hugh-Leifson con sello de nujol
- 4 tubos con glucosa Hugh-Leifson sin sello de nujol



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	46/320

- 4 tubos con LIA
- 4 tubos con MIO
- 4 tubos con SIM
- 4 tubos con citrato de Simmon
- 4 tubos con urea de Christensen
- 4 tubos con RM VP
- 4 tubos con caldo nitrato

Reactivos para: catalasa, oxidasa, indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y, reducción de nitratos.

Juego de reactivos para tinción de Gram.

*B. Diferenciación de especies del género *Pseudomonas**

Cepas: *P. aeruginosa*  
*P. fluorescens*

- 2 placas de agar Cetrimida
- 2 tubos con maltosa Hugh-Leifson con sello de nujol
- 2 tubos con maltosa Hugh-Leifson sin sello de nujol
- 2 tubos con TSI
- 2 tubos con caldo nitrato con campana
- 2 tubos con caldo rojo de fenol + lactosa
- 2 tubos con caldo rojo de fenol + maltosa
- 2 tubos con caldo rojo de fenol + sacarosa
- 2 tubos con caldo rojo de fenol + trehalosa
- 4 tubos con caldo BHI

Juego de reactivos para tinción de Gram

Discos de kanamicina

Lámpara de luz ultravioleta



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	47/320

## Procedimiento

### A. Diferenciación del género *Pseudomonas* de otros géneros semejantes.

1. Realizar frotis de cada cepa y teñir con la técnica de Gram. (Anexo B - Tinciones) Observar la morfología microscópica.
2. Realizar las pruebas de catalasa y oxidasa.
3. Sembrar cada una de las cepas por estría cruzada, en la mitad de las placas de agar MacConkey, SS, Cetrimida y BHI.
4. Sembrar cada una de las cepas en los medios de: glucosa Hugh-Leifson, LIA, MIO, SIM, citrato de Simmon, urea de Christensen, y los caldos RM-VP y nitrato.
5. Incubar a 37°C durante 24 horas.
6. Observar si hay o no crecimiento en las placas de agar MacConkey, SS y Cetrimida, observar si hay crecimiento o no así como la morfología colonial.
7. Observar la vía de degradación por la que se degrada la glucosa. Registrar los resultados de las demás pruebas bioquímicas.
8. Comparar los resultados obtenidos, con las Tablas 3.1. y 3.2., realizar la discusión y conclusiones de sus resultados.

### B. Diferenciación de especies del género *Pseudomonas*

1. De cada cepa realizar frotis y teñir con la técnica de Gram (Anexo B - Tinciones) Observar morfología microscópica.
2. Sembrar cada cepa en los medios maltosa Hugh - Leifson, TSI, y en los caldos para carbohidratos y BHI
3. Sembrar cada una de las cepas por estría cruzada en las placas de agar cetrimida y colocar un disco de kanamicina en la zona de la descarga para observar la sensibilidad.
4. Incubar a 37°C durante 24 horas.
5. Incubar los tubos de BHI con cada una de las cepas a 4° y 42°C.
6. Observar la sensibilidad a la kanamicina; la pigmentación y fluorescencia de las cepas en las placas de agar cetrimida; la vía metabólica utilizada para la



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	48/320

degradación de maltosa; el crecimiento a 4° y 42°C; y los resultados de las pruebas bioquímicas.

7. Comparar los resultados obtenidos, con la Tabla 3.3. y realizar la discusión y conclusiones.

### Equipo

Microscopio Óptico

### Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

### Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	49/320

## PRÁCTICA No. 4

**Género: *Bacillus***  
**Género: *Clostridium***

### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico de los géneros bacterianos: *Bacillus* y *Clostridium* que causan infecciones de la piel y del músculo esquelético

### Introducción

A. Diferenciación de los bacilos esporógenos grampositivos de importancia médica.

El género *Bacillus* consta de bacilos grandes, grampositivos, esporógenos con endospora generalmente central de forma cilíndrica o helicoidal; aerobios estrictos o facultativos, catalasa positiva. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza: suelo, vegetación, agua y aire; son frecuentemente contaminantes de cultivos de muestra clínicas en el laboratorio. Únicamente nueve especies se han relacionado a procesos infecciosos en el humano. La especie de mayor importancia médica es *B. anthracis*.

El género *Clostridium* se compone de bacilos delgados y pleomórficos, grampositivos, esporógenos (espora generalmente esférica y terminal), la mayoría anaerobios estrictos; para algunos el oxígeno es letal y otros pueden tolerarlo, pero no ocurre crecimiento. Su distribución en la naturaleza es amplia, comúnmente se encuentran como saprófitos en el suelo, agua y vegetación; algunos también pueden encontrarse en el tracto gastrointestinal de animales y hombre. Comúnmente tienen una existencia saprófita pero algunas especies causan enfermedades tanto en el hombre como en animales, siendo las más importantes de origen exógeno, y las más comunes de origen endógeno debido a condiciones desfavorables del huésped.

La diferenciación de estos dos géneros, puede realizarse mediante el crecimiento



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	50/320

en aerobiosis y anaerobiosis, determinación de la catalasa y la posición de las esporas. (Tabla 4.1)

#### B. Diferenciación de especies de *Bacillus*.

*B. anthracis* es un bacilo de gran tamaño (1.0  $\mu\text{m}$  x 3-5  $\mu\text{m}$ ), que aparece de manera aislada en muestras clínicas, así como en cadenas serpinginosas largas y aglomeraciones en el cultivo. Las esporas aparecen ya en cultivos de 2 a 3 días, pero no se observan en las muestras clínicas. En éstas se aprecia una cápsula (de ácido glutámico) que no se produce *in vitro* a menos que se utilicen condiciones de crecimiento especiales -p. ej. bajo tensión de CO<sub>2</sub> en medios con bicarbonato 0.7%. Además del antígeno capsular existe un antígeno somático de la pared celular de polisacáridos y una toxina: la toxina del ántrax formada por tres elementos termolábiles -el antígeno protector, el factor letal y el factor edematoso-.

*B. anthracis* es el agente etiológico del ántrax (carbunco o pústula maligna) enfermedad que afecta sobre todo a los herbívoros; aunque ésta es una zoonosis típica ya que el humano se infecta accidentalmente por exposición a animales o productos animales contaminados, el ántrax humano lo contraen principalmente granjeros veterinarios y trabajadores de los mataderos y lo adquieren por tres vías: inoculación, inhalación o ingestión

Aproximadamente el 95% de las infecciones por ántrax se deben a inoculación de esporas de *Bacillus* a través de la superficie cutánea expuesta, por contaminación del suelo o de productos animales, pelo de cabra o lana. El ántrax por inhalación -enfermedad de Woolsorter- se produce por inhalación de esporas de *B. anthracis* durante la manipulación de piel de cabra. El ántrax por ingestión es raro en el ser humano. No se ha descrito transmisión interpersonal.

*B. cereus*. La gastroenteritis causada por *B. cereus*, segunda especie de importancia médica, se debe a una de las dos enterotoxinas. La enterotoxina termoestable es responsable de la enfermedad caracterizada por vómitos (forma emética), mientras que la termolábil -similar a la producida por *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae*- provoca la forma diarreica.

La patogenia de la panoftalmítis por *B. cereus* involucra mínimo tres toxinas: la toxina necrótica -enterotoxina lábil-; la cerelisina -hemolisina potente- y la fosfolipasa C -potente lecitinasa-.

En años recientes otras especies como *B. brevis*, *B. circulans*, *B. macerans*, *B.*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	51/320

*pumilis*, *B. sphericus*, *B. subtilis* y *B. thuringiensis* se han reportado como agentes etiológicos de procesos infecciosos humanos que presentan un factor predisponente entre éstos están el uso de drogas inmunosupresoras, transplantes y cáncer.

Las colonias de *B. anthracis* en ASC después de 24 h de incubación a 35°C miden de 2-5 mm de diámetro y tienen apariencia de vidrio esmerilado, bordes como “cabeza de medusa”, y no presentan hemólisis. *B. anthracis* exhibe el fenómeno de “collar de perlas” en agar con penicilina (0.05 a 0.5 U/ml) incubando de 3 a 6 hs a 37°C; por su susceptibilidad a este antibiótico es posible observar microscópicamente grandes “bacilos esféricos” en cadena. La patogenicidad de la bacteria se determina inoculando subcutáneamente 0.2 ml de una suspensión microbiana en ratones, los que mueren después de 36 a 48 hs de la inoculación. Cuando se trabaja con muestras clínicas o con cultivos en los que se sospeche la presencia de *B. anthracis* es necesario trabajar en un gabinete de seguridad y desinfectar el área de trabajo con hipoclorito de sodio al 1%.

TABLA 4.1. Diferenciación de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*.

CARACTERÍSTICA	<i>Bacillus</i>	<i>Clostridium</i>
Forma	bacilos	bacilos
Esporas	+	+
Movilidad	+ <sup>1</sup>	+ <sup>2</sup>
Crec. aerobiosis anaerobiosis	+ <sup>3</sup> -	- <sup>4</sup> +
Catalasa	+	-
Ácido de glucosa	+	+ <sup>5</sup>

<sup>1</sup>*B. anthracis* es inmóvil y crece en anaerobiosis

<sup>2</sup>*C. perfringens* es inmóvil

<sup>3</sup>*B. cereus* crece en anaerobiosis

<sup>4</sup>*C. histolyticum* y *C. tertium* crecen en aerobiosis

<sup>5</sup>*C. tetani* y *C. histolyticum* no producen ácido a partir de glucosa

Tomada de García y Zamudio, 1998.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/2020</b>	1	<b>52/320</b>



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	53/320

TABLA 4.2. Características diferenciales de algunas especies de *Bacillus*.

CARACTERÍSTICA	<i>B. anthracis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. subtilis</i>
Ácido de:				
arabinosa	-	-	+	+
glucosa	+	+	+	+
manitol	-	-	+	+
salicina	-	+/-	-	+/-
Cápsula	+	-	NR	-
Crecimiento en:				
agar penicilina	-	+	-	NR
anaerobiosis	+	+	-	-
Citrato	+	+	+	+
Glucosa O/F	F	F	O	O
Hemólisis ASC	-	+β	-	+/-
Hidrólisis de:				
almidón	+	+	+	+
gelatina	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-
Movilidad	-	+	+	+
Peptonización LT	-	+	+/-	+
Red. de nitratos	+	+	V <sup>-</sup>	+
Virulencia en ratón	+	-	-	-
Voges-Proskauer	+	+	-	+

Tomada de García y Zamudio, 1998.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	54/320

TABLA 4.3. Diferenciación de algunas especies de *Clostridium*.

CARACTERÍSTICA	<i>C. perfringens</i>	<i>C. botulinum</i>	<i>C. tetani</i>
Ácido de:			
glucosa	+	+	-
lactosa	+	-	-
maltosa	+	v	-
manitol	-	-	-
sacarosa	+	v	-
sorbitol	-	v	NR
trehalosa	v	v	NR
Crecimiento aeróbico	-	-	-
Esporas	subterminal	subterminal	terminal
Hemólisis ASC	+	+/-	+
H <sub>2</sub> S	-	+/-	v
Indol	-	-	v
Leche tornasolada	A C G	-	V
Movilidad	-	+	+
Red. de nitratos	V	-	-
Voges Proskauer	V	-	-

V variable NR no reportado A C G ácido, coágulo, gas

Adaptada de Cantú y col, 1990.

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

A. Diferenciación de los bacilos esporógenos grampositivos de importancia médica.

Cepas: *Bacillus sp.*

*Clostridium sp.*

- 2 placas de agar sangre de carnero 5%
- 2 placas de agar Brewer
- 2 tubos de leche tornasolada con sello de nujol

Juego de reactivos para tinción de Gram

Juego de reactivos para tinción de Shaeffer-Fulton

Jarra de anaerobiosis



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	55/320

#### B.- Diferenciación de especies de Bacillus

Cepas: *B. anthracis*

*B. cereus*

*B. subtilis*

- 3 placas de agar sangre de carnero 5%
- 3 tubos con SIM
- 3 tubos con leche tornasolada
- 3 tubos con caldo rojo de fenol + arabinosa
- 3 tubos con caldo rojo de fenol + manitol
- 3 tubos con caldo rojo de fenol + salicina
- 3 tubos con glucosa Hugh-Leifson con sello de nujol
- 3 tubos con glucosa Hugh-Leifson sin sello de nujol
- 3 tubos con caldo RM VP

Juego de reactivos para tinción de Gram

Juego de reactivos para tinción de Shaeffer-Fulton

### Procedimiento

A. Diferenciación de los bacilos esporógenos grampositivos de importancia médica.

1. Realizar dos frotis de cada cepa y teñir uno con la técnica de Gram y el otro con la técnica de Shaeffer-Fulton (Anexo B - Tinciones). Observar morfología microscópica.
2. Realizar la prueba de la catalasa.
3. Sembrar por estría cruzada cada una de las cepas en las placas de agar sangre y agar Brewer.
4. Una caja de cada medio, se incuba en anaerobiosis y la otra en aerobiosis a 37°C durante 48 hs.
5. Comparar los resultados con la Tabla 4.1. realizar la discusión y conclusiones.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	56/320

## B.- Diferenciación de especies de Bacillus

1. Realizar frotis de cada cepa y teñir con Gram y de Shaeffer-Fulton (Anexo B - Tinciones). Observar la morfología microscópica.
2. Sembrar cada cepa por estría cruzada en agar sangre.
3. Sembrar cada cepa en los medios SIM, Hugh-Leifson, leche tornasolada, RM-VP y, carbohidratos.
4. Incubar a 37°C durante 24-48 hs.
5. Comparar los resultados obtenidos con la Tabla 4.2. y realizar la discusión y conclusiones.

### Equipo

Microscopio Óptico  
Jarra de anaerobiosis

### Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

### Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	57/320

## PRÁCTICA No. 5

### Diagnóstico de infecciones bacterianas en piel

#### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico de una muestra problema para identificar los géneros bacterianos causantes de la infección

#### Introducción

Los objetivos del laboratorio de microbiología son proporcionar información exacta sobre la presencia o ausencia en una muestra de microorganismos que pudieran participar en la enfermedad de un paciente y, cuando sea relevante, ofrecer información sobre la susceptibilidad de los gérmenes aislados a los antimicrobianos. La identificación precisa del germen causal de una infección se ha hecho cada vez más importante ahora que es posible una intervención terapéutica eficaz. La probabilidad de conseguirlo depende de una interacción efectiva entre el médico y el microbiólogo; el médico debe conocer la complejidad de las pruebas y el tiempo necesario para conseguir un resultado. A su vez el microbiólogo debe comprender la naturaleza del proceso del paciente y estar capacitado para elegir y aplicar los métodos a su alcance, considerando que la información puede obtenerla mediante:

- el examen microscópico de las muestras,
- el cultivo y la identificación de los microorganismos a partir de las muestras,
- la medición de la respuesta inmune del huésped específica contra el patógeno y,
- la detección de macromoléculas del patógeno en el huésped.

Los agentes infecciosos ingresan en la piel y los tejidos blandos subyacentes de muchas maneras diferentes.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	58/320

- Desde el exterior, a través de cortes, heridas, picaduras de insectos, enfermedades cutáneas y otras pérdidas de integridad del estrato córneo.
- Desde el interior, a partir del tejido subyacente o transportados por la sangre o la linfa.

El daño celular en la piel y los tejidos blandos puede estar mediado por toxinas, enzimas degradativas y la inducción de las respuestas celulares del huésped que destruyen los tejidos.

El tipo de infección causada por la invasión de los microorganismos en la piel depende del nivel de penetración y de la respuesta. (Cuadro 5.1)

Las infecciones de la piel y de los tejidos pueden dividirse en tres clases:

1. las infecciones exógenas que resultan de la invasión directa desde el medio ambiente externo
2. las infecciones endógenas debidas a la invasión desde una fuente interna, como la sangre o un órgano infectado
3. las enfermedades cutáneas inducidas por toxinas, causadas por toxinas producidas en un sitio alejado.

### INFECCIONES EXÓGENAS

Existen controversias en cuanto a si los patógenos potentes son capaces de penetrar directamente en la piel normal, cuando están presentes en altas concentraciones, o si ingresan a través de lesiones microscópicas imperceptibles. Cuando no hay interrupciones mecánicas notables es necesaria una gran cantidad de patógenos potentes para que se produzcan las infecciones exógenas de la piel y los tejidos blandos. (Cuadro 5.2)

Ciertas condiciones predisponen a la invasión cutánea:

- la humedad excesiva, induce maceración de la piel y la desintegración del estrato córneo; puede ser el resultado del uso de vendajes oclusivos o de pañales húmedos en los niños, las personas obesas acumulan humedad en los pliegues intertriginosos. Las infecciones por inmersión se ven en personas que pasan mucho tiempo en áreas húmedas o pantanosas;
- los traumatismos: pueden ser leves o ser formas mayores que conllevan riesgos para el paciente como la cirugía o las quemaduras;



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	59/320

- muchos procedimientos utilizados en hospitales quiebran la barrera cutánea; el más común de ellos es el empleo de catéteres percutáneos, otro tipo de infección cutánea en pacientes internados está dado por las lesiones cutáneas que ocurren de forma secundaria a las lesiones por compresión, las denominadas úlceras por presión;
- cualquier condición que comprometa la irrigación predispone a la piel a la invasión porque lleva a la ruptura de la barrera y a la limitación de las defensas (p. ej. luego de enfermedad vascular como en los pacientes diabéticos, en los ancianos o en los pacientes con vasculitis).

La piel responde a los microorganismos invasores en un número limitado de formas, que se dividen en tres categorías generales:

1. Las infecciones que se diseminan, denominadas impétigo cuando están limitadas a la epidermis, erisipela cuando afectan vasos linfáticos dérmicos y celulitis cuando el foco principal es la capa de grasa subcutánea.
2. La formación de abscesos, conocidos como foliculitis, furúnculos y ántrax.
3. Las infecciones necrotizantes, incluyendo la fascitis y la gangrena gaseosa (mionecrosis).

### INVASIÓN DESDE EL INTERIOR

La piel puede ser infectada por microorganismos que se diseminan desde otro sitio infectado, ya sea por extensión directa desde un foco subyacente o a través del torrente circulatorio. Estas infecciones secundarias ocurren tanto en los huéspedes inmunocompetentes como en los inmunosuprimidos, pero con diferentes grados de incidencia y severidad.

En el cuadro 5.3 se mencionan algunos tipos de infecciones cutáneas que ocurren desde el interior. Las infecciones sistémicas se manifiestan en una variedad de formas:

- abscesos, resultado de infecciones intravasculares como la endocarditis por *Staphylococcus aureus*.
- necrosis, como la púrpura fulminante (manifestación cutánea de la coagulación intravascular diseminada) observada en la meningococemia crónica o en la septicemia meningocócica; o el ectima gangrenoso, que en general se observa con la septicemia por *Pseudomonas aeruginosa*.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/2020</b>	1	<b>60/320</b>

- erupciones o exantemas, hemorrágicas como en la meningococemia y maculares como en la fiebre tifoidea.
- lesiones no infecciosas en sí mismas: p. ej. hemorragias, petequias y manifestaciones especiales de la endocarditis bacteriana subaguda (nódulos de Osler y lesiones de Janeway) debidas a vasculitis probablemente por depósito de complejos inmunes.

#### RESPUESTAS CUTÁNEAS A LAS TOXINAS BACTERIANAS

Durante infecciones que ocurren en sitios alejados la piel responde a la toxinas: p. ej. en la escarlatina, una faringitis causada por ciertas cepas de estreptococos del grupo A, que transcurre con una erupción roja “la lengua de frambuesa” y la descamación de la piel en la extremidades; los estafilococos causan dos enfermedades cutáneas inducidas por toxinas específicas: el síndrome de la piel escaldada y el síndrome del shock tóxico.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/2020</b>	1	<b>61/320</b>

Cuadro 5. 1 Miembros de la biota cutánea y las infecciones que causan. Se enumeran algunos de los agentes patógenos importantes que colonizan la piel de forma transitoria y las infecciones que causan.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	62/320

### BIOTA RESIDENTE

- Propionibacterium acnes*
- Staphylococcus epidermidis*: infección alrededor de cuerpos extraños
- Micrococcus*
- cocos Gram positivos anaerobios
- bacilos Gram negativos aerobios (baja cantidad)
- Pytirosporium ovale*

### BIOTA TRANSITORIA

#### BACTERIAS

##### FRECUENTES

- S. aureus*: abscesos, shock tóxico, bacteremia
- Streptococcus pyogenes*: celulitis, linfangitis

##### POCO FRECUENTES

- Haemophilus influenzae*: celulitis
- clostridios: gangrena
- Francisella tularensis*: tularemia
- Bacillus anthracis*: carbunco
- Pseudomonas aeruginosa*: infección por baños de inmersión
- P. cepacia*: infección de los pies
- Mycobacterium marinum*: "celulitis de los tanques para peces"

#### HONGOS

- Candida albicans*: dermatitis del pañal, paroniquia crónica
- Dermatofitos: tiñas

#### VIRUS

##### FRECUENTES

- Virus Herpes simple I y II : perioral; infección genital
- Papilomavirus: verrugas

##### POCO FRECUENTES

- Molluscum contagiosum*: lesiones similares a verrugas

Cuadro 5.2. Causas bacterianas y micóticas comunes de infección cutánea.

Estructura afectada	Infección	Causa común
---------------------	-----------	-------------



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	63/320

Epitelio queratinizado	tiña	hongos dermatofitos <i>Epidermophyton</i> , <i>Microsporum</i> , <i>Trichophyton</i>
Epidermis	impétigo	<i>Streptococcus pyogenes</i> y/o <i>Staphylococcus aureus</i>
Dermis	erisipela	<i>S. pyogenes</i>
Folículos pilosos	foliiculitis, forúnculos, carbunco	<i>S. aureus</i>
Grasa subcutánea	celulitis	<i>S. pyogenes</i>
Fascia	fascitis necrotizante	anaerobios y microaerofilos, habitualmente infecciones mixtas
Músculo	mionecrosis gangrena	<i>Clostridium perfringens</i> y otros clostridios

Tomado de García y Zamudio, 1998.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	64/320

Cuadro 5.3. Ejemplos de fuentes de infecciones cutáneas endógenas.

<p>A. Extensión directa</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Osteomielitis: seno drenante</li><li>2. Artritis séptica: seno drenante</li><li>3. Linfadenitis<ol style="list-style-type: none"><li>a. tuberculosis</li><li>b. micobacteriosis atípica</li><li>c. infección estreptocócica o estafilocócica</li></ol></li><li>4. Infección oral: sepsis dental<ol style="list-style-type: none"><li>a. actinomicosis</li><li>b. celulitis mixta</li></ol></li><li>5. Infección intraabdominal: infección necrotizante</li><li>6. Herpes simple</li><li>7. Varicela zoster</li></ol>
<p>B. Diseminación hematógica</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Bacteremia meningococo, <i>Staphylococcus</i>, <i>Pseudomonas</i></li><li>2. Endocarditis</li><li>3. Fungemia: <i>Candida</i></li><li>4. Viremia: varicela, sarampión</li><li>5. Infecciones virales recurrentes: Herpes simple, Zoster</li><li>6. Rickettsiosis: fiebre manchada de las montañas Rocallosas, Tifus epidémico o endémico</li></ol>

A continuación, considerando:

- -que las infecciones oscilan desde afecciones leves hasta la fascitis y la gangrena que ponen en peligro la vida del hombre;
- -que la introducción directa de bacterias u hongos en la piel es la ruta común de infección cutánea, y
- -que en la infecciones comunes intervienen relativamente pocas especies (Cuadro 5.2) se presenta una guía del trabajo que realizaría el microbiólogo para aislar e identificar al probable agente causal bacteriano. (Diagrama 5.1)





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	65/320

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Muestra microbiológica en caldo BHI  
Muestra microbiológica en caldo tioglicolato

placas de agar sangre de carnero 4.5%  
placas de agar S-110  
placas de agar EMB  
placas de agar Cetrimida  
placas de agar Mueller-Hinton  
tubos con LIA  
tubos con SIM  
tubos con TSII  
tubos con glucosa Hugh-Leifson con sello de nujol  
tubos con glucosa Hugh-Leifson sin sello de nujol  
tubos con manitol Hugh-Leifson con sello de nujol  
tubos con manitol Hugh-Leifson sin sello de nujol  
tubos con caldo rojo de fenol + lactosa  
tubos con caldo rojo de fenol + maltosa  
tubos con caldo rojo de fenol + manitol  
tubos con caldo rojo de fenol + sorbitol  
tubos con caldo rojo de fenol + trehalosa  
tubos con caldo RM-VP  
tubos con caldo nitrato con campana  
tubos con leche tornasol

Juego de reactivos para tinción de Gram  
Juego de reactivos para tinción de Shaeffer-Fulton  
Discos de bacitracina 0.04 U  
Discos de kanamicina  
Reactivos para: catalasa, oxidasa, indol, reducción de nitratos



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	66/320

## Procedimiento

1. De la muestra proporcionada, realizar frotis y teñir. Observar morfología microscópica.
2. De acuerdo con la observación microscópica, aislar en medios de cultivo adecuados.
3. Incubar a 37°C, en las **condiciones atmosféricas adecuadas**, durante 24-48 hs.
4. Identificar los microorganismos aislados, empleando pruebas diferenciales según le sugieran su morfología colonial y microscópica.
5. Realizar el antibiograma de la especie patógena aislada.
6. Comparar los resultados de las pruebas realizadas con las tablas contenidas en las prácticas anteriores, discutir y concluir.

## Equipo

Microscopio Óptico  
Jarra de anaerobiosis

## Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

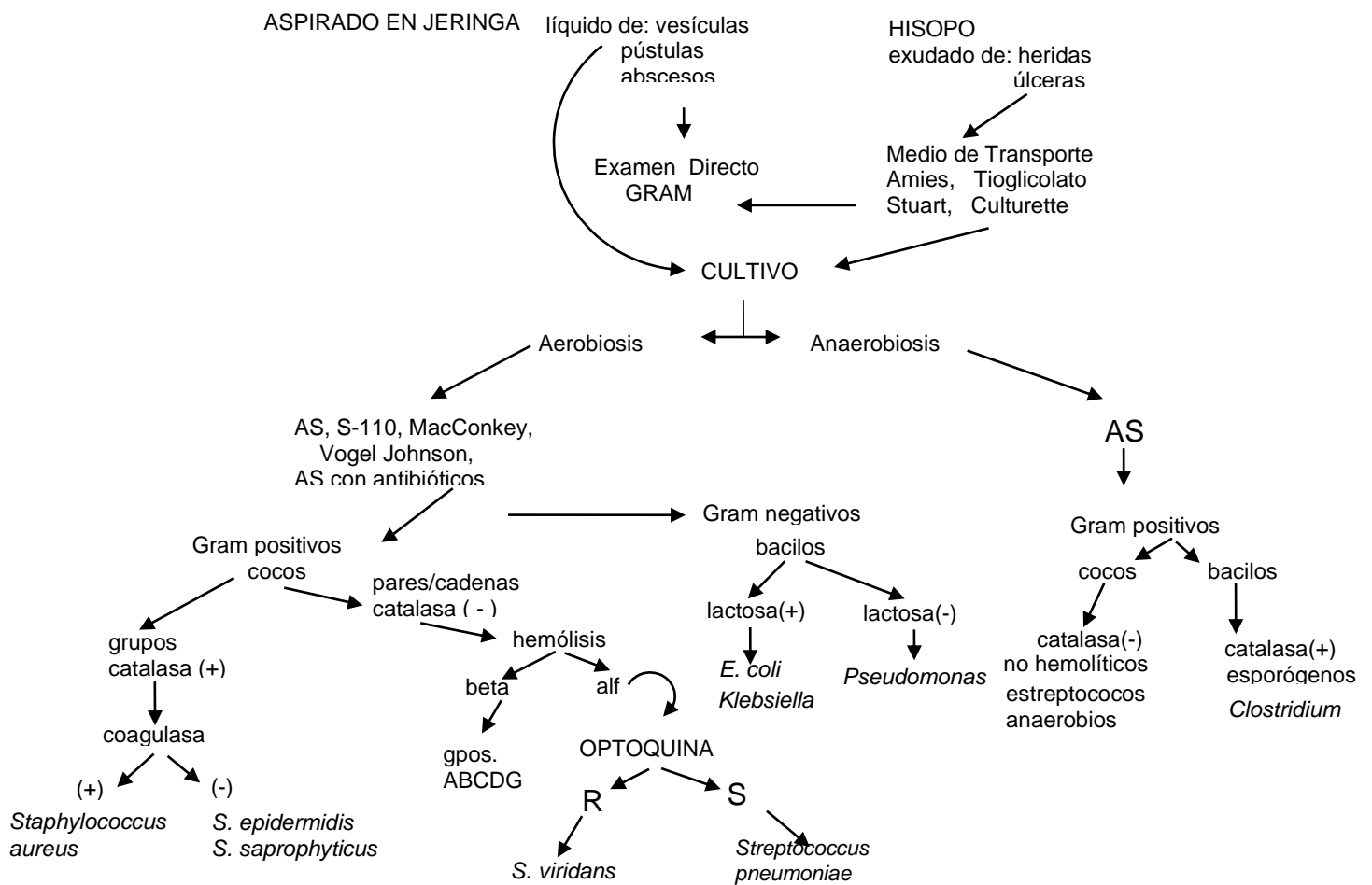
## Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	67/320

DIAGRAMA 5.1 Resumen para el manejo de muestras en la identificación de bacterias patógenas en piel y músculo esquelético



Adaptado de Mims, 1995



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	68/320

## PRÁCTICA No. 6

### DERMATOMICOSIS – DERMATOFICOSIS

#### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico de agentes causales de dermatomicosis.

#### Fundamento teórico

El tipo más común de infección por hongos es por dermatofitos, que se caracterizan por atacar piel y estructuras anexas queratinizadas. La gravedad depende de la localización de la especie del hongo. La lesión se caracteriza por ser circular, debido al crecimiento radial.

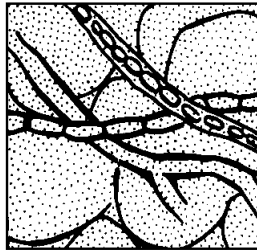
La capacidad de utilizar la queratina (es una escleroproteína) es una propiedad de la familia *Gymnoascaseae*, aunque hasta hace tiempo se clasificaron dentro de los hongos imperfectos por lo que muchos llevan ahora dos nombres dependiendo de su estado. La mayor parte de los que presentan un estado perfecto son heterotálicos, por lo que sólo presentan ascas cuando hay apareamiento. Incluso los cleistocarpos sólo se producen en medios que contengan queratina y tierra.

Los dermatofitos difieren de otros hongos en que sus células son multinucleadas (4 a 6 núcleos) y su división es amitótica. Aunque las diversas especies de dermatofitos producen infecciones clínicamente características, una especie puede producir diferentes tipos de enfermedad, e infecciones similares o idénticas pueden depender de especies diferentes. Además las dermatitis por productos químicos, neurodermatitis y ciertos tipos de alergias pueden semejarse a las dermatofitosis.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	69/320

Cuando crecen en la piel y sus apéndices el talo se diferencia solamente en hifas y artrosporas (etapa parasitaria), que no producen cuando crecen saprofiticamente en suelo o cultivos.



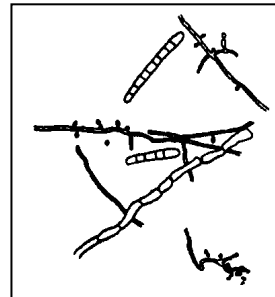
Hifas de 2 a 4  $\mu$  de diámetro septadas que a menudo segmentan para dar lugar a cadenas rectangulares de artrosporas.  
(Tomado de Zapater, 1981)

En medios artificiales y dependiendo del valor nutritivo del sustrato, de la temperatura, O<sub>2</sub>, pH, etc. se caracterizan por presentar:

- microconidias o aleuriosporas.
- macroconidias o esporas fusiformes.
- estructuras vegetativas en espiral.
- cuerpos pectinados.
- órganos nodulares y cuerpos en raqueta.
- pigmentación variable.
- variable morfología colonial.
- clamidiosporas.
- blastosporas.



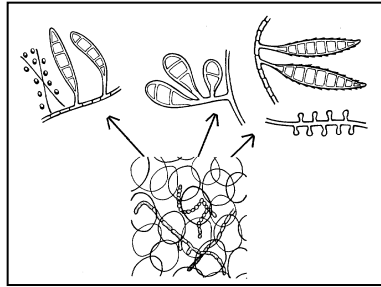
Filamentos con sarcinas, racimos esporíferos de microconidias redondas y macroconidias



Filamentos micelianos, microsporas alargadas y macroconidias.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	70/320



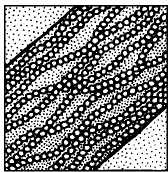
En muestras de piel, pelo y uñas, los dermatofitos se muestran filamentosos, artrosporados; en cultivo originan tres tipos de macroconidios: *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*

(Imágenes tomadas de Zapater, 1981)

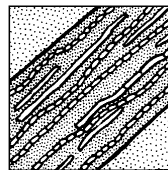
La diferenciación se basa en la localización de las artrosporas en relación con el pelo:

1. endotrix las esporas se encuentran dentro del pelo.
2. ectotrix esporas sólo en la superficie del pelo.

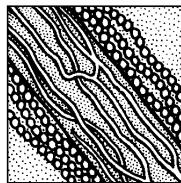
Son parásitos del hombre (antropofílicos) y de los animales (zoofílicos), encontrándolos comúnmente en el suelo (geofílicos). Muestran distribución en cuanto a edad, sexo y geografía. Se transmiten por contacto y crecen con facilidad en laboratorio.



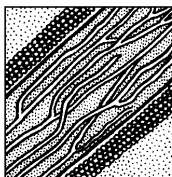
Endotrix.  
Cadenas de esporas de 4 a 5  $\mu$ , de diámetro



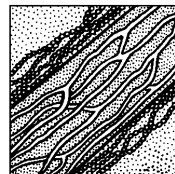
Endotrix filamentosos. Tubos miceliales longitudinales, ramificados, dicotómicos y aisladamente cadenas de artrosporos



Ectotrix megasporado.  
Esporas de 5 a 8  $\mu$  de diámetro



Ectotrix microspórico.  
Esporas de 2 a 3  $\mu$ , de diámetro



Ectotrix microides.  
Esporas en largas cadenas

Imágenes tomadas de Zapater, 1981

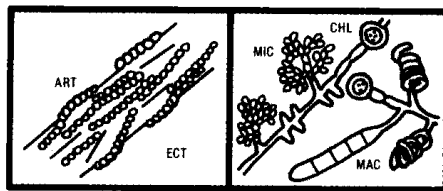


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	71/320

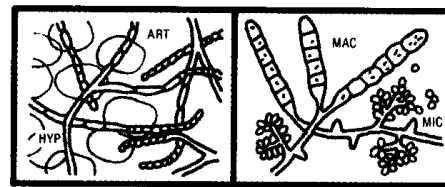
**Trichophyton.** Ataca pelo, piel y uñas.

- Pelo: artrosporas en hileras en el interior del pelo o por fuera de él, pueden ser pequeñas o grandes.
- Piel y uñas: se presentan como elementos ramificados miceliales y segmentados que pueden fragmentarse en artrosporas o no.
- Colonia de aspecto algodonoso, granular o polvoriento, vellosa, lisa o cérea, de pigmentación muy variable que se puede perder.
- Microconidias en forma de pequeñas estructuras en mazo o subesféricas, hialinas, de pared delgada, unicelulares, de 2 a 4  $\mu\text{m}$ , que se organizan en racimos o nacen aisladas a los lados de la hifas. (tirsos)
- Macroconidias (husos). Son raros, grandes estructuras fusiformes o en maza, hialinas de pared gruesa o delgada, lisas de 4 a 6  $\mu\text{m}$  x 10 a 50  $\mu\text{m}$ .
- Micelio en raqueta, clamidiosporas, cuerpos nodulares, hifas en espiral, etc.

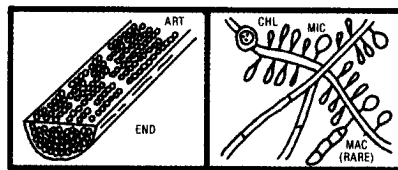
*Trichophyton mentagrophytes*. Cultivos polvorientos o granulados de color rosado, con crecimiento aterciopelado-algodonoso. El reverso de la colonia tiene color vino o pardo. En agar glucosa con harina de maíz la pigmentación es siempre amarilla, es ureasa (+) y produce perforaciones en pelos *in vitro*. Macroconidias y microconidias, cuerpos nodulares y clamidiosporas. Tipo *ectotrix*. Las colonias algodonosas casi no producen estas estructuras.



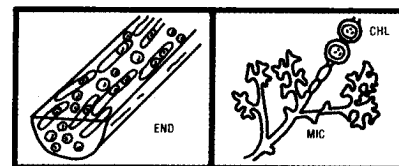
*Trichophyton mentagrophytes*



*Trichophyton rubrum*



*Trichophyton tonsurans*



*Trichophyton schoenleinii*

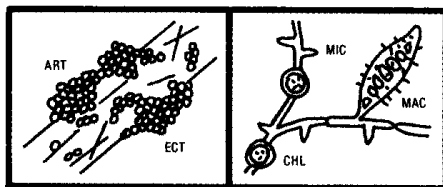


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	72/320

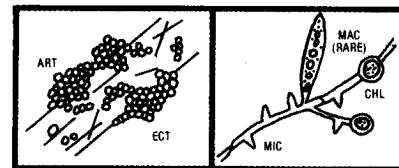
***Microsporium***. Ataca solamente piel y pelo.

- Pelo. Vaina en mosaico de pequeñas esporas en torno al tallo piloso; emiten fluorescencia verde con la luz de Wood.
- Piel. Elementos miceliales ramificados y segmentados.
- Micelio aéreo algodonoso, lanudo, enmarañado o polvoriento de blanco a pardo-ante. La pared espinosa de los macroconidios caracteriza al género.
- La espora puede tener hifas, sésiles o sobre cortos esterigmas, con microconidios en maza de 3 a 6  $\mu\text{m}$  y unicelulares. Hifas en raqueta o en forma de peine, cuerpos nodulares y clamidiosporas.

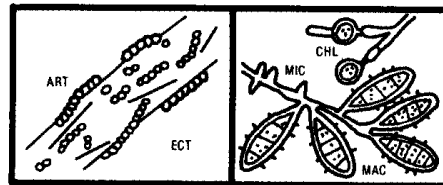
*Microsporium canis*. Micelio algodonoso, lanudo, aspecto polvoriento (pardo-ante), el reverso es pardo-rojizo a anaranjado brillante. Macroconidias de pared gruesa y rugosa, fusiformes primarios en forma de maza, unicelulares, a lo largo de las hifas. Hifas en raqueta, en forma de peine, cuerpos nodulares y clamidiosporas.



*Microsporium canis*



*Microsporium audouinii*



*Microsporium gypseum*

Tomado de Power y McCuen, 1988



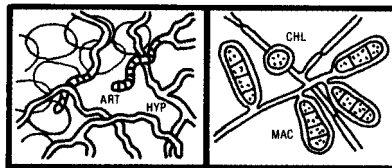


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	73/320

***Epidermophyton***. Ataca tan sólo piel y uñas.

- Aparece como elementos miceliales ramificados, sin diferenciarse de los otros dermatofitos *in vivo*.
- Cultivos aterciopelados, polvorientos con surcos radiales centrales y color amarillo verdoso.
- Macroconidios de pared delgada, lisos, multitabicados y en maza.
- Clamidiosporas e hifas en raqueta.

*Epidermophyton floccosum*. Colonia blanca y granulosa con penacho central de micelio de aspecto aterciopelado. Polvorienta con surcos radiantes (verdes-amarillos), micelio aéreo blanco, macroconidios de pared delgada.



*Epidermophyton floccosum*

Tomado de Power y McCuen, 1988

**Material, reactivos y cepas microbiológicas:**

Cepas: Diferentes especies de los géneros *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*.

Placa de agar dextrosa Sabouraud o agar papa dextrosa  
Tubos con agar dextrosa Sabouraud o agar papa dextrosa

Cajas Petri estériles, dispuestas para microcultivo (soporte de vidrio, portaobjetos y cubreobjetos)

Glicerol 10%, estéril  
Formol 10%, estéril

Azul de algodón lactofenol



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	74/320

## Procedimiento

1. Describir de la morfología colonial de las cepas de dermatofitos.
2. Inocular las cepas en los tubos con agar inclinado. Incubar a 25 °C. Revisar periódicamente.
3. Realizar el microcultivo de cada una de las cepas. Incubar a 25°C y revisar periódicamente que el desarrollo de micelio haga contacto con la superficie del cubreobjetos y del portaobjetos, en tal caso inactivar el crecimiento del hongo (por lo menos durante 1 h) retirando el glicerol y adicionando formol. En caso de que la incubación se prolongue (> 7 días) cuidar que el glicerol y el medio de cultivo sean suficientes.
4. Realizar preparaciones semipermanentes con cada uno de los cubreobjetos y portaobjetos obtenidos de los microcultivos, teñidas con azul de algodón lactofenol.
5. Observar microscópicamente las preparaciones buscando las estructuras que permiten identificar género.
6. Elabore su reporte en el formato correspondiente a micología, completando bibliográficamente la información que se le solicita; adjunto al reporte entregue las preparaciones en las que halla observado estructuras que permitan identificar al género, debidamente etiquetadas.

## Equipo

Microscopio Óptico  
Estuche de disección

## Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

## Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	75/320

## PRÁCTICA No. 7

### MICOSIS SUBCUTÁNEAS

#### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico de agentes causales de micosis subcutáneas.

#### Fundamento teórico

Grupo de enfermedades micóticas en las cuales están afectados tanto la piel como el tejido subcutáneo, pero no se produce diseminación a órganos internos, o es muy rara. Los agentes se clasifican en varios géneros independientes y tienen las siguientes características en común:

- Son básicamente saprófitos del suelo, de muy poca virulencia y muy poca capacidad invasora.
- En la mayor parte de infecciones humanas y de animales, entran en la economía a consecuencia de una implantación traumática en el tejido.

La lista de gérmenes aislados de tales enfermedades, o considerados causa de las mismas, es amplia y variada, p. ej.:

*Candida sp.* Causa lesiones en boca, vagina, piel, uñas, etc. Célula de tipo levadura de pared delgada, pequeña, oval, en gemación (blastosporas), de 2.5 a 4 µm. Elementos pseudomiceliales o miceliales escasos, en agar húmedo. En agar harina de maíz *C. albicans* produce clamidiosporas que no producen otras especies, y en tioglicolato, líquido cefalorraquídeo y albúmina de huevo produce tubos germinales.

*Madurella grisea.* Uno de los agentes causantes de la maduromicosis. Presenta



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	76/320

granos negros y blandos de 1  $\mu\text{m}$  de diámetro. Hifas hialinas grises oscuras. En cultivo producen un pigmento pardo-rojizo que difunde en el medio.

*Fonseca pedrosoi*. Produce la cromomycosis o dermatitis verrugosa. Colonias de crecimiento lento, pardo-oscuro o negras. Se le conocen tres tipos diferentes de esporulación:

1. Conidióforos de longitud variable, conidias unicelulares de 3 a 5  $\mu\text{m}$  x 1.5 a 3  $\mu\text{m}$ .
2. Conidióforo que se desarrolla como una célula de la que se originan las conidias.
3. Conidióforos en forma de redoma.

*Nocardia asteroides*. Produce metástasis en tejido subcutáneo, ataca además pulmones, cerebro y meninges. Filamentos ramificados Gram positivos, acidorresistentes, de 1  $\mu\text{m}$  de diámetro que se fragmentan en formas bacilares. No forma gránulos. Colonia rala, plegada irregularmente o granulosa, de color amarillo naranja. Disuelve los cristales de tirosina o xantina; forma colonias en gelatina 0.4%, no coagula la leche.

*N. brasiliensis*. Produce el pie de Madura actinomicótico o micetoma actinomicótico. Forma granos blanco amarillentos. En agar Sabouraud aparecen colonias plegadas de aspecto cerebriforme y color amarillo-naranja. No disuelve la xantina, resistente a la lisozima.

*Streptomyces sp.* Agente que causa el pie de Madura actinomicótico. Organismo filamentoso, Gram positivo, no acidorresistente y que no se fragmenta en elementos bacilares. Colonias húmedas, ceras de color rosa o rosa coral. Es susceptible a la lisozima y contiene ácido L-diaminopimélico.

*Curvularia sp.* Produce maduromycosis de manera esporádica. Conidióforo oscuro, conidias de 3-5 células también oscuras y fusiformes.

*Cephalosporium sp.* Organismo contaminante y oportunista. Conidióforos delgados, no ramificados, portadores de conidias en racimos, elípticos y generalmente unicelulares micelio blanco y rosa.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	77/320

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Cepas: Diferentes especies de los géneros *Madurella*, *Fonseca* y *Nocardia*.

Placas de agar dextrosa Sabouraud o agar papa dextrosa  
Tubos con agar dextrosa Sabouraud o agar papa dextrosa

Cajas Petri estériles, dispuestas para microcultivo (soporte de vidrio, portaobjetos y cubreobjetos)

Glicerol 10%, estéril  
Formol 10%, estéril

Azul de algodón lactofenol

## Procedimiento

1. Describir de la morfología colonial de las cepas proporcionadas.
2. Inocular las cepas en los tubos con agar inclinado. Incubar a 37°C. Revisar periódicamente.
3. Realizar el microcultivo de cada una de las cepas (excepto del género *Nocardia*). Incubar a 37°C y revisar periódicamente que el desarrollo de micelio haga contacto con la superficie del cubreobjetos y del portaobjetos, en tal caso inactivar el crecimiento del hongo (por lo menos durante 1 h) retirando el glicerol y adicionando formol. En caso de que la incubación se prolongue (> 7 días) cuidar que el glicerol y el medio de cultivo sean suficientes.
4. Realizar preparaciones teñidas con la técnica de Ziehl-Neelsen en el caso de *Nocardia*.
5. Realizar preparaciones semipermanentes con cada uno de los cubreobjetos y portaobjetos obtenidos de los microcultivos, teñidas con azul de algodón lactofenol.
6. Observar microscópicamente las preparaciones buscando las estructuras que permiten identificar género.



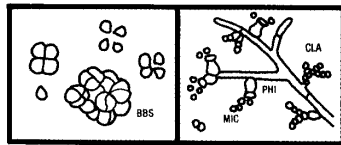
SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

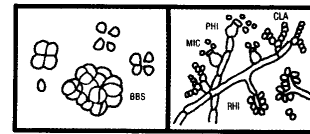


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	78/320

7. Elabore su reporte en el formato correspondiente a micología, completando bibliográficamente la información que se le solicita; adjunto al reporte entregue las preparaciones en las que haya observado estructuras que permitan identificar al género, debidamente etiquetadas.

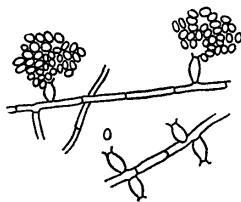


*Fonsecaea compacta*



*Fonsecaea pedrosoi*

Tomado de Power y McCuen, 1988



Fiálides y fialoforas aglutinadas de *Phialophora verrucosa*

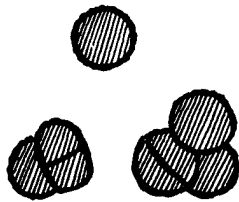


Forma acroteca de esporulación en *Phialophora pedrosoi*

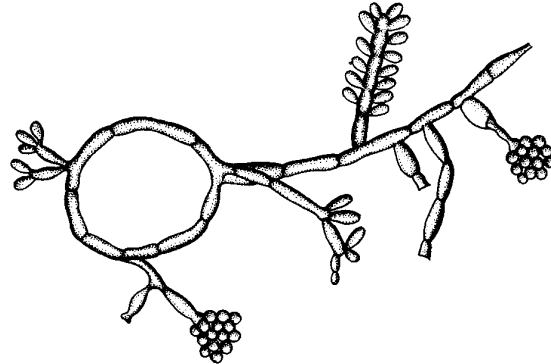
Imágenes tomadas de Segretain, 1966.



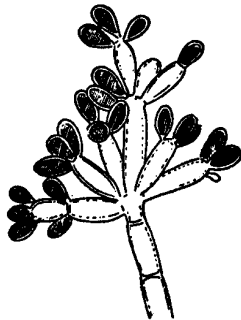
Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	79/320



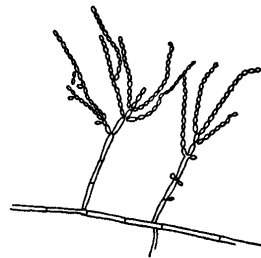
Formas parasitarias de los hongos productores de cromomicosis



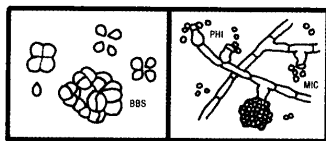
*Fonseca pedrosoi* MICROCULTIVO formas Phialophora, Cladosporium, Acrotheca



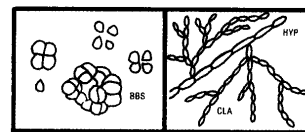
Forma hormodendrón corta de *Phialophora pedrosoi*.



Forma hormodendrón larga de *Cladosporium*.



*Phialophora verrucosa*

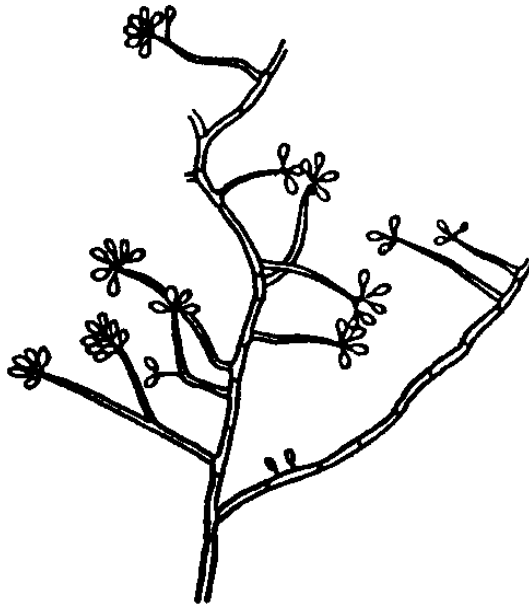


*Cladosporium carrionii*

Imágenes tomadas de: Power y McCuen, 1988; Segretain, 1966 y Zapater, 1981.

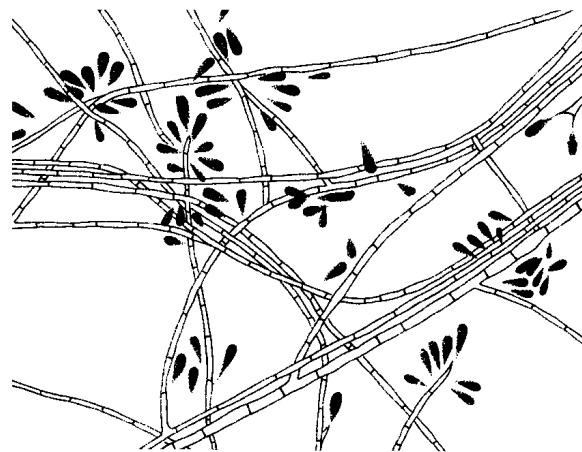


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	80/320



Tomado de Segretain, 1966.

*Sporothrix schenckii* MICROCULTIVO conidias en racimo.



Tomado de Zapater, 1981.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	81/320

## COLECCIÓN DE MUESTRAS MICÓTICAS

### A. MICOSIS EXCLUSIVAMENTE TEGUMENTARIAS.

Las muestras de pelos, uñas y escamas parasitadas deben ser colectadas entre dos portaobjetos limpios previamente esterilizados y colocar en un lado los datos del paciente.

#### 1. Obtención de escamas de piel.

— La lesión deber ser fuertemente frotada con un pedazo de gasa con alcohol y después la periferia de la lesión se descama con un bisturí estéril. Si la lesión está inflamada o con fisuras, la limpieza debe efectuarse con una gaza empapada en agua estéril. En el caso de pitiriasis versicolor, la descamación debe realizarse mediante el raspado de la piel por un portaobjetos estéril y recibiéndolo en otro limpio estéril.

#### 2. Obtención de raspado de uñas.

— Uñas de las manos. Se limpia la uña con una esponja con alcohol y se coloca la yema del dedo afectado sobre un portaobjetos estéril y se raspa la uña con una navaja limpia de la parte próxima a la distal, hasta obtener la cantidad de material adecuado para para cultivos y estudio microscópico. Se usa una navaja limpia para cada uña.

— Uñas de los pies. Limpiar la uña igual que en inciso anterior. Sentarse frente al paciente quien debe acomodar el talón del pie sobre la rodilla del laboratorista, y proceder a realizar el raspado.

#### 3. Obtención de pelo.

— Se examina la piel cabelluda del paciente y el cabello que está quebrado debe ser depilado con pinzas. Cuando el paciente es un niño, se recomienda colocar un pedazo de cinta adhesiva sobre la lesión y después se despega, quedando los cabellos parasitados adheridos.

— En los casos de piedra negra y piedra blanca, en donde los cabellos no se encuentran afectados en su raíz, el material se obtiene cortando con tijeras algunos cabellos parasitados.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	82/320

## B. MICOSIS INICIALMENTE TEGUMENTARIAS.

Las más importantes enfermedades que se encuentran en este grupo son: rinosporidiosis, cromomicosis, micetomas: actinomicótico y maduromicótico, esporotricosis y algunas de las infecciones producidas por levaduras del género *Candida*.

En este tipo de infecciones, se pueden utilizar los siguientes tipos de material clínico:

1. Obtención de pus de abscesos abiertos con pipeta Pasteur.
2. Exudados de tractos sinuosos drenantes.
3. Material de abscesos subcutáneos y tractos sinuosos cerrados, aspirado con una jeringa estéril.

### Tejidos tomados para biopsia.

Este material debe ser puesto en tubos estériles adicionados de penicilina y estreptomycinina y son enviados al laboratorio para ser examinados al microscopio y sembrarlos en medios de cultivo adecuados.

En el caso de rinosporidiosis, el raspado y material para biopsia debe ser examinado directamente en fresco o teñido por la técnica de PAS y/o fijarlo para examen histológico.

## C. MICOSIS SECUNDARIAMENTE TEGUMENTARIAS.

Este grupo de micosis comprende: actinomicosis, nocardiasis, blastomicosis Norteamericana, paracoccidiodomicosis, criptococosis, coccidiodomicosis, histoplasmosis y candidiasis sistémica.

Los materiales para el diagnóstico de laboratorio, en este tipo de enfermedades son obtenidos de: sangre, esputo, líquido cefalorraquídeo (LCR), exudados de abscesos, médula esternal, raspado de úlceras y abscesos, fluido de abscesos subcutáneos y tractos sinuosos, tejido tomado para biopsia.

Este material es colocado en tubos o cajas estériles y enseguida procesarlo para su estudio y sembrarlos en medios de cultivo adecuados. Pueden ser observados



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	83/320

por examen directo o con tinciones fijas.

## PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO

### 1. EXAMEN DE ESCAMAS, PELOS Y UÑAS.

#### A. Estudio Microscópico.

1. Colocar una gota de KOH (10%) o cloral lactofenol, en el centro de un portaobjetos limpio.
2. Poner unos fragmentos de escamas, uñas o pelos y con una aguja de disección dilacerar la muestra para obtener una preparación delgada.
3. Colocar un cubreobjetos sobre la preparación y pasarla a través de la llama de un mechero 2 ó 3 veces.
4. Observar al microscopio con objetivos 10X y 40X.

#### B. Cultivo de las muestras.

1. Para la identificación del agente causal, es necesario efectuar cultivos utilizando medios como el Sabouraud, agar Mycosel o PDA.
2. Tomar con el asa o aguja de disección estériles algunos fragmentos de la muestra y depositarlos en el centro de 2 tubos con medio de Sabouraud y 2 tubos con medio PDA.
3. Incubar a 28°C por dos semanas.
4. Observar las características macroscópicas y microscópicas.
5. Realizar un microcultivo para llegar a la identificación correcta del hongo.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	84/320

## 2. EXAMEN DE MUESTRAS CON GRANOS Y DE LESIONES COSTROSAS, VERRUCOSAS O NODULARES.

### A. Estudio microscópico.

1. Sobre un portaobjetos limpio, suspender una pequeña porción de la muestra en una gota de agua, de lugol o de aclarante, cortarla y disgregarla.
2. Poner un cubreobjetos sobre la preparación y presionar un poco con el porta-asa.
3. Observar al microscopio con objetivo 10X y 40X.

### B. Cultivo de las muestras.

1. Tomar con el asa o con una pipeta Pasteur estéril, una porción de la muestra transferirla a los medios de cultivo adecuados.
2. Incubar a 28°C durante 2 semanas.
3. Identificar el agente etiológico por observaciones macro y microscópicas.

En el caso de muestras con granos, es necesario lavarlos con una pequeña cantidad de agua destilada estéril antes de transferirlos a los medios de cultivo.

## 3. EXAMEN DE MATERIAL DE BIOPSIA.

Si el tejido de la biopsia presenta material purulento o caseoso, inocular directamente a un medio de cultivo y realizar varios frotis para teñir por la técnica de Gram, Wright, PAS y Ziehl Neelsen si es necesario y hacer examen en fresco con lugol.

**TÉCNICA DE SCHIFF, ACIDO PERYÓDICO (PAS).** Para escamas de piel, uñas, pelos y material purulento.

1. Colocar una capa delgada de albúmina de Meyer sobre un portaobjetos limpio y añadir unos fragmentos de escamas de piel o uñas mediante una aguja de disección. Dejar secar la preparación sin fijar al calor, durante toda la noche o bien a 37°C por 1 ó 2 hs.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	85/320

2. Poner el portaobjetos en alcohol etílico absoluto por 1 minuto.
3. Secar la preparación y colocarla inmediatamente en ácido peryódico al 5% por 5 minutos.
4. Lavar en agua corriente por 2 minutos.
5. Poner fucsina básica durante 2 minutos.
6. Lavar por 2 minutos con agua corriente.
7. Sumergir el portaobjetos en una solución de metabisulfito de sodio por 3 a 5 minutos.
8. Lavar con agua corriente por 5 minutos.
9. Deshidratar en alcohol 70%, 85%, 95% y absoluto a intervalos de 2 minutos.
10. Colocar en xilol por 2 minutos y montar con un cubreobjetos y resina sintética.

Interpretación.

La mayoría de los hongos se tiñen de un color magenta y el material restante puede presentar un color rosa o rojizo, ocasionalmente las bacterias y los neutrófilos, pueden retener la fucsina.

## TÉCNICAS DE CULTIVO Y TINCIONES

### Técnica de microcultivo.

#### **Material, reactivos y cepas microbiológicas:**

- Cajas de Petri con una varilla de vidrio doblada en V, un portaobjetos y un cubreobjetos, esterilizadas en el horno.
- Glicerol al 10% estéril.
- Placas de PDA.
- Aguja de disección.
- Mango y hoja de bisturí.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	86/320

- Asa y porta-asa.
- Formol 10%.
- Microscopio.
- Mechero.
- Vaso con alcohol etílico 70%.
- Pinzas.

## Procedimiento

1. En la base de la caja con medio PDA, hacer con marcador, una cuadrícula de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>.
2. Con un bisturí previamente mojado en alcohol y flameado, cortar la gelosa siguiendo las líneas marcadas en el vidrio.
3. Con el mismo bisturí colocar un cubo de gelosa en el centro del portaobjetos dentro de la caja estéril, el cual fue previamente colocado sobre la varilla doblada.
4. Mediante el asa doblada en ángulo recto, tomar un pequeño fragmento de la colonia del hongo inocular un lado del cubo de gelosa. Hacer lo mismo en los tres lados restantes.
5. Mediante unas pinzas flameadas colocar el cubreobjetos sobre el agar.
6. Con el mango del asa, presionar ligeramente sobre el cubreobjetos, con el fin de que se adhiera la gelosa.
7. Colocar de 5-10 ml. de glicerol 10% estéril, en la caja de Petri, procurando no mojar el microcultivo.
8. Incubar a temperatura ambiente.
9. Examinar el microcultivo cada 24 hs, hasta observar crecimiento y esporulación.
10. Una vez observado el crecimiento, con una pipeta Pasteur desechar el glicerol y sustituirlo por formol al 10%. Dejar actuar por 1 o 2 hs.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	87/320

### TÉCNICA PARA HACER UNA PREPARACION SEMIPERMANENTE.

1. Colocar una gota pequeña de azul de algodón lactofenol, en el centro de un portaobjetos limpio.
2. Con unas pinzas, separar el cubreobjetos del microcultivo y si es necesario quitar con una aguja de disección restos del agar.
3. Poner el cubreobjetos sobre la gota de colorante y presionar un poco sobre el cubreobjetos con el fin de eliminar las burbujas de aire.
4. Sellar la preparación con esmalte de uñas incoloro sobre los cuatro lados.
5. A partir del portaobjetos, se puede obtener otra preparación quitando el cuadro de gelosa con ayuda de la aguja de disección, poner una gota de colorante en el centro del crecimiento y colocar un cubreobjeto limpio, presionar para eliminar burbujas de aire y sellar.

### TÉCNICAS PARA PREPARACIONES CON AZUL ALGODÓN LACTOFENOL A PARTIR DE COLONIAS GIGANTES.

1. Colocar un portaobjetos limpio, sobre una hoja de papel blanco.
2. Poner una gota pequeña de azul algodón lactofenol en el centro del portaobjetos.
3. Tomar un fragmento de la colonia del hongo (aproximadamente 1 o 2 mM, dentro de la periferia con una asa y colocarlo sobre la gota del colorante.
4. Disgregar el fragmento de la colonia mediante el asa de platino o aguja de disección.
5. Montar la preparación, dejando caer un cubreobjetos sobre ella. No se debe presionar el cubreobjeto para evitar que las conidias se desprendan de los conidióforos.
6. Sellar la preparación.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	88/320

## PREPARACIÓN PERMANENTE DEL MICROCULTIVO CON AZUL DE ALGODÓN ACÉTICO.

1. Fijar con alcohol metílico cubriendo el portaobjetos y dejar evaporar.
2. Agregar el colorante azul de algodón acético por 20 minutos calentando hasta emisión de vapores.
3. Lavar rápidamente con agua.
4. Pasar por alcohol etílico 96%, alcohol absoluto y xilol sucesivamente hasta que se transparente la preparación.
5. Montar en bálsamo de Canadá.

### Equipo

Microscopio Óptico

### Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

### Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/2020</b>	<b>1</b>	<b>89/320</b>

# APARATO DIGESTIVO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	90/320

## Aparato digestivo

Una comunidad de quizá 400 especies diferentes de bacterias, hongos y protozoarios constituye la biota residente del tracto gastrointestinal (TGI) normal. Las bacterias en el colon están presentes en aproximadamente una décima parte de su límite de densidad teórico ( $10^{12}/g$ ) y sorprendentemente, no producen disfunción intestinal. Por el contrario, establecen una relación simbiótica con el huésped. Esto se logra con la notable estabilidad y constancia de la población microbiana. Mientras que el cuerpo les proporciona la vivienda y el alimento, ella brinda cierto número de servicios esenciales. Entre ellos se encuentran funciones digestivas accesorias tales como la conversión de los hidratos de carbono no absorbibles en ácidos orgánicos absorbibles, el aporte de la vitamina K esencial y la ayuda en la reabsorción y la conservación de los estrógenos y los andrógenos excretados en la bilis. La sola presencia de los microorganismos normales nos ayuda a resistir la colonización por parte de los agentes patógenos invasores.

La frecuencia de la infecciones del aparato digestivo varía desde la enfermedad infecciosa humana más prevalente, la caries dental, a las bastante comunes diarreas e intoxicaciones con alimentos hasta las infecciones oportunistas no habituales de los pacientes inmunocomprometidos. En todo el mundo las enfermedades diarreicas son una causa mucho mayor de morbilidad y mortalidad que las enfermedades más familiares de los países industrializados (las cardiopatías, los cánceres y los accidentes cerebrovasculares). Desafortunadamente, los lactantes y los niños pequeños son afectados de forma desproporcionada, en especial en las partes del mundo que tienen malas medidas sanitarias y una alimentación deficiente.

La severidad de las infecciones de este aparato varía desde las infecciones asintomáticas o silenciosas (p. ej., la poliomielitis) a la diarrea leve (p. ej., la mayoría de las infecciones por rotavirus) hasta la pérdida de líquidos y electrolitos potencialmente (p. ej., el cólera) o las severas úlceras mucosas complicadas por una perforación intestinal (p. ej., la disentería bacilar). Asimismo, la naturaleza y las manifestaciones clínicas de estas infecciones son tan variables. Esto no resulta sorprendente cuando se considera la notable diferenciación local a lo largo del tubo digestivo y del árbol hepatobiliar y el páncreas asociados.

Cada parte del tubo digestivo tiene barreras anatómicas, fisiológicas y bioquímicas especiales contra las infecciones. El impedimento más general para los agentes infecciosos es el epitelio mucoso intacto que cubre todas las partes de este aparato.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	91/320

Algunos mecanismos de defensa, como la formación de moco y la motilidad intestinal, obstaculizan la adherencia de los microorganismos a la pared epitelial. En el intestino la capa de moco actúa como un obstáculo mecánico que protege el epitelio; también recubre a las bacterias, lo cual facilita su pasaje hacia adelante por el peristaltismo. El glucocálix, la capa de glucoproteínas y polisacáridos que recubre la superficie de las células, mide muchos "largos de cuerpos bacterianos" de profundidad y posee sitios fijadores, "señuelos" que atrapan a ciertos microorganismos invasores. La bilis desempeña un papel importante en la selección de las bacterias y los virus capaces de colonizar el intestino. Como sería de esperar, tanto los miembros de la biota normal como los agentes patógenos intestinales comunes son resistentes a la acción detergente de las sales biliares.

Diversas circunstancias predisponen al establecimiento de las enfermedades infecciosas en el tubo digestivo, ya sea por agentes patógenos o por miembros de la biota normal:

1. Alteraciones anatómicas. La obstrucción del flujo de líquidos elimina uno de los mecanismos de defensa más poderosos de este aparato. Así, los cálculos en la vesícula que obstaculizan el flujo de la bilis predisponen al árbol biliar a contraer infecciones. La presencia de grandes divertículos (bolsillos intestinales) o la creación quirúrgica de "asas ciegas" intestinales conducen a la formación de sitios con un menor flujo del contenido intestinal y así al sobrecrecimiento bacteriano y a las alteraciones metabólicas.
2. Cambios de la acidez en el estómago. La alteración de la barrera ácida del estómago por enfermedades, cirugía o fármacos aumenta la supervivencia de los agentes patógenos a través de este órgano y puede llevar a una infección bacteriana en un sitio más caudal.
3. Alteraciones de la biota normal. En las regiones del tracto digestivo que están más intensamente colonizadas -la boca y el colon- los cambios de la densidad o la composición de la biota pueden permitir el establecimiento de los agentes patógenos. La causa más frecuente de estas alteraciones es el uso de antibióticos de amplio espectro.
4. Encuentro con agentes patógenos específicos. Ciertas bacterias, virus, protozoarios y helmintos causan enfermedades incluso en ausencia de factores predisponentes.
  - Los signos y los síntomas de las infecciones relacionadas con el aparato digestivo se producen de diversas formas generales:
  - Acción farmacológica. Algunas bacterias producen toxinas que alteran la



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	92/320

función intestinal normal sin causar una lesión duradera en sus células blanco. Los ejemplos típicos son las enterotoxinas elaboradas por el *Vibrio cholerae* o por ciertas cepas de la *Escherichia coli*, que provocan una diarrea acuosa abundante.

- Inflamación local. Cualquier sitio del tracto digestivo puede inflamarse como consecuencia de la invasión microbiana. En muchos casos la invasión se limita a la capa epitelial, pero puede diseminarse hacia los tejidos contiguos y más allá.
- Invasión de los tejidos profundos. Esto se produce porque ciertos microorganismos tienen la capacidad de diseminarse hacia los tejidos adyacentes y de ingresar en la sangre o la linfa.
- Perforación. Cuando se perfora el epitelio mucoso la biota normal se derrama hacia áreas estériles e invade los tejidos profundos, a menudo con severas consecuencias. Así la ruptura del apéndice inflamado puede conducir a una peritonitis y la perforación traumática del esófago a una mediastinitis.

Principales sitios de infección: boca, estómago, árbol biliar y el intestino.

**Boca.** Casi todos los patógenos del aparato digestivo ingresan a través de la boca. Esta es la vía que permite que los microorganismos ingresen en el cuerpo "a bordo de" los alimentos sólidos, los líquidos o los dedos de las manos.

Entre las defensas específicas de la boca se encuentra la biota residente no patógena, incluidas las bacterias, los hongos y los protozoarios; estos microorganismos se oponen al establecimiento de los recién venidos por medio de la ocupación de los sitios adecuados y de la producción de ácidos y otros inhibidores metabólicos. La acción mecánica de la saliva y la lengua, si el flujo salival disminuye, como sucede con la deshidratación o durante el ayuno, el contenido bacteriano de la saliva aumenta de forma pronunciada. Los constituyentes antimicrobianos de la saliva, sobre todo la lisozima y los anticuerpos secretados.

Diversas propiedades permiten que las bacterias evadan estas defensas del huésped. Algunas son capaces de adherirse a los dientes o a las superficies mucosas. La adherencia a los dientes no es directa, sino más bien a una cobertura de macromoléculas pegajosas, sobre todo proteínas; el metabolismo microbiano a este nivel transforma los azúcares de la dieta en ácidos, sobre todo ácido láctico, responsable de la caries dental. Las bacterias de la biota oral natural, no son altamente virulentas, pero cuando se quiebra la barrera mucosa, como en el caso



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	93/320

de la gingivitis (enfermedad periodontal) avanzada, pueden invadir el tejido sano circundante. La cooperación sinérgica entre diversos tipos diferentes de bacterias, tanto aerobias como estrictamente anaerobias, conduce a una infección mixta severa y que avanza con rapidez, la angina de Ludwig, -una infección polimicrobiana de los espacios sublinguales y submaxilares que se origina en un diente es una celulitis que algunas veces puede progresar muy rápido, comprometer la vía aérea y amenazar al paciente con la asfixia.

**Estómago.** Hasta hace poco había recibido poca atención como un sitio de infecciones del tubo digestivo. En algunos individuos de hecho es estéril y en muchos otros la concentración de bacterias es muy baja, en general de menos de  $10^3$  bacterias/ml. Entre las bacterias que se hallan en el estómago predominan las Gram positivas, p. ej., *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus* y *Peptostreptococcus*. En el estómago normal hay muy pocos bacilos Gram negativos entéricos, *Bacteroides* o *Clostridium*, microorganismos típicamente asociados con la parte inferior del TGI.

En la actualidad se piensa que aun así las infecciones gástricas se producen y mucho más a menudo que lo que se pensaba. Una especie bacteriana recientemente identificada, *Helicobacter pylori*, se asocia y puede estar involucrada en la producción de gastritis y, quizá, de úlceras pépticas. Todavía no se ha determinado de forma concluyente si el *Helicobacter pylori* es un verdadero agente patógeno o simplemente un comensal sobre una mucosa previamente dañada.

Cuando la acidez gástrica está disminuida de forma crónica, una afección conocida como aclorhidria, el estómago por lo general es colonizado por bacilos Gram negativos entéricos. Esto podría tener dos consecuencias importantes:

1. El aumento del número de las bacterias entéricas en el intestino delgado, lo cual contribuye al desarrollo de una enfermedad determinada síndrome de sobrecrecimiento bacteriano.
2. La regurgitación de la biota gástrica anormal, que se convierte en una fuente de neumonía por aspiración nosocomial.

**El árbol biliar y el hígado.** Las infecciones de la vesícula (colecistitis) constituyen una complicación frecuente de la obstrucción del flujo de bilis debida, por ejemplo, a cálculos. La presentación clínica a menudo es súbita y dramática. El signo característico es el dolor, que puede aumentar hasta un pico y luego ceder, sólo para recurrir rápidamente. Este patrón se denomina cólico biliar. Las náuseas y vómitos son acompañantes habituales y pueden ser intratables. La mayoría de los pacientes tienen escalofríos fuertes, fiebre con picos altos e ictericia causada por



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	94/320

la obstrucción de los conductos biliares. Estas manifestaciones pueden volverse más severas si la obstrucción también afecta el colédoco. En estos casos la infección y la inflamación también pueden ascender hacia los conductos biliares intrahepáticos, una afección conocida como colangitis ascendente.

La diseminación ascendente de una infección bacteriana hacia el parénquima hepático puede dar como resultado la formación de abscesos. Dada la gran cantidad de sangre filtrada por el hígado, también puede producirse la siembra en los casos de bacteriemia. Entre las bacterias que causan las infecciones hepáticas se encuentran aquellas provenientes del intestino, que son transportadas hacia el hígado por el sistema portal. Las bacterias que infectan el hígado tienden a ser agentes patógenos intracelulares que sobreviven en los macrófagos y causan infecciones granulomatosas, p ej., los agentes de la fiebre tifoidea, la fiebre Q, la brucelosis y la tuberculosis, en su mayoría las lesiones características no se hallan de forma primaria en el hígado.

**Intestino delgado y grueso.** La presencia de una gran biomasa microbiana en el intestino delgado absorptivo conduce a la competencia por ciertas vitaminas y a la malabsorción de las grasas. Esto produce una enfermedad conocida como síndrome de sobrecrecimiento bacteriano. Este fenómeno puede originarse en algunas anomalías que producen asas ciegas, además de los procedimientos quirúrgicos o los divertículos. Las anomalías motoras pueden deprimir de forma severa el peristaltismo, la aclorhidria gástrica puede permitir que grandes inóculos bacterianos lleguen a la parte proximal del intestino delgado. Por mucho las bacterias más numerosas y las que más probablemente sean responsables de la alteración fisiológica son los microorganismos anaerobios estrictos, sobre todo los bacteroides.

Esta situación puede tener los siguientes efectos:

- Aumento de la grasa fecal o esteatorrea; esto se debe sobre todo a la malabsorción de las grasas como consecuencia de la depleción del pool de ácidos biliares.
- Deficiencia de vitamina B; con el sobrecrecimiento bacteriano es utilizada por las bacterias, con lo cual no está disponible para ser captada por el huésped.
- Diarrea, el exceso de excreción fecal de agua y electrolitos; no se observa en todos los pacientes con esta afección, pero en general es consecuencia de la degradación de los hidratos de carbono no absorbidos en el colon por la flora normal, lo que ocasiona un aumento de la concentración de solutos osmóticamente activos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	95/320

- Malabsorción de las vitaminas A y D; la malabsorción de las vitaminas liposolubles, causa una severa alteración visual y el ablandamiento de los huesos.

Con ciertas excepciones y superposiciones las infecciones entéricas pueden diferenciarse por su localización anatómica o por la capacidad de los agentes causales de invadir tejidos y/o producir una toxina.

Intestino delgado. Los mecanismos involucrados en la diarrea que se origina en el intestino delgado difieren de acuerdo con el tipo de agente patógeno:

- Virus que causan la muerte de las células epiteliales intestinales; los agentes principales son los rotavirus, el denominado agente Norwalk y los enterovirus. Estos virus causan diarrea por medio de la destrucción de los enterocitos en las vellosidades, sin afectar los de las criptas.
- Bacterias toxigénicas que colonizan el intestino, p.ej., *V. cholerae* y *E. coli* toxigénica; la diarrea es secundaria a la producción de toxinas que puede causar la acumulación de nucleótidos cíclicos, los cuales, a su vez estimulan la secreción neta de cloro y/o inhiben la captación de sodio para dar como resultado la pérdida de líquido.
- Protozoarios, *Giardia* y *Cryptosporidium*, que infectan el intestino delgado.
- Bacterias que causan verdaderas intoxicaciones alimentarias, esta forma de diarrea ocurre cuando se permite que las bacterias toxigénicas (p. ej., *S. aureus*, *B. cereus*) proliferen en los alimentos durante un cierto tiempo antes de su ingesta. Esto da como resultado la acumulación de toxinas que son ingeridas junto con los alimentos. Dado que la multiplicación bacteriana en el cuerpo no es necesaria, los efectos a menudo se sienten pocas horas después de la ingesta de los alimentos contaminados.

Resulta claro que no todas las infecciones del intestino delgado producen una diarrea secretora. Algunas bacterias como el *Campylobacter jejuni* o la *Yersinia enterocolitica* pueden infectar el íleon terminal y producir una diarrea acuosa algunas veces hemorrágica.

Intestino grueso. Los patógenos bacterianos que afectan el intestino grueso tienden a producir daño epitelial, inflamación de la mucosa y disentería. Los principales patógenos invasores del intestino grueso que causan disentería son la *Shigella*, la *Salmonella*, el *Campylobacter*, la *Yersinia*, ciertas cepas de *E. coli* y la *Entamoeba*. Dado que la inflamación es importante y en general se localiza en la parte distal del intestino grueso, el dolor a menudo empeora con la defecación (tenesmo). La mucosa se lesiona con facilidad y se ve ulcerada cuando se



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA



MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	96/320

examina con el proctoscopio. Las deposiciones en un principio pueden ser acuosas y sustanciales pero más tarde el volumen disminuye y pronto pasan a consistir en sangre, moco y pus. Ciertas bacterias (*Campylobacter*, *Salmonella* y *Yersinia*) producen una enfermedad inflamatoria en el íleon terminal con ocasional extensión al colon, lo que da como resultado la disentería. El *Clostridium difficile* y sus toxinas causan una enfermedad diferente; este microorganismo en general aparece después de la administración de antibióticos que eliminan o alteran la biota residente. Esto se manifiesta por una pseudomembrana adherente con considerable inflamación y daño de la mucosa pero sin invasión de los tejidos.

De forma ocasional se producen complicaciones severas por la infección del colon por microorganismos invasores. La shigelosis puede asociarse con una desnutrición importante, que lleva a un síndrome de deficiencia de proteínas en los niños conocido como *kwashiorkor*. A veces la shigelosis ocasiona un prolapso rectal o una distensión a menudo letal del colon conocida como megacolon tóxico, con el cese total del peristaltismo colónico. También pueden producirse complicaciones sistémicas, que conducen a las manifestaciones clínicas conocidas como síndrome urémico hemolítico, reacciones leucemoides con recuentos muy altos de leucocitos, encefalopatías y otras.

La mayor parte de las diarreas infecciosas agudas son leves y autolimitadas y se tratan mejor con la reposición oral de líquidos y la alimentación continua. La severidad y la duración de la diarrea o la presencia de shock o síntomas disentéricos determinan si es necesario recurrir a un tratamiento antimicrobiano específico o a la reposición intravenosa más agresiva y cuándo hacerlo. En general las infecciones causadas por las cepas toxigénicas e invasoras de *E. coli*, *V. cholerae*, *Shigella* mejoran con los antibióticos. La desventaja es que estos microorganismos pueden desarrollar resistencia a los fármacos. Además, la antibioticoterapia (excepto por el uso de nuevas fluoroquinolonas) puede no alterar el curso de la enfermedad y podría aumentar el riesgo de desarrollar el estado de portador, con el potencial para la mayor diseminación de la infección, como con la *Salmonella*.

Los antidiarreicos pueden reducir la frecuencia de las deposiciones pero no existen evidencias que sugieran que estos fármacos acortan el curso de la enfermedad.

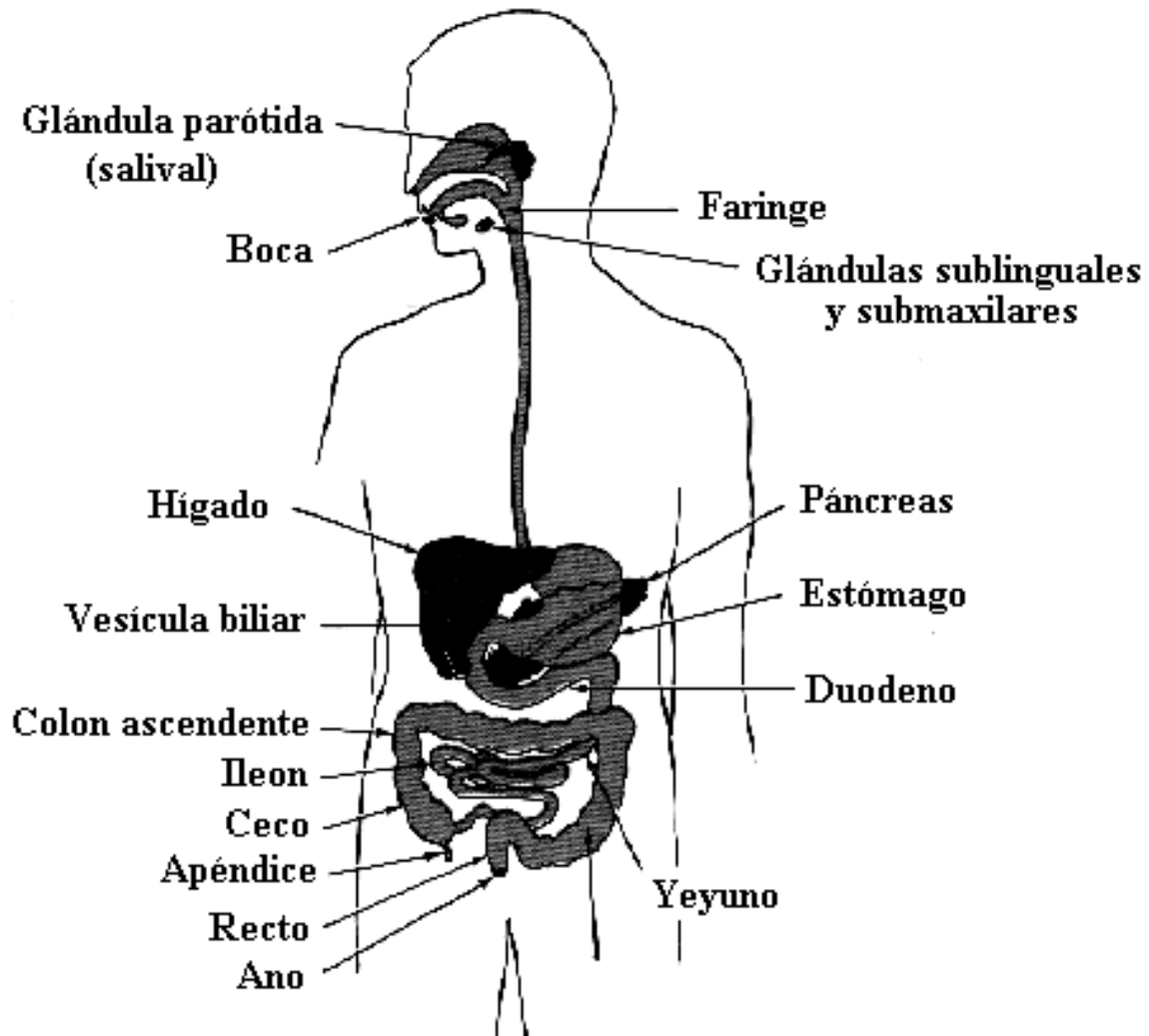
Un avance médico importante ha sido el desarrollo del tratamiento de rehidratación oral para la diarrea leve a moderada. Luego del descubrimiento de que el transporte del sodio y la glucosa está acoplado en el intestino delgado se observó que la administración oral de glucosa con los electrolitos esenciales aceleraba de modo notable la absorción de sodio, siguiéndolo el agua de forma





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	97/320

pasiva para mantener la osmolalidad. La deshidratación moderada asociada con el cólera u otras diarreas del intestino delgado ahora debe corregirse con la reposición oral. Incluso en la deshidratación severa, que requiere la rápida administración de líquido intravenoso para corregir o prevenir el shock más tarde puede usarse la rehidratación oral sola para mantener una hidratación adecuada.





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	98/320

## TOMA DE MUESTRA.

Diversas bacterias, protozoarios y virus pueden causar enfermedad infecciosa gastrointestinal aguda. El laboratorio no puede buscar rutinariamente a todos estos organismos; por lo tanto, la selección de las pruebas de laboratorio debe guiarse por la información epidemiológica que le proporcione el médico.

Como mínimo todas las muestras de heces deberán cultivarse para el aislamiento de *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*. Los cultivos para *B. cereus*, *C. difficile*, *C. perfringens*, *Enterobacteriaceae* productoras de toxinas, *S. aureus*, *Vibrio sp.*, *Yersinia*, *Aeromonas* y *Plesiomonas* dependerán de la información provista por el médico y se limitarán según la capacidad técnica del laboratorio.

## HECES.

La colecta de la muestra de heces puede ser delicada. El método más fácil es la excreción directa en un recipiente limpio, en el que no se contamine con orina, y que permita seleccionar las porciones más adecuadas para el cultivo (las que presenten moco o sangre) que se traspasarán a un recipiente estéril de boca ancha la muestra no debe recogerse en papel higiénico ya que puede contener sales de bismuto, tóxicas para muchos patógenos entéricos. Si su traslado al laboratorio tardara más de 2-3 hs es conveniente colocarla en un medio de transporte (Cary-Blair).

## HISOPO RECTAL.

Ya que se obtiene una escasa cantidad, éste es generalmente un procedimiento inadecuado. Sin embargo, si el paciente es incapaz de proveer las heces excretadas, puede ser útil. El hisopo estéril debe insertarse por el esfínter anal, girarse, retirarse y depositarse en el medio de transporte (Cary-Blair modificado). Cantidades pequeñas de microorganismos como en el caso de portadores no se detectarán con el hisopado. Si se recibe un hisopado rectal, deberá hacerse lo posible por obtener una mejor muestra antes de procesarlo.

## BILIS, COLOSTOMÍA E ILEOSTOMÍA.

Las muestras se transportarán y procesarán del mismo modo que las muestras fecales. Aunque los anaerobios se han involucrado en enfermedades de la



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	99/320

vesícula, no se realizan cultivos en anaerobiosis a menos que el médico lo haya discutido previamente con el microbiólogo. El microbiólogo también se pondrá en contacto con el médico si un aspirado de intestino delgado se recibe para su procesamiento. Ésta es una de las pocas muestras en la que está indicado el cultivo anaerobio; normalmente está colonizado por microorganismos ácido tolerantes. Sin embargo, si ocurre obstrucción los organismos colónicos (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*) pueden colonizar intestino delgado y causar síndrome de malabsorción. En este caso es útil saber si existen numerosos microorganismos anaerobios en el intestino delgado.

Lavados o aspirados gástricos pueden llegar al laboratorio, estas muestras usualmente sólo se procesan para buscar micobacterias.

No son recomendables las tinciones microbiológicas en muestras de heces. La tinción de azul de metileno se ha recomendado para detectar leucocitos cuando su presencia es signo de inflamación y destrucción de la mucosa intestinal.

Debe disponerse de ésta a solicitud específica ya que puede ser una información clínica útil.

Fuentes: Schaechter, 1994 y Wistreich, 1980.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	100/320

## PRÁCTICA No. 8

### Familia: *Enterobacteriaceae*

#### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico de infecciones gastrointestinales causadas por enterobacterias.

#### Fundamento teórico

La familia *Enterobacteriaceae* constituye el conjunto mayor y más heterogéneo de bacilos gramnegativos de importancia médica.

Las enterobacterias son microorganismos ubicuos de distribución mundial y que se encuentran en el suelo, el agua, la vegetación y formando parte de la flora intestinal normal de casi todos los animales, incluido el ser humano. Algunos miembros de la familia (p. ej. *Salmonella*, *Shigella*, *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 saprófita 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 microorganismos en un paciente susceptible (p. ej. *Escherichia*), causan principalmente infecciones en los aparatos gastrointestinal y urinario, sin embargo a partir de la era de los antibióticos, la quimioterapia y las medidas inmunosupresoras pueden afectar a casi todas las localizaciones corporales.

Se han descrito al menos 27 géneros con más de 110 especies. La clasificación de las enterobacterias se basa inicialmente en la determinación de la presencia o ausencia de diferentes enzimas involucradas en el metabolismo bacteriano que



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	101/320

pueden ser evidenciadas en medios especiales usando técnicas de cultivo *in vitro*.

La taxonomía de la familia *Enterobacteriaceae* es compleja y está cambiando con rapidez conforme se efectúan estudios de homología del ADN y así constantemente presenta una nueva clasificación y lo que hoy se afirma mañana se recomienda modificar para reinstalar un grupo en su antiguo lugar o cambiarlo. No obstante que se utilizan los mismos principios básicos: las propiedades bioquímicas, las reacciones serológicas, la susceptibilidad a bacteriófagos específicos de género y especie y los patrones de sensibilidad a los antibióticos; existen diferentes clasificaciones de la familia *Enterobacteriaceae*, dos son las más divulgadas y conocidas: las enterobacterias de acuerdo a Ewing y col. (1986), están agrupadas en 8 tribus y 14 géneros, con sus correspondientes especies (Cuadro 8.1). El otro es el sistema de clasificación propuesto en el Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey (1984) (Anexo A – Clasificación), el cual no maneja tribus si no los agrupa con base al porciento de similitud en el ADN.

La familia *Enterobacteriaceae* de acuerdo con Edwards y Ewing (1986) se caracteriza por estar constituida por bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, no esporógenos que crecen bien en medios de cultivo comunes del laboratorio de microbiología. Algunas especies son peritrícas, con variantes inmóviles de especies móviles. Reducen los nitratos a nitritos, utilizan la glucosa por la vía fermentativa con formación de ácido o ácido y gas. La prueba de oxidasa es negativa y no licúan el alginato ni el pectato (excepción *Pectobacterium*).

Se han diseñado medios diferenciales con el fin de observar simultáneamente dos o más pruebas en un mismo tubo, entre las más útiles están el medio TSI, el medio LIA y el medio MIO. (Tabla 8.1)

La combinación de los resultados en estos tres medios puede dar en algunas enterobacterias una diferenciación, e identificar el género e inclusive la especie.

Tribu *Escherichieae*. Esta tribu agrupa los géneros *Escherichia* y *Shigella* debido a que están muy relacionados entre sí. La diferenciación de cepas típicas de *Escherichia coli* de las especies del género *Shigella* no es difícil dada la poca actividad enzimática de éstas en comparación con *E. coli*; sin embargo las cepas de *E. coli* fermentadoras lentas de la lactosa no móviles pueden confundirse con *Shigella*.

*E. coli* coloniza el intestino del hombre poco después del nacimiento y persiste en él durante toda la vida, como parte de su biota normal. Sin embargo, aunque la



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	102/320

mayoría de las cepas de *E. coli* no son patógenas en el intestino, algunas pueden producir diarrea por diferentes mecanismos.

*Shigella* es un género con cuatro especies bien definidas y un número importante de serotipos. El género *Shigella* incluye microorganismos que causan la disentería bacilar. *Shigella dysenteriae* es la responsable de los cuadros más graves por sus mecanismos de patogenicidad: invasividad a nivel de colon y toxicidad en yeyuno y colon. Las bacterias de esta especie se alojan en gran cantidad en las úlceras que producen en el intestino y las heces se acompañan de moco y sangre.

Tribu *Edwardsiellae*. Actualmente se admiten tres especies de *Edwardsiella* siendo *E. tarda* la única de interés médico.

*E. tarda* generalmente crece sobre los medios comunes empleados para el cultivo de enterobacterias sólo que lo hace más lentamente que la mayoría. La resistencia a la colistina y la sensibilidad a la penicilina se aprovechan para el aislamiento e identificación de este microorganismo. La tribu y el género se caracterizan por ser bacterias móviles, aerogénicas, productoras de indol y ácido sulfhídrico, descarboxilan la lisina y la ornitina y no fermentan la mayoría de los carbohidratos.

*E. tarda* es un patógeno oportunista que causa infecciones en heridas y vías urinarias, meningitis, endocarditis, bacteriemias y probablemente diarreas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	103/320

CUADRO 8.1. Clasificación de la familia Enterobacteriaceae propuesta por Edwards y Ewing (1986).

TRIBU	GÉNERO	ESPECIE
I <i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i> <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. blattae</i> , <i>E. hermanni</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. fergusonii</i> <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. sonnei</i> , <i>S. dysenteriae</i>
II <i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>E. tarda</i> , <i>E. hoshinae</i> , <i>E. ictaluri</i>
III <i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. enterica</i> subespecie <i>enterica</i> <i>salamae</i> <i>arizonae</i> <i>diarizonae</i> <i>houtenac</i> <i>bongori</i>
IV <i>Citrobactereae</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i> , <i>C. diversus</i> , <i>C. amalonaticus</i>
V <i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Hafnia</i> <i>Serratia</i>	<i>K. pneumoniae</i> , <i>K. ozaenae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>K. rhinoscleromatis</i> , <i>K. planticola</i> , <i>K. terrigena</i> <i>K. trevisananae</i> <i>E. cloacea</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. agglomerans</i> , <i>E. sakazakii</i> , <i>E. gergoviae</i> , <i>E. amnigenus</i> , <i>E. intermedium</i> , <i>E. taylori</i> , <i>E. dissolvens</i> , <i>E. nimipresuralis</i> <i>H. alvei</i> <i>S. marcescens</i> , <i>S. liquefaciens</i> , <i>S. rubida</i> , <i>S. fonticola</i> , <i>S. odorifera</i> , <i>S. ficaria</i> , <i>S. grimesii</i> , <i>S. grimesii</i> , <i>S. plymuthica</i> , <i>S. proteamaculans</i>
VI <i>Proteeae</i>	<i>Proteus</i> <i>Morganella</i> <i>Providencia</i>	<i>P. vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. mixofaciens</i> <i>M. morganii</i> <i>P. alcalifaciens</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. rustigianii</i>
VII <i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i> , <i>Y. pestis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>Y. frederiksenii</i> , <i>Y. kristensenii</i> , <i>Y. intermedia</i> , <i>Y. ruckeri</i> , <i>Y. aldovae</i>
VIII <i>Erwiniaeeae</i>	<i>Erwinia</i>	<i>E. amylovora</i> , <i>E. caratovira</i>

Fuente: Ewing, 1986



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	104/320

Tribus *Salmonelleae* y *Citrobactereae*. Géneros *Salmonella* y *Citrobacter*.

Estas enterobacterias son móviles, producen abundante ácido sulfhídrico con algunas excepciones como: *S. enterica* subespecie *enterica* biotipo *typhi*, *Citrobacter diversus* y *C. amalonaticus*, fermentan el manitol, crecen en acetato de sodio y en citrato de Simmons (excepto el bioserotipo *Typhi*, bioserotipo *Paratyphi* y algunos biotipos raros), las pruebas de acetilmetilcarbinol y fenilalanina desaminasa son negativas. El tamaño es de 0.7 a 1.5 µm de ancho por 2 a 5 µm de largo.

La taxonomía del género *Salmonella* es una de las más complejas, lo cual propicia cambios, como los que se observan en la clasificación de Ewing (1986), formada por una especie y seis subespecies o subgrupos; mientras que Brenner (1984), cita a un género con cinco “subgéneros”.

Ewing (1986)			Brenner (Bergey's Manual, 1984)		
subgrupo	Especie	Subespecie	Género	“Subgénero”	Especie
1	<i>S. enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>Salmonella</i>	I	<i>S. choleraesuis</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. paratyphi A</i> , <i>S. paratyphi C</i>
2		<i>salamae</i>			“ <i>S. scottmuelleri</i> ”,
3		<i>arizonae</i>			<i>S. typhimurium</i> ,
4		<i>diarizonae</i>			<i>S. enteritidis</i> ,
5		<i>houtenae</i>			<i>S. “gallinarum”</i>
6		<i>bongori</i>			
				II	<i>S. salamae</i>
				III	<i>S. arizonae</i>
				IV	“ <i>S. houtenae</i> ”
				V	“ <i>S. bogor</i> ”

El género *Salmonella* se ha clasificado en un gran número de serotipos; uno de los criterios más útiles es el esquema de Kauffmann-White que está constituido por Ag H (flagelar), O (somático) y Vi (capsular), actualmente se conocen más de 2200 serotipos de *S. enterica*, a partir de estos el 92% de las infecciones son causadas por aproximadamente sólo 50 serotipos.

La subespecie *arizonae* y *diarizonae* al igual que las especies del género *Citrobacter* se consideran oportunistas, sin embargo, especies de *Citrobacter* forman parte de la biota humana, por lo que es posible aislarlas de infecciones purulentas, de orina, sangre y biota fecal.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	105/320

Tribu *Klebsiellae*. Comprende cuatro géneros bacterianos, el número de especies reconocidas para cada género es diferente siendo: 7 para *Klebsiella*, 10 para *Enterobacter*, 3 para *Hafnia* y 9 para *Serratia*. De las 29 especies reconocidas se han aislado de muestras clínicas sólo unas cuantas. Las especies tipo son: *K. pneumoniae*, *E. cloacae* y *S. marcescens*. *K. pneumoniae* es la especie que predomina en aislamientos clínicos lo que le confiere un papel como patógeno primario y produce cuadros severos; a las otras dos especies se les sigue considerando como patógenos oportunistas secundarios.

De las 7 especies de *Klebsiella*, sólo *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*, *K. oxytoca* y *K. planticola* son de interés médico. Son bacilos cortos gramnegativos inmóviles, capsulados por lo que forman colonias mucoides. Crecen en los medios convencionales para lo que se han desarrollado medios específicos para *K. pneumoniae* no para aislarla propiamente si no para analizar su distribución en la naturaleza. Todas las especies fermentan la lactosa con excepción de *K. rhinoscleromatis*. La morfología colonial es característica, ya que presentan material capsulado abundante. Presentan antígenos K y O de los que se han identificado 72 y 5 tipos diferentes, respectivamente.

*K. pneumoniae* es el patógeno más importante dentro del género, se encuentra en un 35% en el aparato digestivo de adultos sanos y en menor porcentaje en niños, así como, entre el 1 al 6% de la faringe de adultos sanos; estos últimos funcionan como reservorios primarios, relegando al medio ambiente a un segundo plano. Se asocia tanto a infecciones intrahospitalarias como comunitarias siendo más comunes las primeras, ya que sólo el 8% de todas las infecciones intrahospitalarias bacterianas se relacionan con esta bacteria.

*Enterobacter*, integrado por 10 especies de las cuales solamente cinco se han logrado recuperar de muestras clínicas: *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *E. gergoviae* y *E. sakazakii*. Son móviles presentan gran variabilidad en las pruebas diferenciales y algunas presentan una pigmentación amarilla. Presentan antígenos O y H y sólo una pequeña proporción de las cepas posee antígeno K. Es frecuente aislarla de suelo, productos lácteos, agua y en menor proporción del intestino del hombre y de los animales.

*E. cloacae* es la especie oportunista aislada más frecuentemente, seguida por *E. aerogenes* a partir de vías urinarias, en septicemias y pacientes hospitalizados muy debilitados. *E. sakazakii* es común en meningitis neonatal.

De las 9 especies de *Serratia* sólo *S. marcescens*, *S. liquefaciens*, *S. odorifera* y *S. rubidaea* tienen interés clínico. Son móviles, crecen en el medio citrato de Simmon y en caldo KCN, licúan la gelatina, la mayoría no fermenta la lactosa y produce un pigmento de color rojo (prodigiosina) y crecen bien a temperatura ambiente. Se ha



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	106/320

aprovechado su capacidad de producir exoenzimas como ADNasa, lipasas, enzimas que hidrolizan el Tween-80 para la diferenciación con el resto de las enterobacterias.

*S. marcescens* es la especie más frecuentemente aislada y se asocia con infecciones intrahospitalarias que implican neumonías, septicemias, meningitis, infecciones de las vías urinarias e infecciones de heridas; se ha asociado específicamente a infecciones en adictos a la heroína. Se aísla de suelo y de agua; a diferencia de otras enterobacterias ésta tiene baja capacidad de colonización en intestino y más en vías respiratorias y urinarias. Sólo un bajo porcentaje de las cepas son cromógenas, y de los biotipos, sólo aquéllos no cromógenos representan un riesgo en hospitales. Se reconocen 24 antígenos O y 26 antígenos H. Tienen antígeno K pero no es útil en la tipificación.

Tribu *Proteeae*. Géneros *Proteus*, *Morganella* y *Providencia*. Este grupo se caracteriza por desaminar la fenilalanina y la lisina y con excepción de *Providencia alcalifaciens* y *P. stuartii* hidrolizan rápidamente la urea. La mayoría de las especies forman parte de la flora normal fecal.

*Proteus* está compuesto de bacterias móviles, forman “swarming”; productoras de abundante ácido sulfhídrico, licuan la gelatina y la mayoría son cepas lipolíticas.

*Proteus* produce infecciones primarias y secundarias en el hombre. *P. mirabilis* es uno de los principales agentes de infecciones del aparato urinario, además provoca bacteriemias, infecciones de heridas, quemaduras, aparato respiratorio, ojos, oídos, garganta y son agentes etiológicos importantes de infecciones intrahospitalarias.

El género *Morganella* se caracteriza por ser móvil, incapaz de crecer en citrato de Simmon, licua la gelatina y produce ácido sulfhídrico, descarboxila la ornitina y no produce ácido a partir de la manosa. Estos microorganismos son responsables de infecciones de vías urinarias, sangre, heridas, vías respiratorias e infecciones intrahospitalarias.

Los miembros del género *Providencia* no producen ácido sulfhídrico, crecen en citrato de Simmon, producen indol, no licuan la gelatina, no descarboxilan la ornitina, no producen lipasa y son capaces de producir ácido a partir de la manosa. Causan infecciones intrahospitalarias e infecciones en vías urinarias.

Tribu *Yersiniiae*. Son bacterias móviles e inmóviles, ácido sulfhídrico y KCN negativas, lisina y ornitina descarboxilasa negativas, gelatinasa y fenilalanina



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	107/320

desaminasa negativas, la mayoría no producen gas de carbohidratos y generalmente son manitol positivas. Las especies de *Yersinia* son móviles (excepto *Y. pestis*) cuando el medio se incubaba entre 22° a 25°C, pero son inmóviles a 37 °C. La mayoría de los aislamientos de *Y. enterocolitica* son positivos a 25°C, pero negativos a 37 °C.

Las especies con mayor importancia médica son las siguientes:

*Y. pestis* es el agente etiológico de la peste bubónica, zoonosis en la que las ratas son el reservorio primario; la transmisión hombre a hombre puede presentarse en la infección neumónica.

*Y. pseudotuberculosis*. La infección por esta bacteria puede manifestarse en diversas formas clínicas, destacando entre ellas la gastroenteritis aguda principalmente en niños menores de 5 años en donde su frecuencia puede ser menor que la de *Salmonella* y *Campylobacter*, pero mayor a la de *Shigella*.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	108/320

TABLA 8.1. Reacciones de la familia Enterobacteriaceae en los medios TSI, LIA y MIO.

Género y especie	TSI				LIA				MIO		
	S	F	gas	H <sub>2</sub> S	S	F	gas	H <sub>2</sub> S	M	I	O
<i>Escherichia</i>	A (K)	A	+ (+)	-	K	K/N	-/+	-	+/-	+	-/+
<i>Shigella</i>	K	A	-	-	K	A	-	-	-	-/+	-/+ <sup>1</sup>
<i>Salmonella</i> bioserotipo <i>Typhi</i>	K	A	-	+(-)	K	K	-	+/-	+(-)	-	-
<i>Salmonella</i> subespecie 3a, 3b	K (A)	A	+	3+	K	K/N	+/-	+(-)	+(-)	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	K (A)	A	+	3+	K	A	-/+	+/-	+(-)	-	-/+
<i>C. diversus</i>	K (A)	A	+	-	K	A	-/+	-	+(-)	+	+
<i>C. amalonaticus</i>	K (A)	A	+	-	K	A	-/+	-			
<i>Edwardsiella tarda</i>	K	A	+	3+	K	K	-/+	+	+	+	+
<i>Klebsiella</i>	A	A	2+	-	K/N	K/N	+/-	-	-	-	-
<i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i>	A	A	2+	-	K/N	A	+/-	-	+	-	+
<i>E. aerogenes</i>	K		2+	-	K	K/N	+ (+)	-	+	-	+
<i>Serratia</i> <i>marcescens</i>	K/A	A	-	-	K/N	K/N	-	-	+	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	A (K)	A	+	3+	R	A	-	-(+)	+(-)	+(-)	-
<i>P. mirabilis</i>	K (A)	A	+	3+	R	A	-	-(+)	+(-)	-(+)	+
<i>Morganella</i> <i>morganni</i>	K	A	-(+)	-	K/R	A	-	-	+/-	+	+
<i>Providencia</i>	K	A	+/-	-	R	A	-	-	+	+	-
<i>Yersinia</i> <i>enterocolitica</i>	K	A	-	-	A	A	-	-	-(+)	+/-	+

\* El símbolo entre paréntesis indica reacciones ocasionales

<sup>1</sup> *S. sonnei* es ornitina positiva

Tomado de García y Zamudio, 1998.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	109/320

Los padecimientos menos frecuentes son: la adenitis mesentérica y la ileítis terminal que pueden confundirse con apendicitis. También se ha demostrado su presencia en conjuntivitis supurativa, septicemia, además de otros procesos infecciosos. Se ha aislado de heces de animales silvestres y domésticos, por lo que se considera como una zoonosis aislándose de alimentos, principalmente de leche y sus derivados.

Las muestras para su aislamiento son diversas, siendo las principales: heces, sangre, expectoración, bilis, secreciones o exudados y orina.

TABLA 8.2.1. Características bioquímicas de los géneros de interés clínico de la familia *Enterobacteriaceae*.

CARACTERÍSTICA Batería Principal	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i> *	<i>Escherichia</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Morganella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Yersinia</i>
Adonitol	V	V	V	+	-	-	V	-	V	-	-
Arginina	V	V	V	-	-	-	-	V	-	V	-
Citrato	+	+	V	V	-	V	+	V	+	-	-
ADNasa	-	-	-	-	-	V	-	-	+	-	-
Gas	+	+	+	V	V	V	V	V	V	-	V
H <sub>2</sub> S	V	-	-	-	-	V	-	V	-	-	-
Indol	V	-	+	V	+	V	+	-	V	V	V
Lisina	-	V	+	V	-	-	-	V	V	-	-
Motilidad	+	+	V	-	+	+	+	+	+	-	-
Ornitina	V	+	V	-	+	V	-	V	V	V	V
Fenilalanina	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Sacarosa	V	+	V	V	-	V	V	-	-	-	V
Ureasa	V	V	-	V	+	+	V	-	-	-	V
Voges Proskauer	-	+	-	V	-	V	-	-	-	-	-

Fuente: Lennette, 1991.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	110/320

TABLA 8.2.2. Características bioquímicas de los géneros de interés clínico de la familia *Enterobacteriaceae*.

CARACTERÍSTICA Batería Secundaria	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i> *	<i>Escherichia</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Morganella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Simmonella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Yersinia</i>
Arabinosa	+	+	+	+	-	-	-	v	v	v	v
Inositol	-	v	-	v	-	-	v	v	v	-	v
KCN	v	v	-	+	+	+	+	-	v	-	-
Lactosa	v	v	v	v	-	-	-	-	v	-	v
Malonato	v	v	v	v	-	-	-	-	v	-	v
Manitol	+	+	+	+	-	-	v	+	+	v	+
Melobiosa	v	+	v	+	-	-	-	v	v	v	v
ONGP	+	+	+	v	-	-	-	-	+	v	v
Rafinosa	v	+	v	+	-	-	-	-	v	v	v
Ramnosa	+	+	v	v	-	-	v	v	v	v	v
Salicina	v	v	v	+	-	v	v	-	v	-	v
Sorbitol	+	v	v	+	-	-	-	+	v	v	v
Trehalosa	+	+	+	+	v	v	v	v	+	v	+
Xilosa	+	+	+	+	-	+	+	v	v	-	v

Fuente: Lennette, 1991

\* No incluye *E. agglomerans*.

Símbolos: - < 10% de las cepas positivas

v 10-89% de las cepas positivas

+ > 90% de las cepas positivas

Sólo se incluyen las especies de interés clínico en los valores porcentuales del género.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	111/320

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Cepas: *Escherichia coli*,  
*Salmonella sp.*  
*Shigella sp.*  
*Proteus sp.*  
*Klebsiella sp.*

- 2 placas de agar EMB
- 2 placas de agar SS
- 2 placas de agar sulfito de bismuto
- 2 placas de agar verde brillante
  
- 4 tubos de TSI
- 4 tubos de LIA
- 4 tubos de MIO
- 4 tubos de SIM
- 4 tubos de fenilalanina
- 4 tubos de citrato de Simmons
- 4 tubos de caldo RM-VP
- 4 tubos de urea Christensen
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + adonitol
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + arabinosa
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + glucosa
- 4 tubos con caldo rojo de fenol+ inositol
- 4 tubos con caldo rojo de fenol+ lactosa
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + manitol
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + salicina
- 4 tubos con caldo rojo de fenol + trehalosa

Juego de reactivos para tinción de Gram

Reactivos para catalasa, fenilalanina desaminas, indol, oxidasa, rojo de metilo y Voges-Proskauer.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	112/320

## Procedimiento

1. De cada una de las cepas, realizar frotis y teñir por la técnica de Gram. (Anexo B - Tinciones). Observar la morfología microscópica.
2. Sembrar cada cepa, en las placas de agar por estría cruzada.
3. Sembrar cada cepa, en las pruebas bioquímicas.
4. Incubar a 37°C durante 24 hs.
5. Describir la morfología colonial en los medios sembrados y realizar la lectura de las pruebas bioquímicas.
6. Con los resultados obtenidos, comparar con las Tablas 8.1., 8.2.1. y 8.2.2.
7. Realizar su discusión y conclusiones.

## Equipo

Microscopio Óptico  
Jarra de anaerobiosis

## Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

## Formato para el reporte de resultados

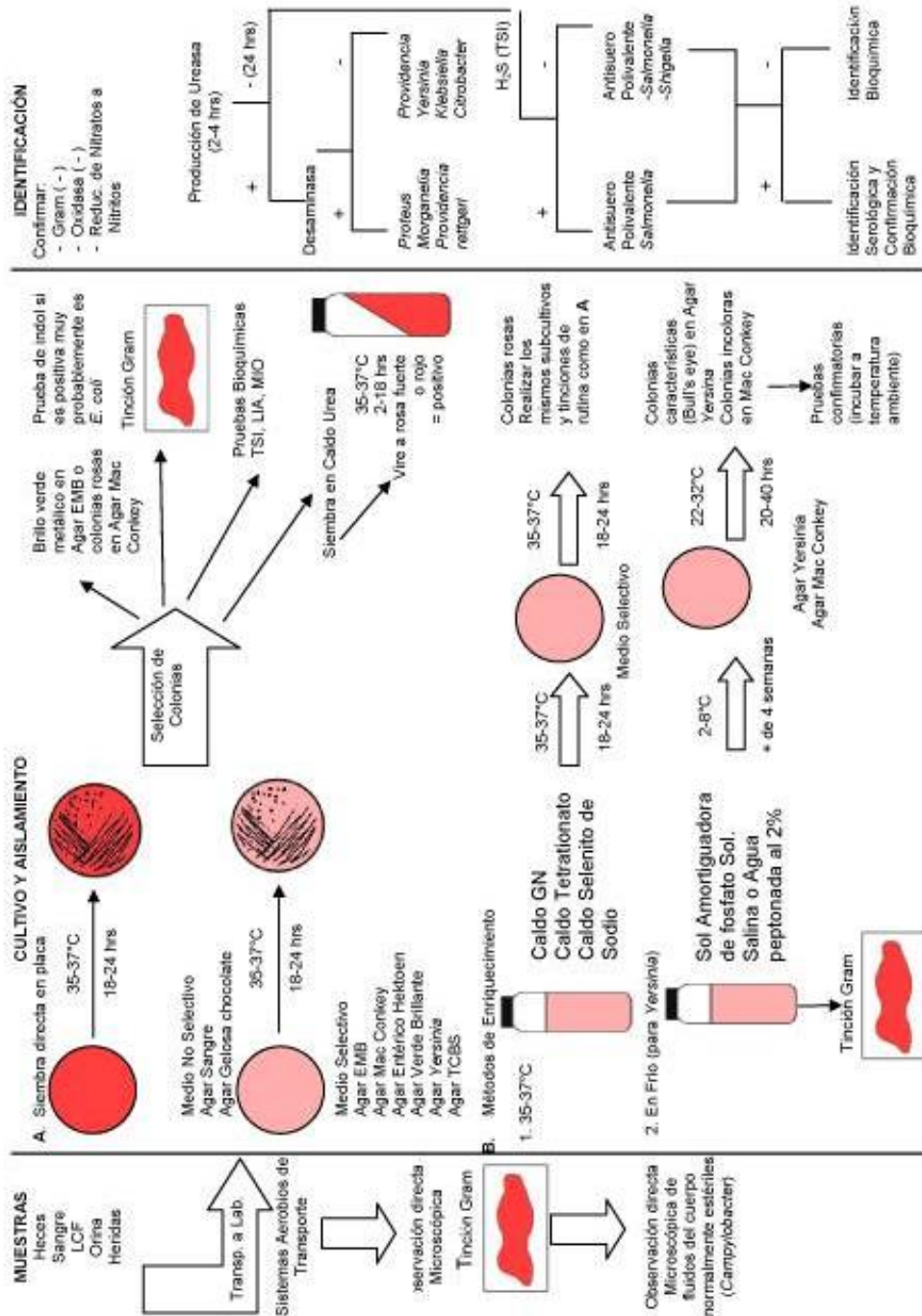
Ver Anexo H





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/2020	1	113/320

Diagrama 8.1. CULTIVO DE ENTEROBACTERIAS





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	114 / 320

## PRÁCTICA No. 9

### COPROCULTIVO

#### Diagnóstico de enfermedades bacterianas del tracto gastrointestinal

#### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico de agentes causales de infecciones gastrointestinales por medio del coprocultivo.

#### Fundamento teórico

La ingestión de patógenos causa muchas infecciones, que pueden quedar limitadas al tracto gastrointestinal o comenzar en el intestino para diseminarse después hacia otras partes del organismo.

Se usan términos diferentes para describir las enfermedades de tracto gastrointestinal, y los de empleo común son:

**diarrea**, eliminación fecal anormal caracterizada por heces frecuentes y/o líquidas, habitualmente se debe a enfermedad del intestino delgado, e implica un aumento de la pérdida de líquidos y electrolitos;

**disentería**, trastorno inflamatorio del tracto gastrointestinal, asociado frecuentemente a presencia de sangre y pus en las heces y acompañado por síntomas de dolor, fiebre y calambres; de modo habitual se debe a enfermedad del intestino grueso;

**enterocolitis**, inflamación que afecta a la mucosa del intestino, tanto delgado como grueso;



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	115 / 320

**gastroenteritis**, síndrome caracterizado por síntomas gastrointestinales que incluyen náuseas, vómitos, diarrea y molestias abdominales.

Una amplia gama de patógenos microbianos pueden infectar el tracto gastrointestinal, y las bacterias y virus más importantes se enumeran en el cuadro 9.1. Se adquieren por vía fecal-oral a partir de alimentos, líquidos o dedos contaminados con heces.

Los efectos de las infecciones del tracto gastrointestinal oscilan desde el episodio diarreico leve y autolimitado hasta la diarrea grave, a veces mortal. Pueden existir vómitos, fiebre y malestar general. Sin embargo, la diarrea se produce también en muchas condiciones distintas de la enfermedad, y no se debe dar por supuesta una causa infecciosa es la manifestación más común de infección en tracto gastrointestinal y puede considerarse un mecanismo mediante el que el huésped fuerza la expulsión del patógeno (y al hacerlo facilita su diseminación).

La enfermedad diarreica es una causa importante de morbilidad y mortalidad en el mundo subdesarrollado, sobre todo entre los niños pequeños, más de 5 millones de niños mueren cada año; además contribuye mucho a la desnutrición y al retardo del desarrollo físico y mental. En los países desarrollados sigue siendo un trastorno muy común, pero de modo habitual leve y autolimitado, excepto en los sujetos muy jóvenes, ancianos o inmunocomprometidos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	116 / 320

CUADRO 9.1. Patógenos bacterianos y virales importantes del tracto gastrointestinal.

PATÓGENO	RESERVORIO ANIMAL	TRANSMISIÓN POR ALIMENTOS	TRANSMISIÓN POR EL AGUA
<b>BACTERIAS</b>			
<i>Escherichia coli</i>	+?	+(ECVT)	+(ECET)
<i>Salmonella</i>		+	+
<i>Campylobacter</i>	+	+++	+
<i>Vibrio cholerae</i>	-	+	+++
<i>Shigella</i>	-	+	-
<i>Clostridium perfringens</i>	+	+++	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	++	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	++	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	+	+	-
<b>VIRUS</b>			
Rotavirus	-	-	-
Virus redondos pequeños		++	+

Fuente: Mims, 1995.

La mayoría de los patógenos se encuentran en todo el mundo, pero algunos, p. ej. *Vibrio cholerae*, tienen una distribución geográfica más limitada. Sin embargo tales infecciones pueden ser adquiridas por las personas que viajan a las áreas endémicas e importadas por ellas a sus países de origen.

En general es imposible distinguir sobre bases clínicas entre las enfermedades causadas por distintos patógenos. Sin embargo la información sobre los alimentos ingeridos recientemente por el paciente y la historia de viajes, junto con el examen microscópico y macroscópico de las heces en busca de sangre y pus, pueden proporcionar indicios útiles. El diagnóstico preciso sólo puede establecerse mediante investigaciones de laboratorio. Lo cual tiene importancia especial durante las epidemias, dada la necesidad de investigaciones epidemiológicas y



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	117 / 320

medidas de control apropiadas.

Coprocultivo. El estudio de la materia fecal para el aislamiento e identificación de bacterias productoras de diarrea.

Las muestras se pueden recoger directamente en un frasco limpio de boca ancha, al inicio de la enfermedad y antes de dar tratamiento antimicrobiano. El frasco con tapa hermética y de preferencia estéril, se va a procesar en un hospital de inmediato, o bien se toman dos hisopos rectales impregnados de materia fecal que se colocan en un medio de transporte como Cary-Blair, cuando en el diagnóstico se incluye cólera y además los otros agentes; si van a transcurrir más de dos horas para poder procesarlo se pueden usar medios de Stuart o Amies como medios de transporte.

Las muestras para buscar rotavirus se colocan en solución salina de fosfato, se hace una suspensión y se congelan hasta su procesamiento. Algunos recomiendan hacer un examen directo y buscar leucocitos para mostrar la acción invasora.

La elección de los medios de aislamiento primario selectivo y diferencial depende de los recursos del laboratorio, del número de muestras que se procesan y del agente que se está buscando, sobre todo en brotes o en estudios epidemiológicos dirigidos.

Se recomienda un medio selectivo diferencial poco inhibitorio como el de MacConkey o el EMB y un medio de enriquecimiento que puede ser caldo tetrionato de Mueller o caldo tetrionato modificado de Kauffmann ambos se reducen con yodo yodurado en el momento de inocularlo; también se puede emplear caldo selenito. La proporción de materia fecal en medios de enriquecimiento es de 10% p/v, se incuban de 12 a 18 hs a 37°C y se resiembran en dos placas de medios selectivos y diferenciales más inhibidores y altamente selectivos como: el agar verde brillante o agar sulfito de bismuto. Se inoculan por estría cruzada y se incuban a 37°C durante 24 h. (Diagrama 9.1. y Diagrama 9.2.)

La identificación se realiza de acuerdo a los diagramas 9.1 y 9.2. y la tablas 8.1., 8.2.1. y 8.2.2. sin olvidar que en caso de aislar *Salmonella* o *Shigella* se debe completar el estudio empleando antisueros específicos.

Si se está buscando *V. cholerae* deben tomarse dos hisopos con materia fecal, uno para el estudio de enterobacterias y otro para investigar vibrios. El aislamiento se hace previo enriquecimiento en agua peptonada alcalina pH 9.0, que se incuban 6 h a 37°C y luego se siembra en medio selectivo TCBS (tiosulfato citrato bilis sacarosa). La identificación se inicia con la prueba de oxidasa y se agrega el



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	118 / 320

medio base de Moeller con arginina para la prueba de descarboxilasa. Se observa que los vibrios son oxidasa positivo y no descarboxilan la arginina, aquí también se completa el estudio con una reacción de aglutinación de antisuero NO O1 o no coléricos.

Se produce 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, denominadas “patógenos entéricos”.

Colonizan la parte proximal o distal del intestino delgado e inducen la acumulación de líquido en la luz intestinal porque afectan la bioquímica de transporte de electrólitos o porque alteran la estructura de la membrana de las microvellosidades donde se produce el transporte de iones.

Otro grupo de patógenos causan un daño estructural en el intestino, más comúnmente en el intestino grueso, si bien también puede ser afectada la parte distal del intestino delgado; estos microorganismos invaden o lesionan la mucosa, llevando a una diarrea hemorrágica o a la disentería. Esta última es un síndrome clínico que se distingue por las deposiciones frecuentes (a menudo más de 30/día), típicamente de pequeño volumen con sangre y pus macroscópicos y con ciertos síntomas como calambres y dolor causados por el esfuerzo de defecar (lo cual se conoce como “tenesmo”).

La disminución de la mortalidad por las diarreas “secretoras” debida al amplio uso del tratamiento de rehidratación oral ha puesto de manifiesto la persistente mortalidad debida a las diarreas invasivas e inflamatorias, en especial en los países en desarrollo. Estas infecciones severas y algunas veces potencialmente letales con frecuencia requieren el uso de antibióticos; por lo tanto la resistencia a los fármacos a menudo es una preocupación adicional. La necesidad de antibióticos es especialmente problemática en los países en desarrollo en los cuales nuevos fármacos efectivos no están disponibles o son demasiado costosos para la mayoría de los pacientes. Para empeorar las cosas, los servicios médicos en estas regiones del mundo no son capaces de manejar en forma óptima las complicaciones sistémicas asociadas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	119 / 320

### Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Muestra de materia fecal, de una persona con probable trastorno gastrointestinal infeccioso. El recipiente debe etiquetarse a fin de saber: equipo que la procesará y datos del paciente.

tubo con caldo de enriquecimiento (selenito o tetratonato)

- 2 placas de agar EMB
- 2 placas de agar SS
- 2 placas de agar VB
- 2 placas de agar SB

tubos con agar citrato de Simmons  
tubos con agar fenilalanina desaminasa  
tubos con agar LIA  
tubos con agar MIO  
tubos con agar SIM  
tubos con agar TSI  
tubos con agar urea de Christensen  
tubos con caldo nitrato  
tubos con caldo RM-VP

Juego de reactivos para tinción de Gram

Reactivos para: fenilalanina desaminasa, indol, nitrato, RM-VP

### Procedimiento

La muestra será procesada directamente y por enriquecimiento.

1. Investigar lo relativo en torno a los elementos que se consideraron para procesar la muestra.
2. Realizar el examen coprológico de la muestra problema.
3. Inocular directamente la muestra en una serie de las placas de agar proporcionadas. Incubar a 37 °C de 24 a 48 hs.
4. Inocular la muestra en un tubo con caldo de enriquecimiento. Incubar a 37 °C



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>120 / 320</b>

durante 18 a 24 hs. Subcultivar una serie de placas de agar.

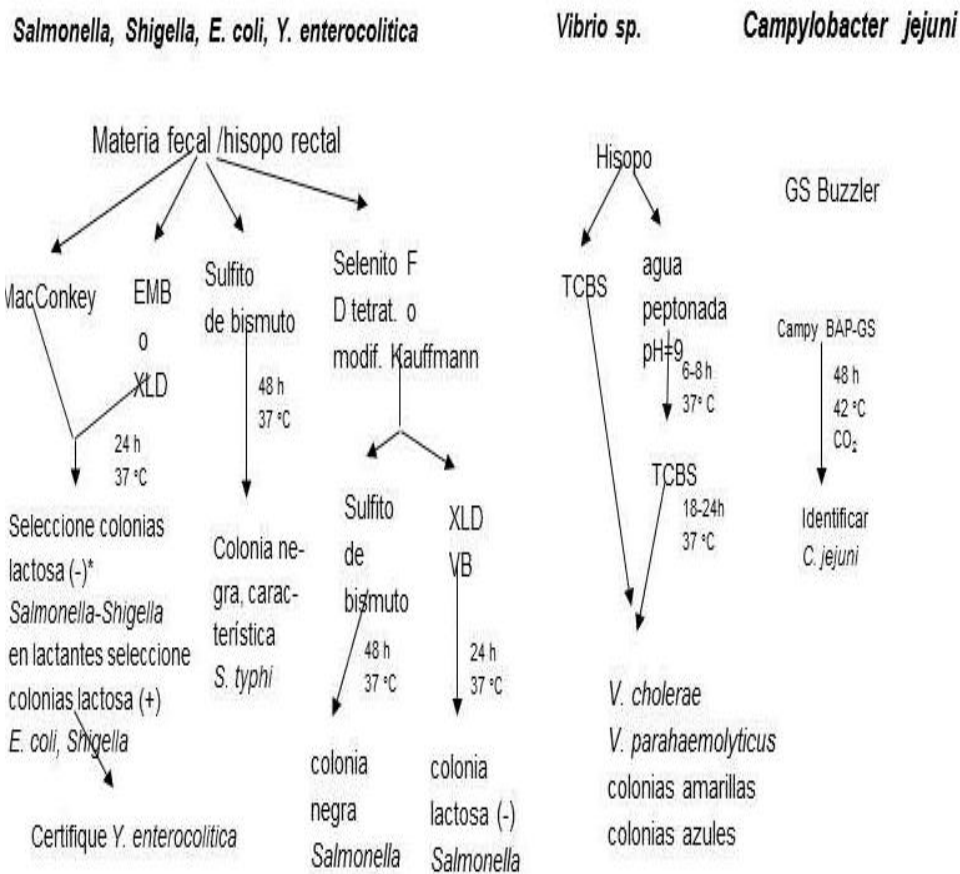
5. Observar las características más relevantes de la morfología colonial en cada uno de los medios inoculados, a fin de seleccionar el crecimiento del posible patógeno.
6. Describir la morfología colonial del posible patógeno y realizar la inoculación a las pruebas bioquímicas.
7. Realizar la lectura de las pruebas bioquímicas. Con los resultados obtenidos, comparar en las Tablas 8.1., 8.2.1. y 8.2.2.
8. Realizar su discusión y conclusiones.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	121 / 320

**Diagrama 9.1. Inoculación para el aislamiento de bacterias patógenas en heces.**

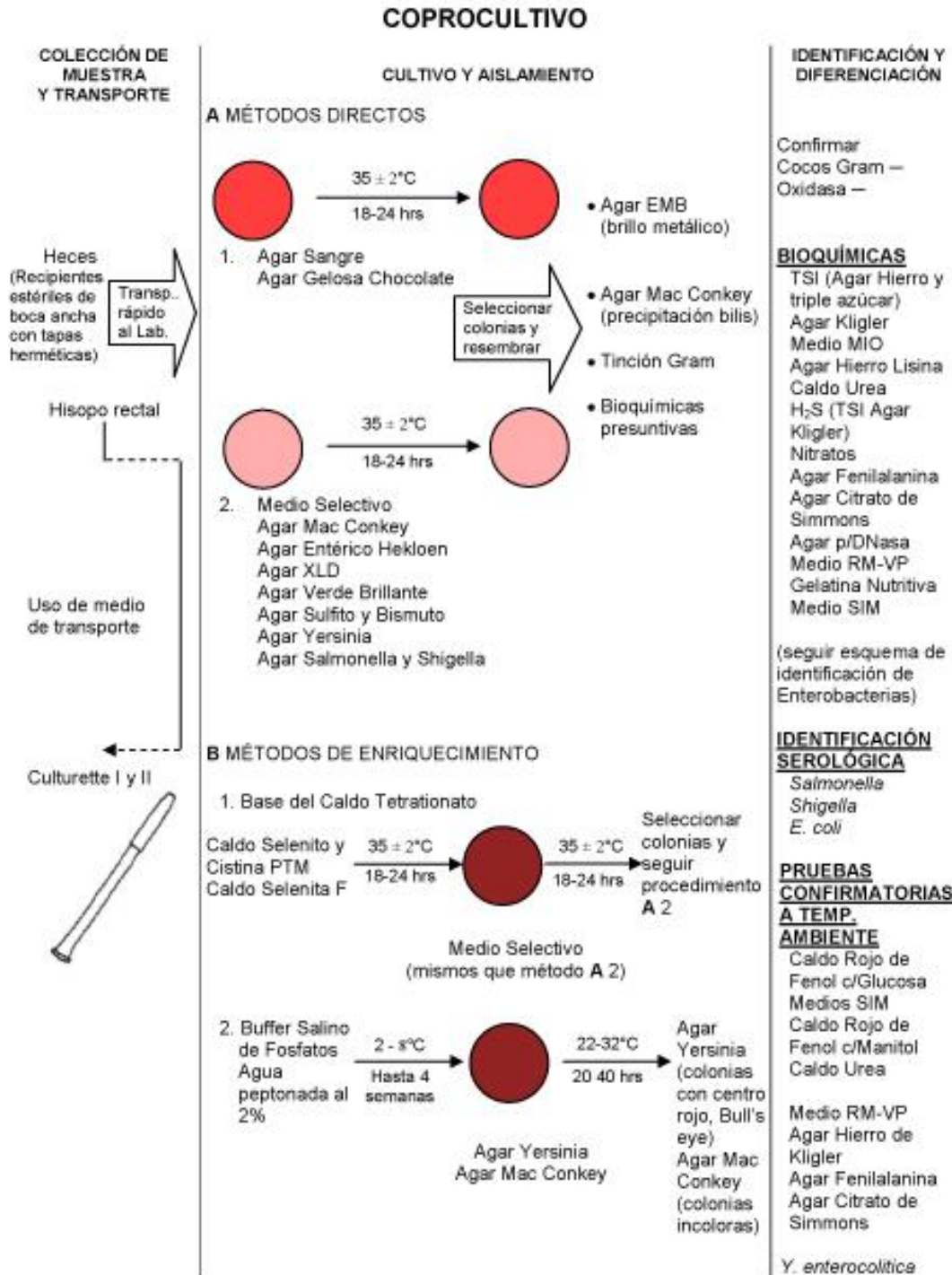


\* Úselo sólo para buscar *S. typhi*; algunas *Pseudomonas* y *Aeromonas* pueden dar colonias negras.

Fuente: OMS (1991) en García-Giono (eds), 1993.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	122 / 320





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	<b>1</b>	<b>123 / 320</b>

# APARATO RESPIRATORIO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	124 / 320

## Aparato respiratorio

El aparato respiratorio (AR) es el sitio más común de infecciones por microorganismos patógenos. Las infecciones respiratorias en general son leves y ocurren con frecuencia. Éstas representan una carga inmensa para nuestra sociedad y, por lo tanto tienen gran impacto económico.

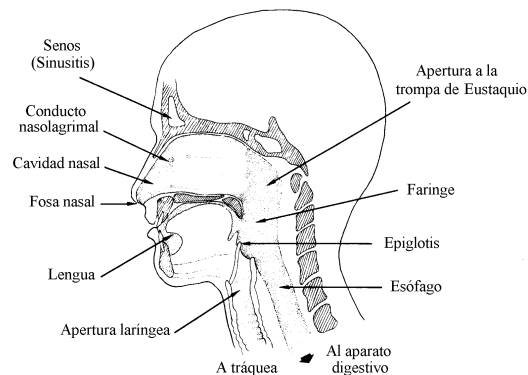
El hecho de que el AR se infecte con frecuencia no es sorprendente cuando consideramos que está en contacto directo con el medio ambiente y se encuentra expuesto de continuo a los microorganismos suspendidos en el aire que respiramos. El AR también provee un medio de transporte microbiano a otros individuos al hablar, toser o estornudar, cuando son liberadas gotas de secreciones. Algunos gérmenes son altamente virulentos y pueden enfermar a personas normales incluso en pequeñas cantidades; empero la mayoría no causa infecciones a menos que otros factores interfieran en las defensas del huésped. El medio ambiente húmedo y cálido del AR parece constituir un lugar ideal para el crecimiento microbiano, el AR humano provee un área extensa, de aproximadamente 60 m<sup>2</sup> de contacto entre el ambiente y el cuerpo, incluye: nariz, faringe, laringe, tráquea, bronquios y pulmones.

Las infecciones pueden localizarse en cualquier nivel del AR y la localización es un determinante mayor de las manifestaciones clínicas. Las manifestaciones clínicas de las infecciones del AR también dependen de los agentes causales, algunos microorganismos tienen una fuerte predilección por ciertos sitios en el AR ya sea debido a tropismo específico o a la supervivencia selectiva.

**Nariz y fauces.** Si bien la parte posterior de la nasofaringe "se fusiona" con la orofaringe existen diferencias importantes entre las infecciones de la nariz y la garganta. La mayor parte de las infecciones de la nasofaringe son causadas por virus y producen signos y síntomas que colectivamente se conocen como el resfrío común.

La infección de la orofaringe, la faringitis, se asocia con malestar de la garganta, en especial durante la deglución. Algunas veces también hay síntomas nasales. Los virus y las bacterias son los agentes etiológicos más comunes.

**Epiglotis.** Es probable que la epiglotitis





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	125 / 320

aguda sea la forma más severa de infección respiratoria aguda. Este síndrome clínico puede ser rápidamente letal porque la vía aérea puede resultar obstruida por completo por la tumefacción de la epiglotis y las estructuras circundantes. La epiglotitis aguda ocurre con mayor frecuencia en los niños pequeños y la causa casi invariablemente es el *Haemophilus influenzae* tipo b.

**Laringe y tráquea.** La infección de la laringe y la vía aérea superior en los niños pequeños a menudo se asocia con el síndrome clínico de Crup. Casi todos los casos son causados por virus en especial parainfluenza.

Raras veces algunas bacterias, en particular el *S. aureus*, pueden causar hallazgos clínicos similares a los del Crup viral. En los adultos la principal manifestación clínica de la infección de laringe es la ronquera. Casi todas las infecciones laríngeas agudas en los adultos son causadas por virus, si bien pueden ser muy molestas, en general son leves y autolimitadas. Otras causas menos comunes incluyen las bacterias de la tuberculosis y las levaduras (*Candida albicans*) en especial en los pacientes inmunocomprometidos.

**Bronquios y bronquiolos.** Muchos microorganismos diferentes causan infecciones de los grandes bronquios. Entre los virus el prototipo es el influenza virus. La bronquitis también es causada por otros virus, los micoplasmas, las clamidias, los neumococos y el *Haemophilus influenzae*.

El virus sincicial respiratorio (VSR) se describe a menudo como la causa más peligrosa de infecciones respiratorias en los niños pequeños. Además de la bronquiolitis también causa neumonía e infección respiratoria aguda.

**Pulmones.** La neumonía, la infección del parénquima pulmonar, puede ser causada por muchos patógenos diferentes, algunas veces con manifestaciones clínicas distintivas. Por lo tanto la neumonía no es una enfermedad sino muchas enfermedades diferentes que comparten una localización anatómica común.

Clasificación clínica y epidemiológica. La primera diferenciación importante se hace entre la neumonía aguda (comienzo bastante súbito con progresión de los síntomas en pocos días) y neumonía subaguda o crónica. Entre las neumonías agudas, los casos adquiridos: en la comunidad y los nosocomiales. La mayor parte de las formas comunes de neumonía aguda adquirida en la comunidad son causados por patógenos que son transmitidos de una persona a otra (p.ej., neumococos). Un segundo grupo encontrado con menor frecuencia en circunstancias ordinarias, incluye las neumonías causadas por los agentes patógenos que tienen un reservorio animal o ambiental. En muchos casos el diagnóstico de las neumonías de este grupo resulta difícil, a menos que el médico busque las circunstancias de la exposición. Las neumonías en los lactantes y los

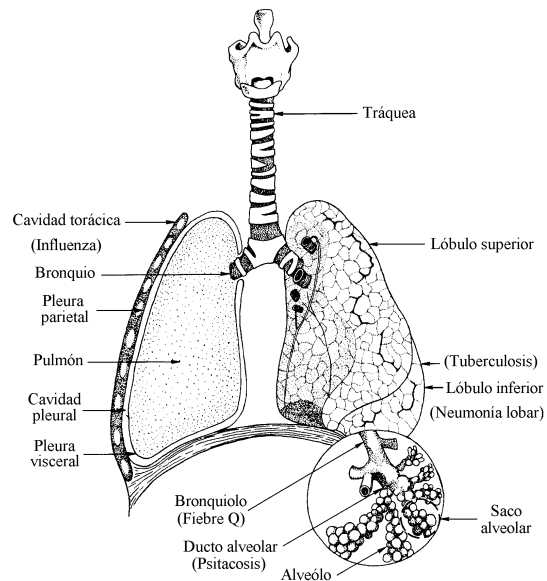


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	126 / 320

niños pequeños se ubican en un tercer grupo porque tienen un espectro etiológico distintivo.

En contraste con los pacientes con neumonía aguda se encuentran aquellos con infecciones pulmonares que han estado presentes durante semanas o meses. Es posible diferenciar varias formas de neumonías subagudas y crónicas. Son la tuberculosis, la neumonía micótica y los abscesos de pulmón por microorganismos anaerobios. Es importante comprender que esta clasificación se basa en patrones clínicos comunes de la infección pero que existen excepciones. Por ejemplo algunos pacientes con tuberculosis, histoplasmosis o abscesos pulmonares pueden presentar una enfermedad aguda rápidamente progresiva.

La defensa de los pulmones comienza en la nariz, donde los pelos especializados, conocidos como vibrisas, actúan como filtro para las grandes partículas suspendidas en el aire inhalado. Las partículas grandes (de más de  $10\mu\text{m}$  de diámetro) tienden a asentarse en los puntos de cambios bruscos de la dirección del flujo aéreo, como p. ej., en la parte posterior de la nasofaringe. Es probable que las partículas más pequeñas de menos de  $3\mu\text{m}$  de diámetro, eludan estas barreras y lleguen a los bronquiolos terminales y los alvéolos.



El epitelio respiratorio propiamente dicho posee defensas especializadas contra las infecciones. Las uniones estrechas entre las células impiden la penetración directa. Las células epiteliales desde la nariz hasta los bronquiolos terminales están recubiertas por cilios que se mueven de forma coordinada.

Por encima de los cilios hay una capa de moco que contiene compuestos antimicrobianos como la lisozima, la lactoferrina y los anticuerpos IgA secretora.

Las defensas pulmonares finales se hallan en los alvéolos: los anticuerpos de IgA, los componentes del complemento, probablemente la sustancia tensioactiva propiamente dicha y, lo que es más importante, los macrófagos alveolares.

Los patógenos pueden llegar a los pulmones por una de cinco vías:



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	127 / 320

- inhalación directa,
- aspiración del contenido de las vías aéreas altas,
- diseminación a lo largo de la mucosa,
- diseminación hematógena y,
- rara vez, penetración directa.

De éstas, la inhalación y la aspiración son las más comunes.

## TOMA DE MUESTRA

**Nasofaringe.** El material se obtiene bajo visión directa con una buena iluminación frontal alta. Con el pulgar de una mano se levanta suavemente la punta de la nariz. Se humedece la punta de un hisopo nasofaríngeo flexible con agua esterilizada o solución fisiológica y se inserta con suavidad en uno de los orificios nasales. Se mueve el hisopo hacia atrás y hacia arriba a lo largo del tabique nasal hasta que una resistencia evidente indique que se ha llegado a la parte posterior de la faringe. Se retira suavemente el hisopo. Si durante su introducción se halla una resistencia indebida, posiblemente por un tabique nasal desviado, se repite el procedimiento a través del otro orificio nasal.

**Orofaringe.** Con una luz brillante por encima del hombro de la persona que obtiene la muestra debe iluminarse la cavidad oral abierta para guiar el hisopo hacia la parte posterior. Se instruye al paciente para que respire profundamente y se deprime la lengua con suavidad con un abatelenguas. Luego se extiende el hisopo entre los dos pilares amigdalinos y detrás de la úvula. Debe tenerse la precaución de no tocar las paredes laterales de la cavidad oral. Hacer que el paciente diga "ah" sirve para levantar la úvula y ayuda a reducir el reflejo de arcadas. El hisopo debe moverse hacia atrás y hacia adelante a través de la parte posterior de la faringe para obtener una muestra adecuada. Una vez recogida la muestra debe colocarse de inmediato en un tubo estéril u otro envase adecuado para el transporte al laboratorio. Si sólo se desea recuperar estreptococos del grupo A, puede dejarse que los hisopos se sequen durante el transporte sin comprometer la recuperación de microorganismos viables. Algunos laboratorios incluso aconsejan colocar la punta del hisopo en un agente secante, como el gel de sílice, para suprimir la supervivencia de comensales y permitir la recuperación de estreptococos del grupo A que resisten la desecación.

Los sistemas de detección directa de antígenos para la identificación rápida de



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	128 / 320

estreptococos del grupo A se están usando cada vez con mayor frecuencia. Muchos microbiólogos prefieren obtener dos hisopados faríngeos -uno para extracción de antígenos y otro para cultivo, en caso de que el procedimiento de detección directa resultara negativo-.

*Neisseria gonorrhoeae* es una causa poco común de faringitis. El cultivo faríngeo para este microorganismo se realizará solamente con una solicitud específica; por lo que se estiarán medios selectivos (p. ej., Thayer-Martin modificado) inmediatamente después de que el hisopado se ha obtenido o se ha recibido en el laboratorio, en un medio de transporte. Los hisopados secos son inaceptables y no deberán procesarse para este microorganismo que es extremadamente lábil y no resiste la desecación o la refrigeración.

**Senos paranasales.** Los senos paranasales se comunican con la cavidad nasal y están expuestos a los organismos que residen en la nasofaringe (p. ej., *H. influenzae*, *Branhamella*, neumococos y anaerobios) que pueden ser los agentes etiológicos de la sinusitis por lo que la muestra útil es la aspiración -con aguja después de la decontaminación de la cavidad nasal. Debido a la dificultad para colectar esta muestra, la mayoría de las infecciones de los senos paranasales, se tratan empíricamente. Los hisopos nasofaríngeos no pueden utilizarse para el diagnóstico microbiológico de la sinusitis.

**Exudado faríngeo.** Por medio de un abatelenguas exponer la orofaringe, si es posible iluminar para observar enrojecimiento o absceso, con un hisopo estéril raspar amígdalas y faringe con movimiento rotatorio, evitando tocar el paladar (produce vómito), escoger preferentemente las zonas inflamadas, membranosas anormales, al retirar el hisopo no tocar lengua, carrillos o cualquier otra zona de la boca.

**Exudado nasofaríngeo.** Con un hisopo de alambre largo, hacerlo pasar por las fosas nasales a la nasofaringe en su pared posterior, hacer girar el hisopo con cuidado y dejarlo unos 30 segundos, retirar con cuidado en línea recta.

**Aspiración transtraqueal.** Últimamente se ha cuestionado la validez de una muestra de expectoración en el diagnóstico de neumonía severa necrotizante causada por bacilos entéricos y otros patógenos, incluyendo anaerobios,





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	129 / 320

infecciones que con el tiempo se han vuelto más frecuentes. En 1959 Pecora propuso la aspiración transtraqueal con un catéter y una aguja pequeña introducida en la tráquea, a través del ligamento cricotiroideo, este método evita la contaminación orofaríngea, se ha comprobado que es muy satisfactoria y se recomienda para casos de absceso pulmonar, neumonía de aspiración y bronquiectasia. Los frotis de esta muestra se correlacionan perfectamente con el cultivo, debe evitarse en pacientes con problemas ventilatorios.

**Expectoración.** Se debe obtener preferentemente la primera muestra de la mañana, al levantarse el enfermo, ya que durante la noche se acumula gran cantidad de secreción bronquial en el aparato respiratorio, la cual se arroja con facilidad al toser. Algunos pacientes expectoran muy poco, por lo que la muestra consistirá de una mezcla de expectoraciones pequeñas con un volumen alrededor de 10 ml, deberá analizarse solamente la quinta parte de ésta. Se debe evitar que la muestra sea únicamente saliva o moco nasofaríngeo.

Las muestras obtenidas durante periodos de varios días o enviadas por correo se les agrega aproximadamente 50 mg de polvo de carbonato de sodio para disminuir el crecimiento de contaminantes. La refrigeración de la muestra después de colectar cada porción, ayuda a suprimir contaminantes y a reducir el mal olor. El hisopo laríngeo o faríngeo puede usarse principalmente en niños que tragan el esputo, o en enfermos que no pueden expectorar.

Fuentes: Schaechter, 1994 y Wistreich, 1980.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	130 / 320

## PRÁCTICA No. 10

### Género: *Corynebacterium*

Especies: *C. diphtheriae*  
*C. pseudotuberculosis*  
*C. xerosis*

### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico del género bacteriano: *Corynebacterium* que causa infecciones en el aparato respiratorio.

### Fundamento teórico

*Corynebacterium* (difteroides aerobios) se encuentra en la sección 15 del Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey, que incluye a los “bacilos grampositivos pleomórficos no esporulados” los cuales comprenden un grupo heterogéneo de microorganismos, muchos de los cuales se conocen poco.

En este género se incluyen patógenos animales y comensales, patógenos de plantas y bacterias del suelo. Son bacilos pequeños rectos o ligeramente curvos, habitualmente pleomórficos (adoptan una configuración de cadenas cortas, en “V” o en “Y” o en aglomeraciones que se parecen a los caracteres chinos). A menudo tienen apariencia de mazas, con gránulos en banda o en cuentas de canutillo que se tiñen irregularmente y dan apariencia de bandas, pueden presentar gránulos metacromáticos (polimetáfosfato) que se tiñen de color azul-morado cuando se utiliza el azul de metileno. Son aerobios y anaerobios facultativos, con frecuencia al crecer en los medios líquidos forman una película, también ocurren especies microaerófilas. Son inmóviles, catalasa positivos y fermentan los carbohidratos produciendo ácido láctico. El contenido de G + C es de 51 a 60%. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza. La tabla 1.1 presenta las características diferenciales de las especies.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	131 / 320

*C. diphtheriae* es la especie tipo, en primoaislamiento se cultiva en gelosa sangre y en el medio de Loeffler o en el de Pai -que aumentan el pleomorfismo y en donde se observa la morfología microscópica característica después de incubación de 12 a 18 hs. Las colonias en éstos se observan de color gris o crema. La adición de telurito de potasio al 0.04% en la gelosa sangre o la gelosa chocolate proporciona un medio diferencial selectivo, en el que algunos contaminantes son inhibidos y las colonias se pueden observar de color gris acero o negro. A nivel de morfología colonial se describen tres tipos: gravis, mitis e intermedius cuyas características aparecen en la tabla 11.2. -algunas cepas presentan combinaciones de las tres y esto hace más difícil su identificación-. Los tres tipos producen una exotoxina idéntica altamente letal, aunque se aíslan cepas no toxigénicas que generalmente corresponden al tipo mitis.

La temperatura de desarrollo es de 37°C, producen ácido de glucosa y maltosa, aunque algunas lo hacen también de la sacarosa, no hidrolizan la urea ni la gelatina.

La capacidad que tiene el microorganismo para sintetizar la exotoxina está determinada por la presencia de un profago que lleva un determinante específico llamado Tox<sup>+</sup>, y aunque la bacteria es responsable de la regulación de la expresión de este gene, diferentes cepas de *C. diphtheriae* infectadas con el mismo fago varían notablemente en la producción de la toxina aún en condiciones óptimas. Este proceso está relacionado íntimamente con el contenido de hierro dentro de la célula.

La toxina tiene un peso molecular de alrededor de 63 000 y se han separado dos fragmentos, el A (22000) y el B (40000), actúan a nivel de translocación en la biosíntesis de las proteínas, inhibiendo la incorporación de los aminoácidos a la cadena polipeptídica por inactivación del factor EF<sub>2</sub>.

La toxina tiene capacidad antigénica extraordinaria estimulando grandes cantidades de antitoxina, además es inmunológicamente idéntica para diferentes cepas del bacilo diftérico, lo que ha hecho posible el control de la enfermedad por vacunación con toxoide. La difteria cuyo único reservorio es el hombre, es una infección de las mucosas y faringe, aunque puede encontrarse raramente en otras localizaciones. La toxina forma lesiones locales con degeneración del epitelio y tejidos subyacentes con exudación fibrinosa formando una pseudomembrana, la cual puede ser tan grande que obstruya el paso aéreo provocando asfixia; son mucho más importantes los efectos generales y el estado de toxemia que ocasiona lesiones a tejidos y órganos distantes.

Para el diagnóstico de difteria el médico envía al laboratorio hisopados faríngeos o nasofaríngeos.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	132 / 320

*C. pseudotuberculosis*, es muy parecida a la especie anterior especialmente al tipo *gravis*, sobre gelosa sangre presenta colonias blanco amarillentas frecuentemente rodeadas por una zona de hemólisis pequeña. Producen ácido de ramnosa e hidrolizan la urea. Esta especie tiene en común con *C. diphtheriae*, la propiedad de producir toxina, determinada también por la presencia de un fago. Causa linfangitis ulcerativa, abscesos y otras infecciones purulentas crónicas en los borregos, las cabras, los caballos y otros animales de sangre caliente. Ocasionalmente causa infecciones en el hombre.

*C. xerosis*, en gelosa sangre se observan colonias de mayor tamaño que en medios sin sangre, son de color amarillo pálido, no hemolíticas y pueden ser lisas o rugosas. En los medios líquidos crece y forma un depósito granular con sobrenadante claro, hidroliza el hipurato y es piramidasa positiva, a diferencia de las especies. Se aísla del saco conjuntival del hombre, considerándose habitante normal de piel y membranas mucosas.

*C. pyogenes*, actualmente esta bacteria se reclasificó como *Actinomyces pyogenes*. Se pueden observar formas bacilares cortas y cocos aislados; a veces cadenas de cocos por lo que puede confundirse con *Streptococcus*. En gelosa sangre las colonias son muy pequeñas rodeadas por una zona amplia de  $\beta$  hemólisis de tres a cuatro veces el tamaño de éstas. En algunos casos la presencia de CO<sub>2</sub> aumenta su desarrollo, (entre 5 y 10%), cruza con estreptococos de los grupos B y G y produce una hemólisis soluble.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	133 / 320

Tabla 11.1. Características diferenciales de las especies del género *Corynebacterium*

Característica	<i>C. diphtheriae</i>	<i>C. pseudotuberculosis</i>	<i>C. xerosis</i>	<i>C. pseudodiphtheriae</i>	<i>C. kutscheri</i>	<i>C. minutissimum</i>	<i>C. striatum</i>	<i>C. renale</i>	<i>C. cistitidis</i>	<i>C. pilosum</i>	<i>C. mycetoides</i>	<i>C. matruchotti</i>	<i>C. flavescens</i>	<i>C. vitrumen</i>	<i>C. glutamicum</i>	<i>C. callunae</i>	<i>C. bovis</i>	<i>C. paurometabolum</i>
glucosa	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
arabinosa	+	d	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	d	-
xilosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	ND	-	-	-	-
ramnosa	+	-	-	-	-	ND	-	-	-	-	ND	-	-	ND	-	-	-	-
fructosa	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	-
galactosa	+	+	+	-	-	ND	dc	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
manosa	+	+	+d	-	+	d	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-
lactosa	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-
maltosa	+	+	-*	-	+	+	+	d	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-
sacarosa	-*	d	+	-	+	+d	-*	-	-	-	ND	+	-	+	+	+	-	-
trealosa	f-	-*	-*	-	d	-	d	d	+	+	d	-	-	+	+	+	d	-
rafinosa	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d*	-	ND	-	-	-	-
salicina	+	-	+	-	+	ND	-	-	-	-	ND	+	-	+	-	+	-	-
dextrina	+	d	-	-	+	ND	+	+	+	+	-	+	-	ND	-	-	d	-
hidr. almidón	d	g-	-	-	+	-	+	-	+	+	ND	-	-	-	-	-	-	-
hidr. de esculina	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	+	ND	+	-	-	-	+
hipurato	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	-	-	+	+	+	-
gelatina	f-	d	-	-	-	-	dc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ureasa	f-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	dc	-	+	+	+	-	-
fosfatasa	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	ND	ND	+	+
tirosina	-	-	-	-	-	ND	+	-	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-
piracinamidasa	-	-	+	+	+	+	ND	+	+	+	ND	+	-	+	ND	ND	+	+
rojo de metilo	h+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
caseína	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
red. de nitrato	i+	d	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-

SÍMBOLOS: ND= No Determinada; + = 90% o más; d = diferentes tipos bioquímicos

c = el 50% de las cepas la dan positiva +d = cepas negativas ocasionalmente

\* = cepas positivas ocasionalmente

f = excepto el tipo "ulcerans"

g = almidón no hidrolizado normalmente, aunque hay cepas que lo hidrolizan

h = la mayoría de las cepas (90%) rojo de metilo positivo

i = el tipo "ulcerans" puede ser negativo

Fuente: García, 1993.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	134 / 320

Tabla 10.2. Características de *C. diphtheriae*.

	Morfología celular	Morfología en agar sangre	Crecimiento en caldo	Hemólisis	Fermentación Glu Sac Alm
<i>C. diphtheriae</i> (variedad <i>gravis</i> )	Bacilos cortos	Colonias 2-4 mm grises "cabeza de margarita" planas, estrías radiales	Película	-	+ - +
<i>C. diphtheriae</i> (variedad <i>mitis</i> )	Bacilos largos, ocasionalmente granos en los extremos	Colonias 1-2 mm negras convexas, lisas y brillantes	Difuso	+	+ - -
<i>C. diphtheriae</i> (variedad <i>intermedius</i> )	Bacilos largos en bastón con barras transversales	Colonias > 0.5 mm negras, planas, secas, friables y duras	Sedimento granular	-	- - -

Adaptada de Cantú y col., 1990.

### Material, reactivos y cepas microbiológicas:

#### A. Diferenciación de las especies de las especies de importancia médica.

- 2 placas de gelosa sangre de carnero
- 2 placas de gelosa sangre + telurito de potasio 0.04%
- 3 tubos con caldo rojo de fenol + glucosa
- 3 tubos con caldo rojo de fenol + lactosa
- 3 tubos con caldo rojo de fenol + maltosa
- 3 tubos con caldo rojo de fenol + salicina
- 3 tubos con caldo nitrato
- 3 tubos con caldo RM-VP
- 3 tubos con urea de Christensen
- 3 tubos con medio Loeffler

Juego de reactivos para tinción de Albert

Juego de reactivos para tinción de Gram

Reactivo para la prueba de catalasa

Cepas: *C. diphtheriae*  
*C. pseudotuberculosis*  
*C. xerosis*



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	135 / 320

## Procedimiento:

1. De cada cepa hacer dos frotis y teñir con las técnicas de Gram y Albert (Anexo B - Tinciones). Observar morfología microscópica (agrupación, pleomorfismo y presencia de gránulos metacromáticos).
2. Sembrar por estría cruzada cada una de las cepas en gelosa sangre y gelosa sangre con telurito de potasio.
3. Incubar 24 hs. a 37°C. Observar morfología colonial y hemólisis.
4. Sembrar una asada de cada una de las cepas en los medios: caldo de glucosa, lactosa, maltosa y salicina con rojo de fenol; el caldo nitrato, el caldo RM-VP y la urea de Christensen.
5. Incubar a 37°C durante 24 a 48 hs. Informar los resultados de acuerdo a la tabla 10.1.

## Equipo

Microscopio Óptico

## Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

## Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	136 / 320

## PRÁCTICA No. 11

### FAMILIA *Mycobacteriaceae*

#### GÉNERO *Mycobacterium*

#### Objetivo.

Realizar el diagnóstico microbiológico de las especies bacterianas del género *Mycobacterium* que causan infecciones en el aparato respiratorio.

#### Fundamento teórico

Las micobacterias varían morfológicamente desde formas cocobacilares hasta bacilos largos y delgados de 0.8 a 5  $\mu$  de longitud y cerca de 0.2 a 0.6  $\mu$  de grosor. No se tiñen fácilmente, pero una vez teñidas, son resistentes a la decoloración con alcohol ácido y por tanto, se conocen como bacilos ácido-resistentes. Se encuentran como bacilos solos o en grupos irregulares, a veces las micobacterias presentan pleomorfismo en frotis. Además de las especies saprofitas, este grupo incluye numerosas especies patógenas para animales y humanos, la más importante de todas es *Mycobacterium tuberculosis*.

***Mycobacterium tuberculosis***, las colonias del bacilo tuberculoso generalmente aparecen en medio de huevo coagulado después de 2 a 3 semanas de incubación a 35 ° C, no ocurre crecimiento a 25 ó 45 ° C. Al principio el crecimiento aparece como colonias pequeñas (1 a 3 mm), secas, friables, rugosas granulares, color ante. Después de varias semanas incrementan en tamaño (5 a 8 mm), las colonias típicas tienen bordes irregulares aplanados y un centro en forma de coliflor. Debido a su crecimiento abundante, estas micobacterias se llaman eugónicas. Las colonias se retiran fácilmente del medio, pero son difíciles de emulsificar. Las cepas virulentas tienden a orientarse en cordones serpentinos, se observan mejor en frotis de agua de condensación o bien por observación directa de medios que favorezcan esta agrupación. Se produce catalasa en cantidades moderadas pero no después de calentar a 68 ° C por 20 minutos en un buffer de pH=7; las cepas





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	137 / 320

humanas resistentes a la isoniazida (INH) son frecuentemente catalasa negativas y dan colonias lisas en medio de huevo coagulado. Reducen los nitratos. La prueba de la niacina es útil ya que la mayoría de las cepas niacina positivas encontradas en el diagnóstico de laboratorio han probado ser *M. tuberculosis*. La susceptibilidad a las drogas antituberculosas es característicamente alta.

***Mycobacterium bovis***, el bacilo tuberculoso bovino requiere un período de incubación más largo (generalmente de 3 a 6 semanas) y aparece como colonias pequeñas (1 mm), translúcidas, lisas y piramidales incubadas a 35 ° C. Se adhieren a la superficie del medio, pero se emulsifican fácilmente. Por tanto, su crecimiento se denomina disgónico. *M. bovis* crece sólo a 35 ° C. Forma cordones serpentinos, la reacción de la niacina y reducción de nitratos son negativas. *M. bovis* es susceptible a tiofen-2-hidrazida del ácido carboxílico, ésta es una prueba útil para diferenciarla de otras micobacterias. La susceptibilidad a las drogas antituberculosas es similar a *M. tuberculosis*.

### Otras Micobacterias.

Se ha reconocido que otros bacilos ácido resistentes diferentes a *M. tuberculosis* ocasionalmente se asocian con enfermedades pulmonares y de otra localización diagnosticadas clínicamente como tuberculosis. Muchas personas sufren infección con estas bacterias, pero no presentan la enfermedad clínica.

En 1959, Runyon propuso un esquema para la separación de micobacterias de importancia médica no clasificadas, dividiéndolas en cuatro grandes grupos. Este esquema sirvió como un sistema de clasificación inicial hasta que se pueda establecer una especiación más precisa para los miembros de cada grupo.

### GRUPO I. Fotocromógenos.

A este grupo pertenecen organismos fotocromógenos, es decir, tienen la capacidad de desarrollar pigmento cuando se exponen a la luz durante una hora y reincubándolo en la oscuridad se produce un color amarillo limón brillante en 6 a 24 horas. Al grupo I de Runyon pertenecen:

***Mycobacterium kansasii***, responsable de enfermedades pulmonares en



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	138 / 320

humanos, en pacientes enfisematosos produce cuadro clínico parecido a la tuberculosis. Su óptimo crecimiento se obtiene después de 2 a 3 semanas de incubación a 35 ° C, produce colonias lisas, con tendencia a desarrollar rugosidad. En la oscuridad son de color crema, expuestos a la luz desarrollan un color anaranjado brillante de beta carotenos, sobre todo cuando el crecimiento es profuso. Las cepas de importancia clínica de *M. kansasii* son fuertemente catalasa positivas, no producen niacina, no reducen nitratos, son ácido resistentes, bacilos largos en forma de canutillo.

***Mycobacterium marinum***, se asocia a lesión granulomatosa en piel lastimada contaminada con agua, mejor conocida como granuloma de alberca, se ha implicado también en infecciones por acuarios caseros y exposición industrial con agua. Crece mejor a 25 - 32 ° C, nunca se aísla de esputo, no reduce nitratos, produce poca catalasa.

## GRUPO II. Escotocromógenos.

Los escotocromógenos son pigmentados en la oscuridad, producen generalmente un color anaranjado o amarillo. La pigmentación en oscuridad ocurre en cualquier tipo de medio, en cualquier etapa de crecimiento. Este grupo se divide en dos subgrupos: los patógenos potenciales, *M. scrofulaceum* y *M. szulgai* y los así llamados escotocromógenos de "agua de canilla", aislados en agua de laboratorios, suelo y agua natural como *M. gordonae*. Este último no está asociado con enfermedad humana, por tanto es importante su diferenciación de los patógenos potenciales.

***Mycobacterium scrofulaceum***, produce colonias lisas, convexas, amarillas en la luz y en la oscuridad, son de lento crecimiento. La hidrólisis de tween 80 y actividad de ureasa separa a *M. scrofulaceum* de las micobacterias de agua de canilla, en que los últimos lo hidrolizan en 5 días, mientras *M. scrofulaceum* permanece negativo más de tres semanas. Este microorganismo es causa de adenitis cervical, e infecciones óseas, sobre todo en niños. A menudo es resistente a INH y ácido p-aminosalicílico (PAS).

***Mycobacterium szulgai***, se ha asociado a enfermedad pulmonar, adenitis cervical y bursitis de olecranon. Da positiva la prueba de nitratos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	139 / 320

***Mycobacterium gordonae***, su crecimiento va de 2 a 6 semanas, produce colonias pequeñas, amarillas o naranjas en luz y oscuridad. Hidroliza el tween 80.

### GRUPO III. No fotocromógenos.

Es una variedad heterogénea de micobacterias patógenas y no patógenas que no desarrollan pigmento en la luz. Entre ellas están:

***Mycobacterium avium***, es un complejo que incluye el grupo Battey y *M. intracellulare*, crecen despacio a 35 ° C (10 a 21 días) y a 25 ° C producen colonias color crema, finas, translúcidas, lisas con variantes rugosas, se agrupan en cordones. Son niacina negativos, no reducen nitratos, producen pequeñas cantidades de catalasa, reducen el telurito en 3 días. Producen enfermedades parecidas a la tuberculosis, difíciles de tratar.

***Mycobacterium xenopi***, se aísla de esputo en pacientes con enfermedad pulmonar. Crece óptimamente a 42 ° C, pero no a 22-25 ° C. Después de 4 o 5 semanas produce colonias convexas, amarillas, finas, con una extensión filamentosa que rodea a la colonia. No hidroliza tween 80, ni reduce telurito de potasio, son altamente resistentes a drogas antituberculosas.

***Mycobacterium ulcerans***, se asocia con lesiones de piel en nativos del África común. Requiere 3 semanas de incubación a 32 ° C. También pertenecen a este grupo: *M. terrae*, *M. gastri* y *M. triviale*.

### GRUPO IV. Micobacterias de rápido crecimiento.

Se caracterizan por su habilidad de crecer de 3 a 5 días, incubadas de 25-35 ° C. Dos miembros *M. fortuitum* y *M. chelonae* se asocian a infección pulmonar humana, pero también se encuentran en suelo.

*M. smegmatis*, *M. phlei* y *M. vaccae*, se consideran saprofitos no patógenos,



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	140 / 320

*M. smegmatis* y *M. phlei* producen colonias pigmentadas y muestran extensiones filamentosas en medio corn meal con glicerol. La habilidad de *M. phlei* para producir grandes cantidades de CO<sub>2</sub>, se ha utilizado para estimular el crecimiento de *M. tuberculosis*.

*M. fortuitum*, se implica en enfermedad pulmonar progresiva con severas complicaciones y muerte. No es cromógeno, da positiva la reacción de arilsulfatasa en 3 días, crece en agar MacConkey en 5 días, la prueba de la niacina es negativa, es resistente a PAS, INH y estreptomycin, pero es susceptible a las tetraciclinas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	141 / 320

TABLA No. 11.1. CARACTERÍSTICAS DE ALGUNAS ESPECIES DE  
*Mycobacterium*

	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. marinum</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. phlei</i>
Crecimiento < 7 días	-	-	-/+	-	+
Formación de pigmento en oscuridad	-	-	-	-	+
Formación de pigmento en luz	-	-	+	-	+
Niacina	+	-	-	-	-
Reducción de nitratos	+	-	-	-	+
Catalasa a 68 ° C	-	-	-	+	+
Hidrólisis de Tween (días)	-/+	-	+	-	+
Reducción del telurito en 3 días	-	-	-	+/-	+
Crecimiento en NaCl 5%	-	-	-	-	+
Arisulfatasa en 2 semanas	-	-	4+	-/1+	-/3+
Crecimiento en MacConkey	-	-	-	-	-

Adaptada de Cantú y col., 1990.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	142 / 320

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Cepa. *Mycobacterium phlei*

- 2 tubos con medio Lowenstein Jensen
- 1 tubo con medio Lowenstein Jensen más NaCl al 5%
- 1 placa con medio Middlebrook 7H9
- 1 tubo con Agar soya tripticaseína con glicerol

Juego de reactivos para tinción de Ziehl-Neelsen

Reactivos para: catalasa y reducción de telurito de potasio.

## Procedimiento

1. Realizar frotis de la cepa y teñir con la técnica de Ziehl Neelsen (Anexo-tinciones).  
Observar morfología microscópica.
2. Sembrar por estría simple los tubos con medio Lowenstein Jensen (envolver uno de ellos con papel aluminio); para realizar la prueba de fotocromogenicidad (Anexo-pruebas especiales).
3. Sembrar por estría simple el tubo con medio L-J más NaCl 5%, para observar la prueba de tolerancia al NaCl (Anexo-pruebas especiales) y en el tubo con agar soya trpticaseína con glicerol. Incubar a 37 ° C de 1 a 4 semanas, observar cada semana inhibición o presencia de crecimiento.
4. Inocular la cepa en la placa con medio de Middlebrook 7H9, incubar a 37 ° C y una vez que se observe crecimiento realizar la prueba de reducción de telurito de potasio (Anexo-pruebas especiales).
5. Realizar la prueba de la catalasa (Anexo-pruebas especiales), a partir del cultivo de la cepa proporcionada.
6. Discusión y conclusiones de los resultados de acuerdo a la tabla 12.1.

**PRECAUCIÓN:** Para evitar salpicaduras, antes de flamear el asa, ésta debe introducirse a un tubo que contenga fenol con arena.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	143 / 320

## Equipo

Microscopio Óptico

## Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

## Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	144 / 320

## PRÁCTICA No. 12

### AGENTES CAUSALES DE NEUMONÍA

#### Objetivo.

Realizar el diagnóstico microbiológico de las principales especies bacterianas que causan neumonía.

#### Fundamento teórico

##### I. *Streptococcus pneumoniae*

Aproximadamente 2 millones de casos de neumonía bacteriana ocurren cada año y el principal agente etiológico es *S. pneumoniae*. El neumococo es habitante normal del tracto respiratorio superior del hombre; de aquí puede invadir los pulmones y el sistema circulatorio. La bacteriemia ocurre en un cuarto de los pacientes con neumonía; el organismo también puede extenderse a la cavidad pleural y diseminarse a endocardio, pericardio, meninges, articulaciones, etc. complicando el cuadro clínico. El neumococo también se implica en infecciones de oído medio, ojo, ocasionalmente se aísla de fluido peritoneal, orina, secreciones vaginales y exudados de heridas. El rango de portadores de tracto respiratorio en adultos varía de 30 a 70% dependiendo de la estación del año.

Anteriormente denominado *Diplococcus pneumoniae*, es un organismo Gram (+), es un coco lanceolado, característicamente se le encuentra como diplococo, pero también suelen encontrarse cadenas cortas o cocos aislados, las cepas virulentas poseen cápsula, aerobios o anaerobios facultativos. En placas de agar sangre es alfa hemolítico y se parece a otros estreptococos alfa hemolíticos del grupo viridans. Se autoliza rápidamente. Existen más de 80 tipos diferentes de acuerdo al antígeno capsular.

El neumococo requiere medios enriquecidos para primo-aislamiento; se recomienda agar soya tripticaseína (AST) o agar infusión cerebro corazón (BHI) con 5% de sangre de carnero o caballo, por lo menos para primo-aislamiento debe incubarse en atmósfera parcial de CO<sub>2</sub> (5 a 10%, lo cual se obtiene introduciendo





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	145 / 320

una vela encendida y cerrando herméticamente el frasco o utilizando un sistema comercial como el Gas-pak® de la Compañía Becton Dickinson). Ver Anexo-pruebas especiales.

Las colonias de neumococos en agar sangre son redondas brillantes de borde entero, transparentes, mucoides, son planas a veces con el borde más elevado que el centro, en cambio, los estreptococos alfa hemolíticos del grupo viridans producen colonias pequeñas, elevadas y opacas.

#### A. Diferenciación de *S. pneumoniae* de otros estreptococos Alfa hemolíticos.

La identificación de neumococo de otros estreptococos se basa en las siguientes pruebas: 1. Solubilidad en bilis, 2. Fermentación de la inulina, 3. Susceptibilidad a la optoquina, 4. Virulencia y 5. Reacción de Neufeld (quellung).

##### 1. Solubilidad en bilis.

Los agentes tensoactivos como la bilis, sales biliares (desoxicolato o taurocolato de sodio) o dodecil sulfato actúan contra la pared celular del neumococo y ocasionan la lisis de la célula. Debe notarse que algunas cepas de neumococos son insolubles en bilis (Anexo-pruebas especiales).

##### 2. Prueba de fermentación de la inulina.

La mayoría de las cepas de neumococo fermentan este carbohidrato. Sin embargo, algunas cepas de *S. sanguis* y *S. salivarius* también lo hacen.

##### 3. Prueba de la inhibición del crecimiento frente a optoquina:

La prueba se lleva a cabo colocando un papel filtro de 6 mm. de diámetro impregnado con 5 microgramos de clorhidrato de etilhidrocupreína (optoquina) en placas de agar sangre sembradas masivamente con el microorganismo. Después de incubación aeróbica a 35 °C se observa una zona de inhibición del crecimiento de aproximadamente 18 mm (Anexo-pruebas especiales).

##### 4. Prueba de virulencia al ratón.

El ratón blanco es particularmente susceptible a la inoculación intraperitoneal del neumococo, después de 4 a 6 hrs. de la inoculación de 1 ml. de expectoración o cultivo del neumococo, puede recuperarse al



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	146 / 320

microorganismo en cultivo puro.

5. Reacción de Quellung.

Esta prueba es muy adecuada para la identificación de neumococo. Se basa en una reacción de hinchazón de la cápsula, haciendo reaccionar antisuero capsular específico con el neumococo, con lo que hay un cambio en la refracción de la cápsula, haciéndose más aparente (Anexo-pruebas especiales).

TABLA No.13.1. CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES PRESENTES ENTRE  
*Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus sp.* (alfa hemolítico)

	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus sp.</i>
Morfología	Diplococo lanceolado	Pequeñas cadenas de cocos
Cápsula	+	-
Hemólisis	+ alfa	+ alfa
Crecimiento en caldo	turbio uniforme	crecimiento granuloso
Solubilidad en bilis	+	-
Fermentación de inulina	+	-
Sensibilidad a Optoquina	+	-
Virulencia para el Ratón	+	-

Tomada de García y Zamudio, 1998.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	147 / 320

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Cepas: *Streptococcus pneumoniae*  
*Streptococcus sp.* (alfa hemolítico)

- 2 placas de agar sangre
- 2 tubos con caldo Todd-Hewitt
- 2 tubos con caldo inulina más rojo de fenol

Juego de reactivos para tinción de Gram

Juego de reactivos para tinción de cápsula

Reactivos para: pruebas de solubilidad en bilis y sensibilidad a optoquina.

## Procedimiento

1. Realizar frotis de cada cepa y teñir con las técnicas de Gram, de tinta china y rojo congo (Anexo-tinciones). Observar la morfología microscópica.
2. Dividir una placa de agar sangre en dos, en una mitad sembrar la cepa de *Streptococcus pneumoniae* y en la otra *Streptococcus sp.* alfa hemolítico. Observar la hemólisis después de la incubación a 35 ° C durante 24 a 48 horas.
3. Dividir una placa de agar sangre a la mitad, en cada mitad sembrar masivamente las cepas anteriores. Colocar a la mitad de cada sección un disco de optoquina. Observar sensibilidad.
4. Sembrar con una asada los tubos de caldo inulina. Incubar a 37 ° C durante 24 horas. Observar la fermentación, si ésta se presenta para cada una de las cepas.
5. Realizar la prueba de solubilidad en bilis (Anexo-pruebas especiales).
6. Discusión y conclusiones de los resultados de acuerdo a la tabla 13.1



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	148 / 320

## Equipo

Microscopio Óptico

## Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

## Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	149 / 320

## II *Klebsiella pneumoniae*

Los miembros del género *Klebsiella* son Gram (-), de forma cocobacilar, encapsulados, inmóviles. La especie tipo es *K. pneumoniae*. Las klebsiellas pueden producir enteritis severa en infantes, neumonía y septicemia, meningitis, infecciones de heridas, peritonitis y un número creciente de infecciones intrahospitalarias del tracto urinario en adultos. En agar sangre, agar EMB, agar MacConkey, agar soya tripticaseína y otros, dan colonias grandes y mucoides con tendencia a coalescer. Se han identificado 72 tipos capsulares y se sabe que ocurren reacciones cruzadas.

***Klebsiella pneumoniae***, no produce hemólisis sobre agar sangre, desarrolla mejor en aerobiosis. Fermenta glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa y manitol con producción de ácido sin gas. No produce indol ni ácido sulfhídrico. Da positiva la reacción de Voges Proskauer.

TABLA No.13.2. DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO *Klebsiella*

	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. ozaenae</i>	<i>K. rhinoscleromatis</i>
Ureasa	+	V <sup>-</sup>	-
Rojo de Metilo	V <sup>-</sup>	+	+
Voges-Proskauer	+	-	-
Citrato de Simmons	+	d	-
Lisina descarboxilasa	+	V <sup>-</sup>	-
Malonato	+	-	V <sup>+</sup>
Gas de glucosa	+	d	-
Lactosa	+	+ <sup>'</sup>	-
Dulcitol	V <sup>-</sup>	-	-

Símbolos:

V<sup>-</sup> = Variable en su mayoría negativo.

V<sup>+</sup> = Variable en su mayoría positivo.

+<sup>'</sup> = Puede ser retardado.

d = Puede ser positivo o negativo.

Adaptada de Cantú y col., 1990.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	150 / 320

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Cepa: *Klebsiella pneumoniae*

- 1 placa de agar sangre
- 1 placa de agar EMB
- 1 tubo con caldo lactosa y rojo de fenol
- 1 tubo con caldo glucosa y rojo de fenol con campana
- 1 tubo con citrato de Simmons
- 1 tubo con urea de Christensen
- 1 tubo con LIA
- 1 tubo con caldo RM-VP
- 1 tubo con caldo malonato

Juego de reactivos para tinción de Gram

Juego de reactivos para tinción de cápsula

## Procedimiento

1. Realizar frotis de la cepa y teñir con las técnicas de Gram y rojo congo. Observar morfología microscópica.
2. Sembrar por estría cruzada la cepa en los medios agar sangre y agar EMB. Incubar 24 hrs. a 37 °C. Observar características morfológicas coloniales.
3. Sembrar con una asada de la cepa las siguientes pruebas bioquímicas:  
Caldo lactosa y rojo de fenol, Caldo glucosa y rojo de fenol con campana, Citrato de Simmons, Urea de Christensen, LIA, caldo RM-VP, y Caldo malonato. Incubar a 37 °C durante 24 hrs. Leer resultados. Cotejar con tablas de identificación: 8.1, 8.2.1, 8.2.2 y 13.2
4. Discusión y conclusiones.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	151 / 320

## Equipo

Microscopio Óptico

## Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

## Formato para el reporte de resultados

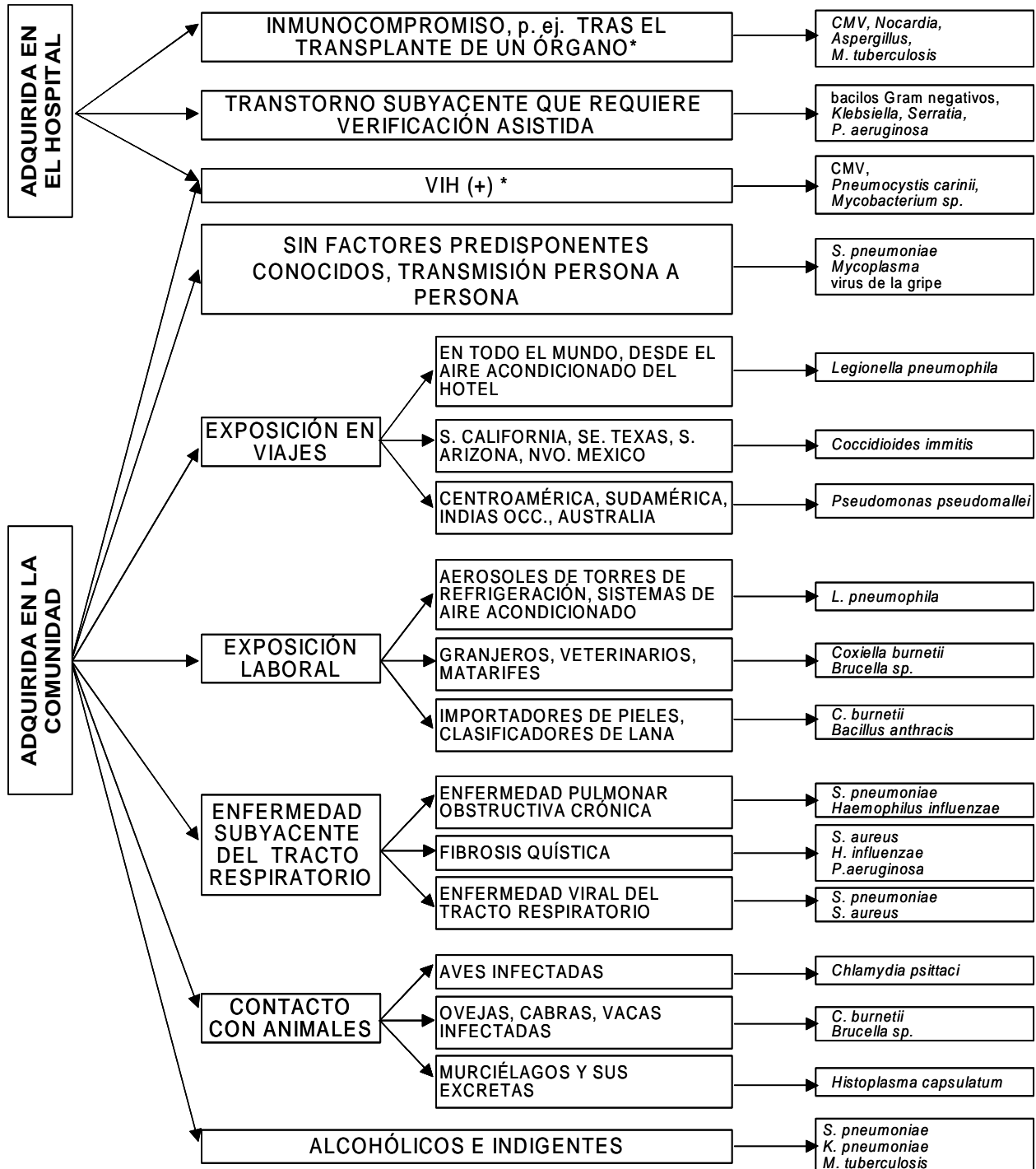
Ver Anexo H

**NOTA:** Se anexa la figura 12.1, en la que se presentan las causas de neumonía en los adultos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	152 / 320

Figura 12.1 CAUSAS DE NEUMONÍA EN LOS ADULTOS







SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>153 / 320</b>

Figura 12.1. Existen muchos patógenos que causan neumonía en los adultos, y la etiología guarda relación con factores de riesgo como exposición a patógenos por ocupación, viajes y contacto con animales. La infección es más probable en los ancianos que además tienden a sufrir una enfermedad más grave que los adultos jóvenes.

\*Estas infecciones son con frecuencia endógenas reactivadas, en vez de adquiridas en la comunidad o en el hospital.

Fuente: Mims, 1995



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	154 / 320

## PRÁCTICA No. 13

### DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES RESPIRATORIAS

#### Objetivo.

Realizar el diagnóstico microbiológico de las principales especies bacterianas que causan infecciones en el aparato respiratorio.

#### Fundamento teórico

Los patógenos más comúnmente encontrados en el tracto respiratorio superior e inferior incluyen los siguientes: estreptococos beta hemolíticos del grupo A, *Corynebacterium diphtheriae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Mycobacterium tuberculosis*, otras micobacterias, hongos, incluyendo especies de *Candida*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, y otros, *Klebsiella pneumoniae*, otros bacilos coliformes, *Pseudomonas aeruginosa*, otras pseudomonas, *Bacteroides melaninogenicus*, *Fusobacterium nucleatum*, cocos anaerobios o microaerofílicos y *Bordetella pertussis*.

#### A. Diagnóstico de infecciones de nasofaringe y faringe.

El estudio del exudado faríngeo y nasofaríngeo es importante para el diagnóstico de ciertas infecciones, tales como faringitis estreptocócica, difteria, algodoncillo (*Candida*); para establecer el foco de infección de la fiebre escarlata, fiebre reumática, glomerulonefritis aguda y también en la detección de estado de portador de estreptococo beta hemolítico del grupo A, meningococo, *Staphylococcus aureus* y bacilo diftérico. Para obtener mejores resultados es importante tomar la muestra antes de la antibioterapia. El exudado nasofaríngeo se recomienda para el aislamiento de meningococo, en portadores de *Bordetella pertussis*, portadores nasales de estafilococos coagulasa positivo y estreptococo.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	155 / 320

## B. Cultivo de esputo.

La neumonía bacteriana, la tuberculosis pulmonar y la bronquitis crónica constituyen el grupo más importante de enfermedades humanas. Ya que el tratamiento específico frecuentemente depende del diagnóstico bacteriológico, el examen rápido y adecuado de una muestra de esputo debidamente colectada, así como el frotis, cultivo y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son imperativos.

Las neumonías más rápidamente mortales son por *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. En pacientes debilitados son importantes las neumonías causadas por bacilos entéricos, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, en enfermedades intrahospitalarias. En infecciones virales, alcoholismo y preñez, también se encuentran estos microorganismos. Muchos organismos de varios tipos (*N. meningitidis*, *Nocardia*, *Yersinia*, *Mycoplasma*, hongos, varias micobacterias y anaerobios y virus), pueden causar neumonía, empiema, absceso pulmonar y otras infecciones pulmonares.

La recuperación del agente etiológico depende no sólo de la metodología de laboratorio, sino del cuidado con el que se toma la muestra, hay que descartar las muestras que sólo son saliva. La colección del esputo requiere de la cooperación del paciente para obtener expectoración real (esputo traqueobronquial) directamente en un recipiente adecuado y estéril, generalmente se necesitan sólo 1 a 3 mL de material mucopurulento, excepto para micobacteria, el material debe examinarse rápidamente, o bien refrigerarse de 1 a 3 horas para la recuperación de la mayoría de los patógenos. Es necesario tener en cuenta que gran parte de los patógenos de las vías respiratorias superiores, así como su recuperación en muestras de esputo no siempre constituyen la etiología de la infección. Sin embargo, en neumonía bacteriana aguda, el patógeno se encuentra en grandes cantidades en muestras satisfactorias.

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

- Tubos con cepas problema
- Placas con agar sangre de carnero 4.5%
- Placas con agar MacConkey
- Placas con agar estafilococo 110
- Placas con agar Mueller Hinton
- Placas con agar Vogel Johnson
- Tubos con citrato de Simmons



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	156 / 320

- Tubos con caldo Todd Hewitt
- Tubos con medio Hugh-Leifson de manitol con sello de nujol
- Tubos con medio Hugh-Leifson de manitol sin sello de nujol
- Tubos con medio LIA
- Tubos con caldo RM-VP
- Tubos con Urea de Christensen
- Tubos caldo inulina y rojo de fenol
- Tubos caldo lactosa y rojo de fenol
- Tubos caldo sacarosa y rojo de fenol
- Tubos caldo trehalosa y rojo de fenol
  
- Paquete con tres hisopos estériles
- Paquete con 2 abatelenguas estériles
- Juego de reactivos para tinción de Gram
- Juego de reactivos para tinción de Ziehl Neelsen
- Reactivos y material necesario para la concentración de esputo
- Discos de bacitracina y optoquina 5  $\mu$
- Discos con antibióticos para pruebas de susceptibilidad

## Procedimiento

1. Realizar frotis de las dos muestras y teñirlos con las técnicas de Gram, Ziehl- Neelsen. Observar al microscopio.
2. Sembrar por estría cruzada las placas de: agar sangre, agar Staph-110, agar Vogel-Johnson y agar MacConkey, ambas muestras: faríngea y nasofaríngea. Incubar a 37 °C durante 24 hrs.
3. Si la microscopía o aspecto de la lesión hacen sospechar de *Corynebacterium diphtheriae*, para su identificación, consultar la práctica No. 11.
4. Después de la incubación leer la morfología colonial y microscópica, de esta manera orientar el diagnóstico e identificar por pruebas bioquímicas, de acuerdo al diagrama 13.1.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	157 / 320

- Una vez aislado el microorganismo etiológico, realizar la prueba de sensibilidad a los antibióticos (antibiograma), en placas de agar Mueller-Hinton, sembrando masivamente con hisopo estéril.

### Equipo

Microscopio Óptico  
Jarra de anaerobiosis

### Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

### Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H

#### C. Diagnóstico de tuberculosis pulmonar.

La tuberculosis es una infección crónica de tipo granulomatoso con necrosis de caseificación. El diagnóstico de la tuberculosis se puede realizar en muestras biológicas, tales como: esputo, lavado bronquial, materia fecal, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, orina, lavado gástrico, y a partir de los tejidos infectados. El manejo del material infectado determina riesgos de contaminación, la que puede producirse por inhalación del material de las muestras y cultivos, al abrir las cajas de petri, pipetear y vaciar el material infeccioso.

Todo tratamiento de las muestras y cultivos debe hacerse en las campanas de inoculación, con ventilación adecuada y después de usarse debe dejarse prendida la lámpara de luz ultravioleta de 1 a 2 horas, los portaobjetos deben usarse una sola vez. El material de vidrio, el instrumental, los guantes, etc. deberán esterilizarse de 15 a 30 minutos a 15 lb. en autoclave, después de ser utilizados.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	158 / 320

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Tubos con cepas problema

Tubos con medio Lowenstein-Jensen (L-J)

Juego de reactivos para tinción de Ziehl Neelsen

Reactivos y material necesarios para la concentración de esputo

## Procedimiento

### Baciloscopia directa en esputo.

1. Hacer un frotis de la porción purulenta de la muestra, usando un asa de alambre grueso o un aplicador de madera.
2. Limpiar el asa o el aplicador en la arena contenida en un frasco con fenol y posteriormente esterizarla a la flama.
3. Dejar secar el frotis al aire durante 15 a 30 minutos.
4. Fijar al calor (60 seg.)
5. Teñir el frotis con la técnica de Ziehl Neelsen.
6. Observar al microscopio en busca de bacilos ácido resistentes.

### Bacterioscopia.

El número de bacilos es muy importante ya que se relaciona con el grado de infectividad del paciente.

La lectura se debe empezar del centro del lado izquierdo del frotis, moviendo hacia la derecha hasta terminar ese largo; si no se encuentran bacilos o se encuentran pocos, contar los otros dos largos.

1. 50 bacilos en menos de un largo. Se deja de observar e informar: más de



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	159 / 320

50 bacilos en un largo.

- Entre 10 a 60 bacilos en un largo; por ejemplo, si se contó 36 bacilos, informar: 36 bacilos en un largo.

Y si se contó 3 largos y encontró 29 bacilos, informar: 29 bacilos en tres largos.

- Si no se encontró bacilos en los 3 largos, informar: 0 (cero) bacilos en los tres largos.

Concentración y cultivo del esputo. (método de Petroff modificado). (Anexo-pruebas especiales)

- Una vez que se ha realizado la concentración del esputo (Anexo-pruebas especiales):
- Decantar cuidadosamente y sembrar 1 a 2 gotas del sedimento con pipeta pasteur a 2 tubos de Lowenstein Jensen.
- Hacer un frotis con el asa y teñir con la técnica de Ziehl Neelsen y hacer bacterioscopía.
- Incubar los tubos a 37 ° C, dejándolos en posición horizontal durante 18 horas.
- Examinar semanalmente los cultivos hasta la décimo segunda semana. Si no hay crecimiento, se informarán como negativos.
- Los cultivos positivos en medio de L-J, se manejan como sigue:
  - Hacer frotis del cultivo y teñirlo por Ziehl Neelsen.
  - Si los microorganismos son ácido resistentes y el cultivo tiene colonias morfológicamente típicas de *Mycobacterium*, se procede a hacer pruebas para su identificación.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	160 / 320

## Equipo

Microscopio Óptico

## Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

## Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H

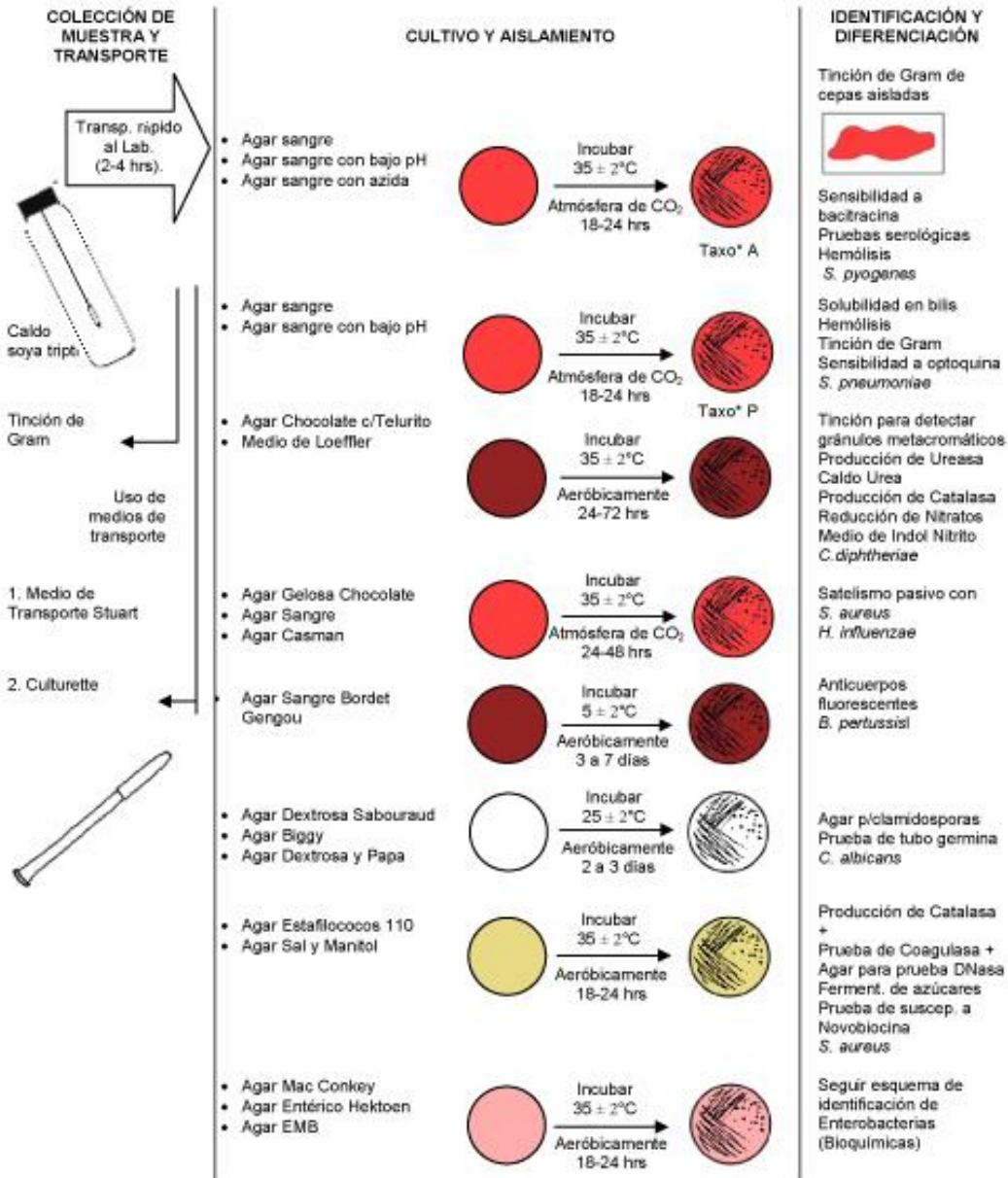




Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	161 / 320

## Diagrama 13.1

### CULTIVO FARINGEO O NASOFARINGEO





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	162 / 320

## PRÁCTICA No. 14

### Micosis generalizadas (Infecciones pulmonares)

#### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico de las principales especies micológicas que causan infecciones en el aparato respiratorio.

#### Fundamento teórico

Las micosis generalizadas afectan cualquiera o todos los órganos internos de la economía, así como los sistemas esquelético, cutáneo y subcutáneo. La puerta de entrada más frecuente para los agentes causales, es el pulmón, en contraste con otras micosis. Ver Diagrama 14.1.

Los organismos que intervienen, suelen manifestar predilección por un órgano o tipo de tejido determinado. Las micosis generalizadas son de dos categorías:

- Gérmenes que empleando dosis suficientemente infectantes, afectarán a individuos sanos.
- Gérmenes oportunistas.

***Aspergillus sp***, produce lesiones granulomatosas inflamatorias en senos nasales, bronquios, pulmones, nasofaringe, etc. Micelio incoloro o de tonos pálidos ó brillantes, septado. Conidióforo globoso con fiálides, de donde se originan los conidios unicelulares, catenulados y de diferentes colorantes.

***Aspergillus fumigatus***, colonias verde-oscuro aterciopeladas. Conidios globosos, rugosos y de 2.5-3 micras de diámetro.

***Aspergillus niger***, micelio blanco-negro. Conidios globosos pardo-negro, de 2.5



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	163 / 320

micras.

***Aspergillus flavus***, colonias amarillas- verdes. Conidios rugosos, globosos o algo piriformes, de 3.5-5 micras.

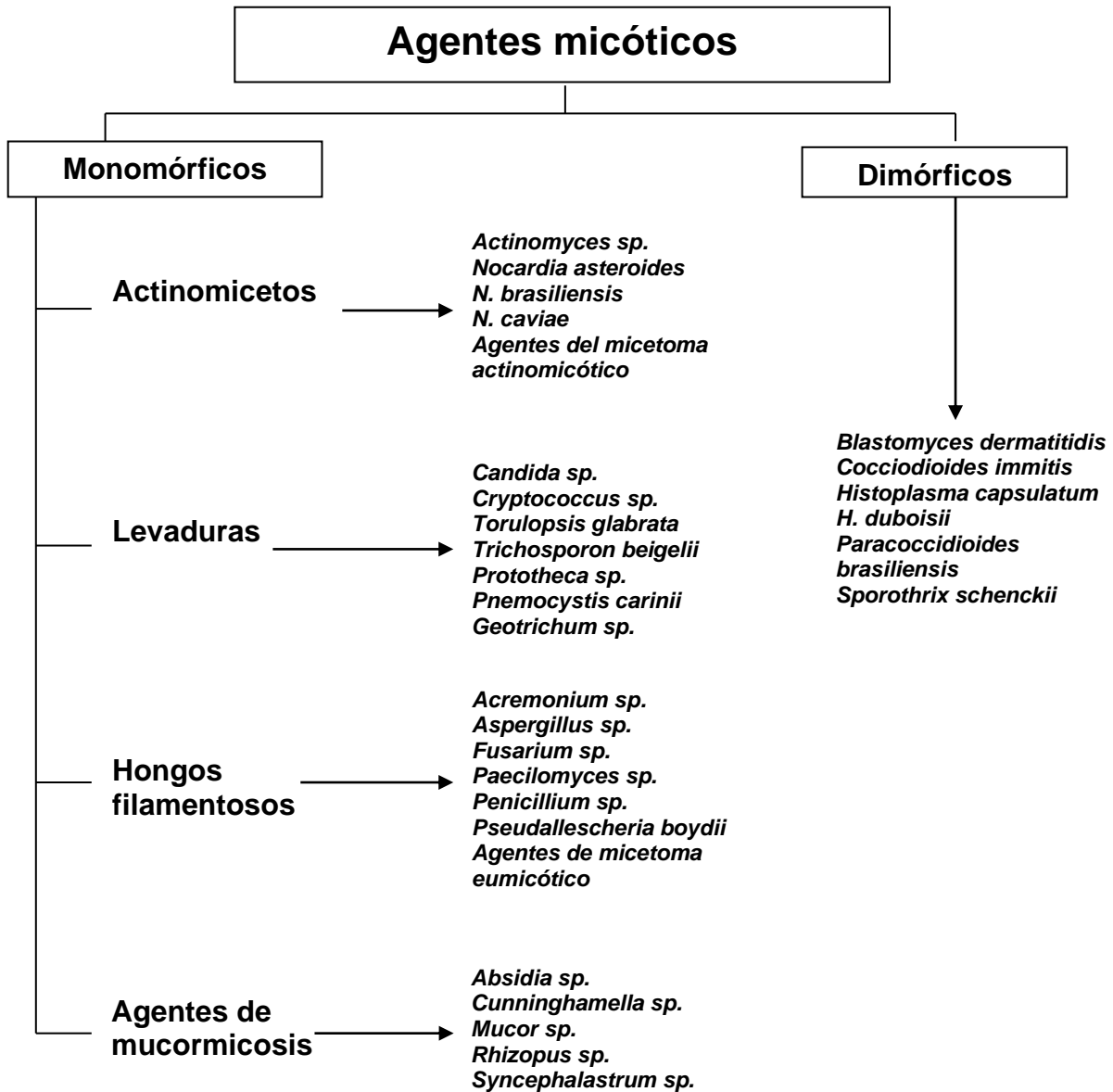
***Cryptococcus neoformans***, causa infecciones en el pulmón. Células en gemación de 5-20 micras, ovales o redondeadas, con una gruesa cápsula polisacárida. Presencia de un pseudomicelio o micelio escaso. Colonias circulares, densas, color crema parduzco y de consistencia mucilaginosa.

***Blastomyces brasiliensis***, infección crónica granulomatosa y supurativa de los pulmones. A temperatura ambiente produce un micelio blanco a pardo, filamentoso y a 37 ° C colonias lisas, cerebriformes consistentes en estructuras levaduriformes (blastosporas) que reproducen por gemación múltiple. Blastosporas esféricas, de pared gruesa y de 10 a 30 micras.

***Geotrichum sp***, infección bronquial y pulmonar. Micelio blanco, septado y que se fragmenta produciendo artrosporas de forma casi cilíndrica de 4-8-10 micras.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	164 / 320



Fuente: Power y McCuen, 1988.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	165 / 320

TABLA 14.1. MICOSIS CAUSADAS POR HONGOS OPORTUNISTAS

ENFERMEDAD	HONGOS	FACTORES PREDISPONENTES	COMPROMISO	TRATAMIENTO
Criptococosis	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Inmunosupresión, ninguno	Pulmones, más prominente en el SNC, riñones, huesos	Antitélica B +5fc, Iucanazol
Candidiasis	<i>Candida albicans</i> y otras especies	Inmunosupresión, antibióticos de amplio espectro, cuerpos extraños	Áreas mucosas, tracto Genital Utricain, sangre, riñones, otros órganos	Antitélica B +5fc, Iucanazol
Aspergilosis	<i>Aspergillus fumigatus</i> y otras especies	Inmunosupresión	Pulmones, otros órganos	Antitélica B
Zigomicosis	Diversos géneros y especies de <i>Phycomyces</i>	Diabetes, quemaduras, inmunosupresión.	Vasos sanguíneos, ojos, SNC, nariz, senos paranasales, pulmones	Antitélica B
Otras	Muchos otros géneros y especies (cada uno poco frecuente)	Inmunosupresión, traucanosis o desconocidos	Pulmones, SNC, tejidos blandos, articulaciones, ojos, infecciones diseminadas	Antitélica B, miconazol

Fuente: Schaecher, et al 1994



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	166 / 320

## HONGOS OPORTUNISTAS

**FRUCTIFICACION DE ASPERGILLUS**

Cabeza Aspergilar }  
 Conidios  
 .....Esterigmas  
 .....Vesícula  
 .....Conidióforo  
 .....Pie

**ASPERGILLUS fumigatus**

**Cultivo**  
 Plano, aterciopelado  
 mechas algodonosas blancas  
 color verde, después grisáceo  
 reverso incoloro a amarillo y enseguida rojo

2.5µ

Peritecio 0  
 Ascospora 0  
 Filamentos septados incoloros  
 tº 35-50° C  
 300µ

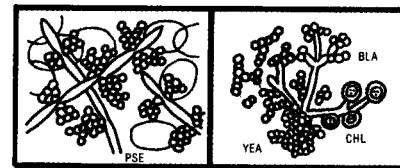
**ASPERGILLUS nidulans**

**Cultivo**  
 Plano, aterciopelado  
 color verde berro oscuro  
 reverso rojo púrpura volviéndose muy oscuro

3.5µ

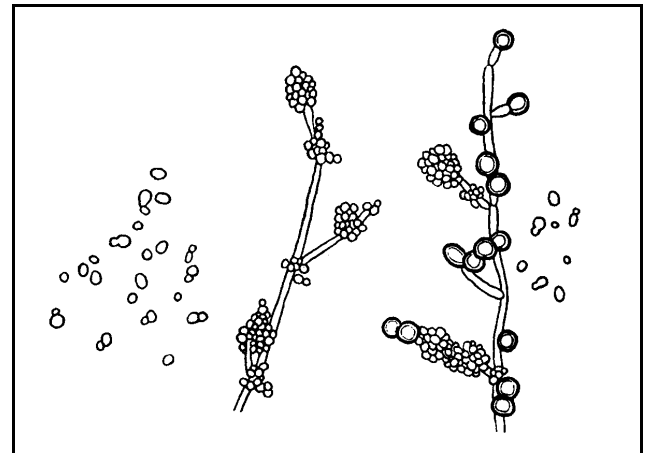
Peritecio: ±  
 Ascosporas: ±  
 Células en avellana  
 Filamentos septados incoloros  
 temp. 37° C  
 Castaño-sinuoso

Esporulación de *Aspergillus* patógenos



*Candida albicans*

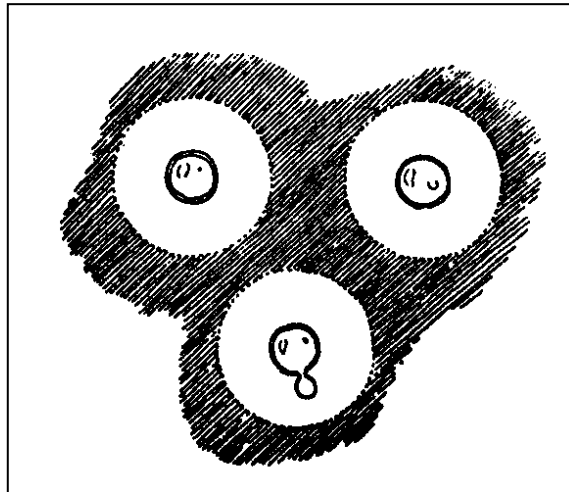
Tomado de: Power y McCuen, 1988.



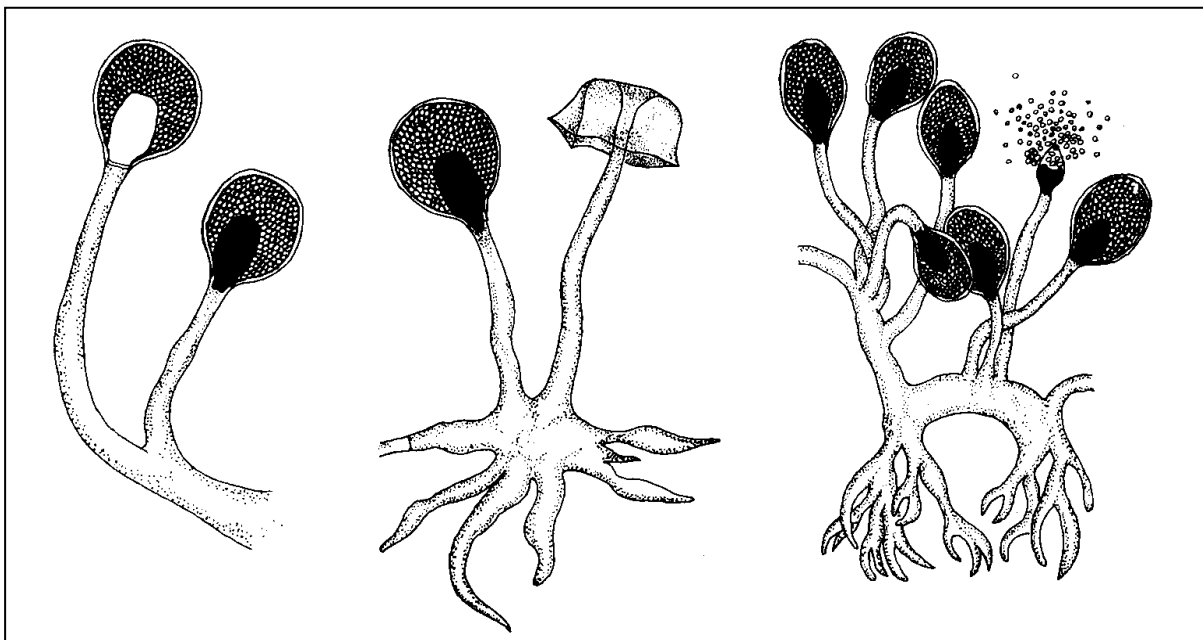
Morfología de *C. albicans*: Levaduras, filamentos con grupos de blastosporas y clamidosporas



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	167 / 320



Células, gemación y cápsulas de *Cryptococcus neoformans*  
en una preparación con tinta china  
Imágenes tomadas de Segretain, 1966.



Agentes de mucormicosis. *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*



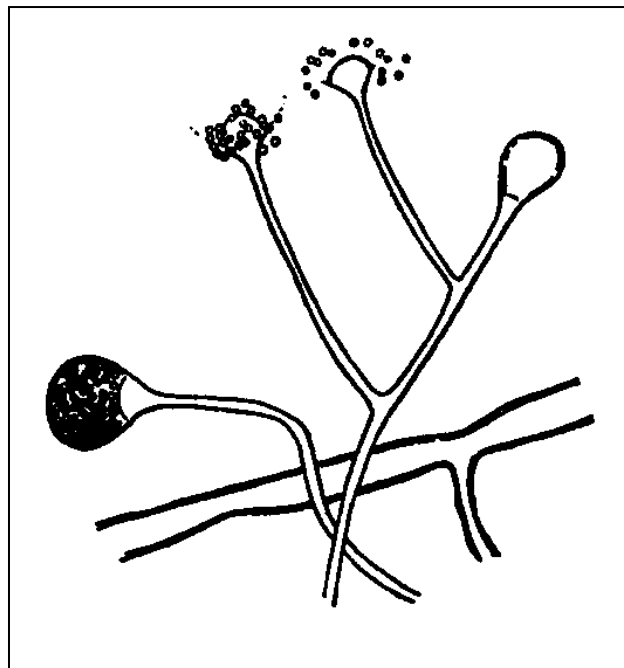
SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>168 / 320</b>

Tomado de Zapater, 1981.







SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>169 / 320</b>

Esporulación de *Absidia* parásita: Esporangio joven (der.)  
Esporangio maduro y esporas internas (izq.)  
Después de lisis de la pared del esporangio (centro)  
Tomado de Segretain, 1966.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	170 / 320

TABLA 14.2. MICOSIS SISTÉMICAS CAUSADAS POR PATÓGENOS PRIMARIOS

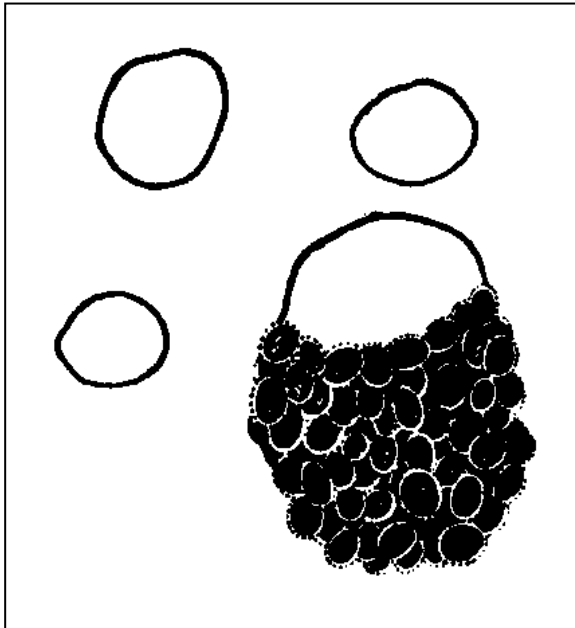
ENFERMEDAD	AGENTE ETIOLÓGICO	HISTOPATOLOGÍA	TRATAMIENTO
Histioplasmosis	<i>Histoplasma capsulatum</i>	Las levaduras se hallan en los histiocitos; se observan granulomas epiteloides	Ketoconazol Anfitericina B (en los fracasos)
Blastomycosis	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Las grandes levaduras con brotes de bases anchas son características y se ven en los microabscesos y los granulomas.	Ketoconazol Anfitericina B
Coccidioidomycosis	<i>Coccidioides immitis</i>	Hay reacciones celulares piógenas, granulomatosas y módas; se ven estériles y endosporas	Ketoconazol Anfitericina B Fluconazol
Paracoccidioidomycosis	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Muy similar a la observada en la blastomycosis	Ketoconazol Anfitericina B (en los fracasos)

Fuente: Schaechter, et al. 1994

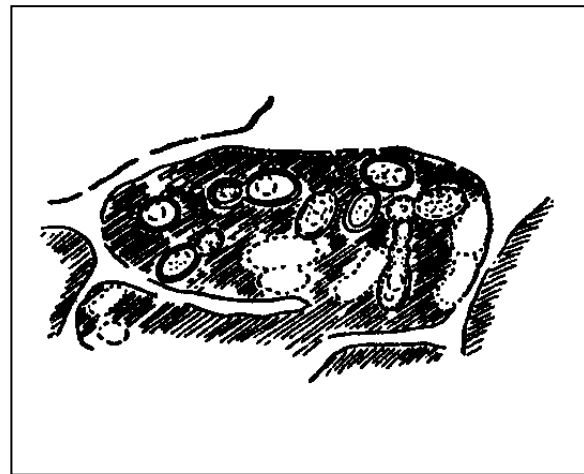


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	171 / 320

## HONGOS PATÓGENOS



a) Grandes formas de *Histoplasma duboisii* (forma africana) en una célula gigante



b) Pequeñas formas de *Histoplasma capsulatum* (forma americana) intracelulares

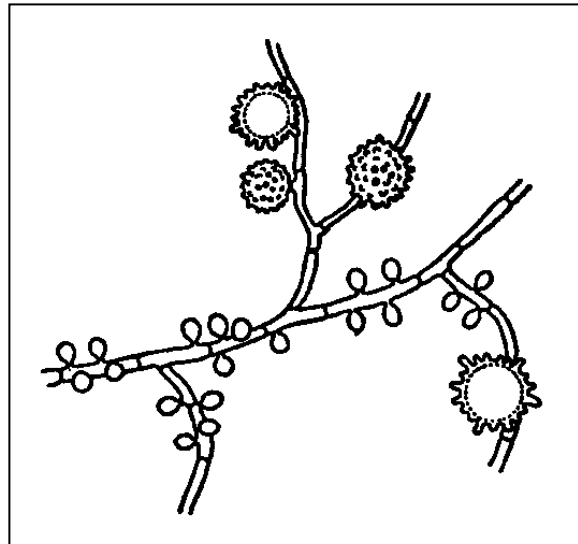


SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA



MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	172 / 320

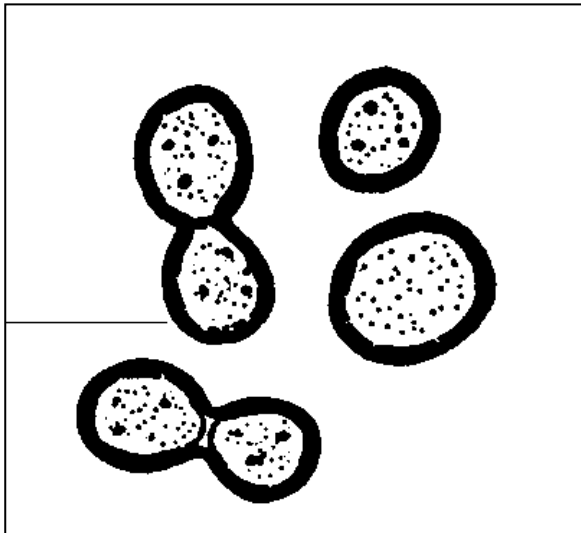


Filamentos, microsporas y clamidosporas equinuladas de un cultivo de *Histoplasma capsulatum*

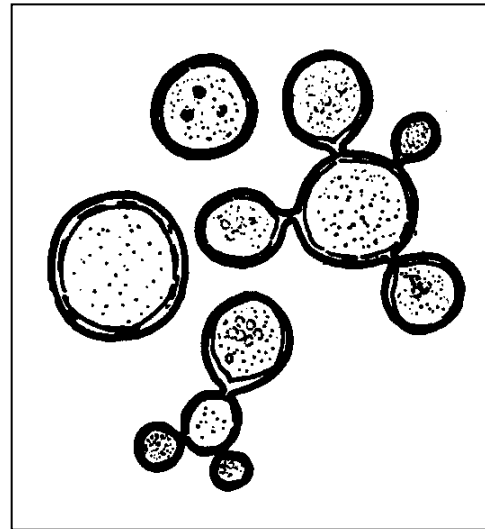
Imágenes tomadas de Segretain, 1966.



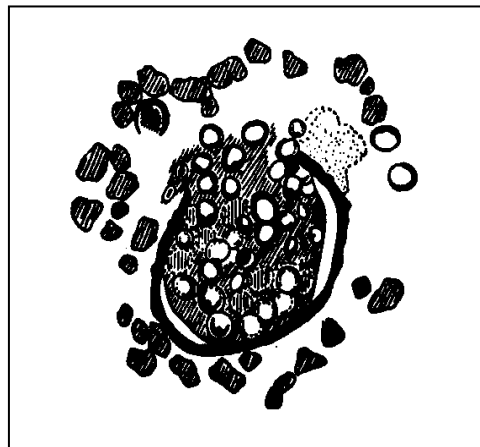
Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	173 / 320



*Blastomyces dermatitidis*



*Paracoccidioides brasiliensis*

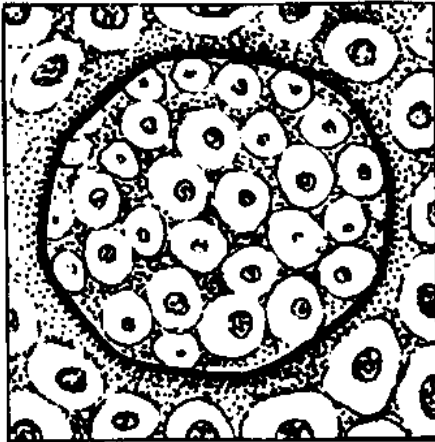


Esférula de *Coccidioides immitis*  
rompiéndose y liberando sus endosporas  
en los tejidos vecinos

Imágenes tomadas de Segretain, 1966.

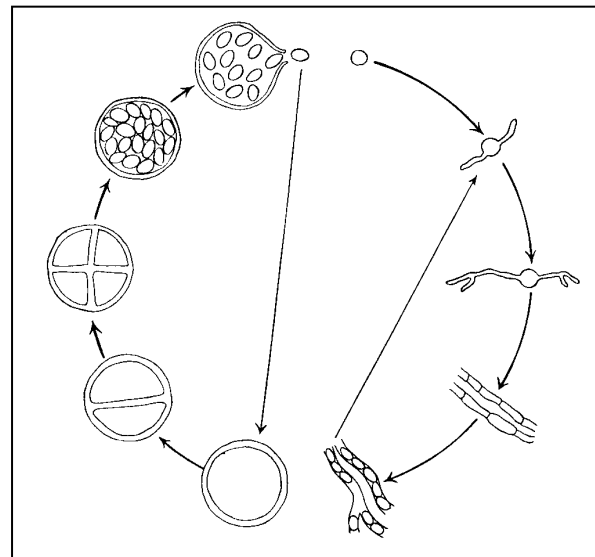


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	174 / 320



*C. immitis*. Células de forma esférica, no brotante de paredes gruesas, tamaño de 20 a 80 micras de diámetro, con endosporos de 2 a 5 micras.

*C. immitis*  
Ciclo parasitario (izq.)  
Ciclo en la naturaleza (der.)



Imágenes tomadas de Zapater, 1981.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	176 / 320

## Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Cepas: *Aspergillus flavus*  
*Aspergillus niger*  
*Aspergillus fumigatus*  
*Geotrichum sp*

Placas de agar dextrosa Sabouraud o agar papa dextrosa

Tubos con agar dextrosa Sabouraud o agar papa dextrosa

Cajas Petri estériles, dispuestas para microcultivo (soporte de vidrio, portaobjetos y cubreobjetos)

Glicerol 10%, estéril

Formol 10%

Azul de algodón lactofenol

## Procedimiento

1. Describir la morfología colonial de las cepas proporcionadas.
2. Inocular las cepas en los tubos con agar inclinado. Incubar a 25 °C. Revisar periódicamente.
3. Realizar el microcultivo de cada una de las cepas. Incubar a 25 °C y revisar periódicamente que el desarrollo de micelio haga contacto con la superficie del cubreobjetos y del portaobjetos, en tal caso inactivar el crecimiento del hongo (por lo menos durante 1 h.) retirando el glicerol y adicionando formol. En caso de que la incubación se prolongue (> 7 días) cuidar que el glicerol y el medio de cultivo sean suficientes.
4. Realizar preparaciones semipermanentes con cada uno de los cubreobjetos y portaobjetos obtenidos de los microcultivos, teñidas con azul de algodón lactofenol.
5. Observar microscópicamente las preparaciones buscando las estructuras que permiten identificar género.





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	177 / 320

6. Elabore su reporte en el formato correspondiente a micología, completando bibliográficamente la información que se le solicita; adjunto al reporte entregue las preparaciones en las que halla observado estructuras que permitan identificar al género, debidamente etiquetadas.

### **Equipo**

Microscopio Óptico  
Jarra de anaerobiosis

### **Servicios**

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

### **Formato para el reporte de resultados**

Ver Anexo H

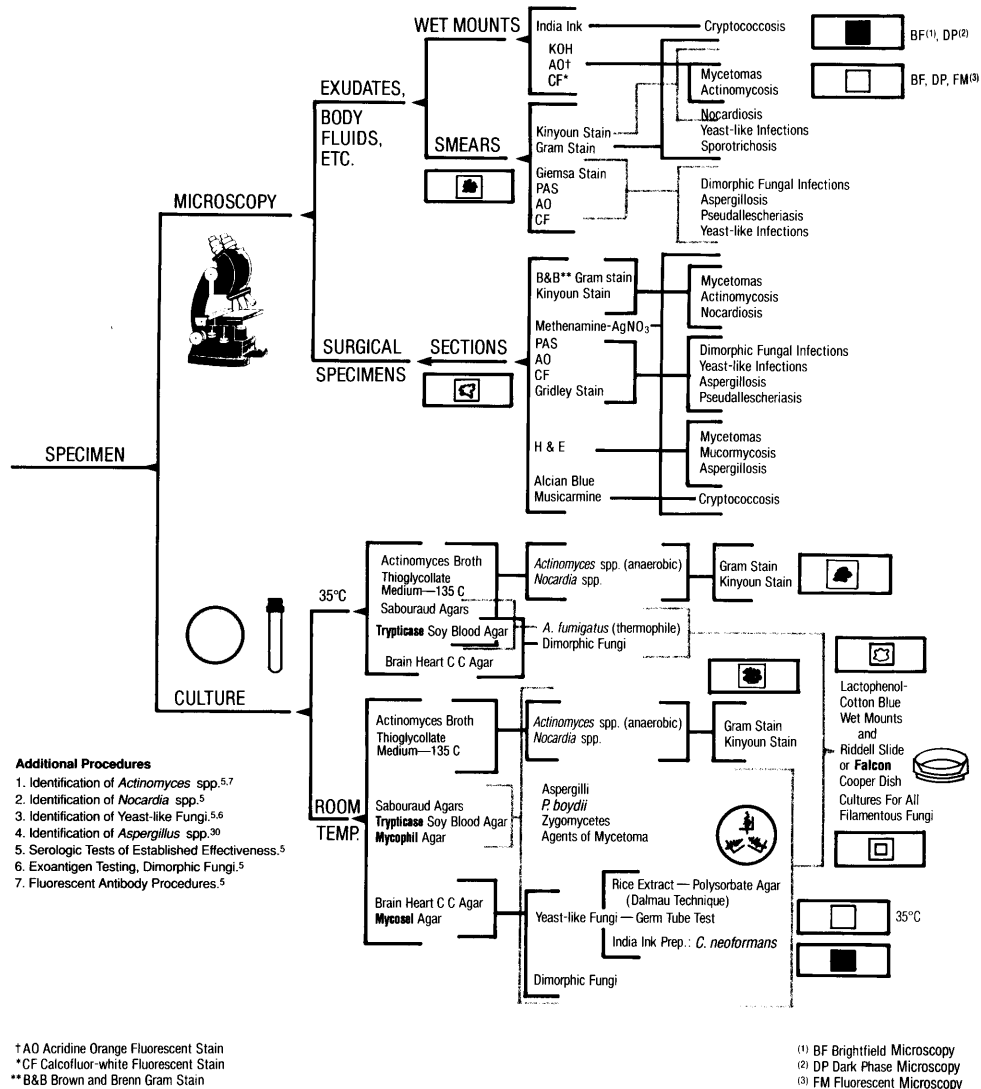


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	178 / 320

Diagrama 14.2

**Systemic and Deep Seated Mycoses**

**Isolation and Identification**



Fuente: Power y McCuen, 1988



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>179 / 320</b>

# APARATO CARDIOVASCULAR



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	180 / 320

## Aparato cardiovascular

La fiebre es una anomalía muy común en los pacientes que acuden al médico. La fiebre se define como un aumento anormal de la temperatura corporal: una temperatura oral superior a 37.6°C o una temperatura rectal por encima de 38°C, y puede ser continua o intermitente. En la fiebre continua la temperatura está elevada durante las 24 hs del día y oscila menos de 1°C; eso es característico de, por ejemplo, la fiebre tifoidea y el tifo. En la fiebre intermitente la temperatura es superior a la normal durante las 24 hs, pero oscila más de 1°C a lo largo de día. La fiebre intermitente es típica de las infecciones piogénicas, los abscesos y la tuberculosis. De modo habitual, la causa resulta obvia o se aclara en pocos días, o la temperatura se normaliza espontáneamente. Si la fiebre continúa durante 2-3 semanas o más y el diagnóstico permanece incierto a pesar de las investigaciones rutinarias efectuadas en régimen ambulatorio o en el hospital, se establece el diagnóstico provisional de "fiebre de origen desconocido" o FOD. Ésa es la definición clásica de FOD, pero dado que la medicina moderna consigue mantener vivo a un número cada vez mayor de pacientes con enfermedades subyacentes serias, es necesario definir también la fiebre de origen desconocido en pacientes de grupos de riesgo particulares (tabla 1).

Durante siglos, la fiebre se ha reconocido como un signo característico de infección, y la infección constituye la causa más común de FOD; representa el 30-45% de los casos de FOD en adultos y hasta el 50% en niños. Sin embargo, existen causas no infecciosas importantes de fiebre, sobre todo las neoplasias malignas y las enfermedades colágeno-vasculares (tabla 2).



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>181 / 320</b>

Tabla 1. Definiciones de FOD.

Definición	Síntomas	Diagnóstico
FOD clásica	fiebre (>38.3°C) en varias ocasiones con más de tres semanas de duración	incierto a pesar de investigaciones apropiadas después de por lo menos tres visitas ambulatorias o tres días en el hospital
FOD nosocomial	fiebre (> 38.3°C) en varias ocasiones en un paciente hospitalizado que recibe cuidado agudo; infección no presente o en período de incubación al ingreso	incierto después de tres días a pesar de investigaciones apropiadas, incluyendo por lo menos dos días de incubación de los cultivos microbiológicos
FOD neutropénica	fiebre (> 38.3°C) en varias ocasiones; recuento de neutrófilos <500 mm <sup>3</sup> en sangre periférica o caída esperada por debajo de esa cifra en 1-2 días	incierto después de tres días a pesar de investigaciones apropiadas incluyendo por los menos dos días de incubación de los cultivos microbiológicos
FOD asociada con VIH	fiebre (>38.3°C) en varias ocasiones; fiebre durante más de tres semanas en los pacientes ambulatorios o durante más de tres días en el hospital; positividad confirmada de la serología para VIH	incierto después de tres días a pesar de investigaciones apropiadas incluyendo por los menos dos días de incubación de los cultivos microbiológicos

Fuente: Mims, 1995.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	182 / 320

Tabla 2. Causas infecciosas de FOD.

Infección	Causa usual
<b>BACTERIANAS</b> Tuberculosis Fiebres entéricas Osteomielitis  Endocarditis Brucelosis Abscesos (especialmente intraabdominales) Infecciones del sistema biliar Infecciones del tracto urinario Enfermedad de Lyme Fiebre recurrente Leptospirosis Fiebre por mordedura de rata Tifo Fiebres maculosas  Psitacosis Fiebre Q	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (también <i>Haemophilus influenzae</i> en niños pequeños; <i>Salmonella</i> en pacientes con enfermedad drepanocítica) Estreptococos orales, <i>S. aureus</i> , estafilococos coagulasa-negativos <i>Brucella abortus</i> , <i>B. melitensis</i> y <i>B. suis</i> Mezcla de anaerobios estrictos y facultativos de la flora intestinal  Anaerobios facultativos Gram negativos, p. ej. <i>E.coli</i> Anaerobios facultativos Gram negativos, p. ej. <i>E.coli</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>B. recurrentis</i> <i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i> <i>Spirillum minor</i> , <i>Streptobacillus moniliformis</i> <i>Rickettsia prowazekii</i> <i>R. rickettsiae</i> <i>R. conori</i> <i>Chlamydia psitaci</i> <i>Coxiella burnetii</i>
<b>PARASITARIAS</b> Paludismo Tripanosomiasis Absceso amebiano Toxoplasmosis	Especies de <i>Plasmodium</i> Especies de <i>Trypanosoma</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Toxoplasma gondii</i>
<b>MICÓTICAS</b> Criptococosis Histoplasmosis	<i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Histoplasma capsulatum</i>
<b>VIRALES</b> Mononucleosis infecciosa Hepatitis Infección por CMV	Virus de Epstein-Barr Virus de la hepatitis Citomegalovirus

Fuente: Mims, 1995.

Un número cada vez mayor de personas sobrevive con enfermedades graves o recibe tratamientos (p. ej. fármacos citotóxicos) que comprometen su capacidad de defensa contra la infección. Esos grupos de pacientes están incluidos en tres clases de FOD: FOD nosocomial, FOD neutropénica y FOD asociada con VIH.

La principal diferencia entre la FOD de esos grupos y la clásica es la evolución



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	183 / 320

cronológica de la enfermedad. La FOD clásica puede persistir durante semanas o meses antes de llegar a un diagnóstico, mientras que el curso cronológico es mucho más corto, de horas a días, para la FOD adquirida en el hospital o la de pacientes neutropénicos. La tabla 3 resume las causas más comunes de FOD en esos grupos. En los casos hospitalarios el tipo de intervenciones operatorias realizadas, presencia de cuerpos extraños, sobre todo dispositivos intravasculares, y terapia farmacológica son circunstancias del paciente que requieren atención particular. La fiebre por fármacos es una causa no infecciosa común de FOD. En los pacientes neutropénicos se tendrán en cuenta la enfermedad subyacente y el estadio de quimioterapia. La fiebre es un signo común en pacientes que han recibido trasplantes, y puede indicar enfermedad injerto contra huésped, en vez de infección. En los pacientes VIH-positivos se prestará atención particular a factores de riesgo conocidos, como abuso de drogas intravenosas, viajes y contacto con individuos infectados. Aunque las principales infecciones oportunistas en pacientes con SIDA están bien descritas, son posibles las presentaciones atípicas de infecciones comunes y siguen describiéndose nuevas infecciones.

Tabla 3. Causas infecciosas de FOD en grupos específicos de pacientes.

Categoría de FOD	Infección	Causa habitual
Nosocomial	relacionada con línea vascular relacionada con otros dispositivos relacionada con transfusiones colecistitis y pancreatitis neumonía (relacionada con ventilación asistida) abscesos perioperatorios, p. ej. intraabdominales post-cirugía gástrica	estafilococos estafilococos, <i>Candida</i> virus de hepatitis, citomegalovirus (CMV) bacilos Gram negativos bacilos Gram negativos, incluyendo <i>Pseudomonas</i> bacilos Gram negativos y anaerobios  candidiasis sistémica
Neutropenia	relacionada con línea vascular infección oral neumonía  tejido blando, p.ej. absceso perianal	estafilococos <i>Candida</i> , virus del herpes simple bacilos Gram negativos, <i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i> , CMV mezcla de aerobios y anaerobios
Asociado con VIH	tracto respiratorio  sistema nervioso central tracto gastrointestinal tracto genital o diseminada	CMV, <i>Pneumocystis</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>M. avium-intracellulare</i> <i>Toxoplasma</i> <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> <i>Treponema pallidum</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i>

Fuente: Mims, 1995.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	184 / 320

Gran variedad de microorganismos ingresan en el espacio intravascular y son transportados de forma pasiva a través del aparato circulatorio, ya sea suspendidos en el plasma o dentro de diversos componentes celulares de la sangre. En general el ingreso en el árbol circulatorio es un suceso casual de corta duración. Algunas veces representa una fase breve de una infección centrada en otro órgano o aparato. Sin embargo, en el caso de algunas bacterias y protozoarios el sitio primario de infección está dentro del aparato vascular, es decir, los componentes celulares de la sangre o los elementos estructurales del aparato circulatorio. Por ejemplo, las especies de *Plasmodium* (los agentes causales del paludismo), la *Babesia microti* (el agente causal de la babesiosis) y la *Bartonella bacilliformis* (el agente causal de la fiebre de Oroha) producen enfermedades como consecuencia de la invasión o la adherencia a los eritrocitos. 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 localizan en la luz de una vena.

La flebitis infecciosa ocurre sobre todo por la diseminación directa desde un foco de infección adyacente o cuando se infectan cuerpos extraños que han sido implantados en las venas. La endarteritis infecciosa se produce de una forma análoga y, en raras ocasiones, cuando cierto déficit arterial congénito (coartación de la aorta) o el endotelio arterial enfermo (placas ateroscleróticas) se infectan durante una bacteriemia transitoria. La endocarditis infecciosa, con excepción de los episodios que se producen como consecuencia de la cirugía cardíaca o la instrumentación intracardiaca, es resultado de la siembra de sitios endoteliales por los microorganismos que están presentes de forma transitoria en el árbol circulatorio. La mayor parte de las infecciones endoteliales vasculares son causadas por bacterias y, en raros casos, por hongos.

La endocarditis infecciosa es una enfermedad causada por la infección de la superficie endotelial del corazón. En general la infección se localiza en una de las válvulas cardíacas, pero también puede ocurrir en una de las cuerdas tendinosas o en áreas de la pared auricular o ventricular. La endocarditis infecciosa ha sido clasificada de acuerdo con el ritmo de la enfermedad clínica, la causa microbiológica y el contexto clínico o el sitio de la infección. Esta clasificación basada en la duración de los síntomas previos a la muerte ya no es apropiada porque el tratamiento altera el curso de la infección. Sin embargo, los términos aguda y subaguda continúan usándose para describir el curso de la enfermedad antes de la iniciación del tratamiento. Se dice que los pacientes que presentan un curso tóxico marcadamente febril que dura sólo días a algunas semanas tienen





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA



MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	185 / 320

una endocarditis aguda; en cambio, se considera que los individuos con fiebre más baja y una enfermedad caracterizada por anorexia, debilidad y pérdida de peso y que han estado sintomáticos durante varias semanas tienen una endocarditis subaguda. La tendencia actual apunta a evitar estas clasificaciones en favor de descripciones breves que incluyan la causa microbiológica, el tipo y el sitio de la válvula infectada y el suceso predisponente. Así, las expresiones "endocarditis de válvula nativa por estreptococos alfa-hemolíticos", "endocarditis de la válvula tricúspide por *Staphylococcus aureus* en un adicto a las drogas" o "endocarditis de prótesis aórtica por *S. epidermidis*" proporcionan diagnósticos más precisos e implicaciones específicas en cuanto a tratamiento y pronóstico.

La importancia de una cardiopatía estructural como el sustrato de la endocarditis también se ha modificado. Así, la fiebre reumática aguda se ha convertido en un factor predisponente menos común de endocarditis. Las cardiopatías congénitas, las valvulopatías degenerativas y el prolapso mitral con insuficiencia mitral se han convertido en los factores predisponentes más importantes de la endocarditis. Las prótesis valvulares se han convertido en sitios importantes para el establecimiento de la endocarditis.

La endocarditis es causada por muchos microorganismos diferentes, pero los más prevalentes son los estreptococos, los enterococos y los estafilococos. Algunos microorganismos específicos tienen cierta predilección según el tipo de válvula que es infectada (nativa vs. protésica) y el suceso o sitio causantes de la bacteriemia que provoca la endocarditis (foco dental, abuso de drogas intravenosas, infección nosocomial).

La bacteriemia transitoria es un suceso común. Ocurre cuando se traumatizan las superficies mucosas muy colonizadas e incluso de forma espontánea cuando se enferman las superficies mucosas. A pesar de la frecuencia de la bacteriemia y del amplio espectro de microorganismos que ingresan en el aparato circulatorio, la endocarditis continúa siendo un suceso relativamente raro. Un pequeño grupo de bacterias, casi todas las cuales no se consideran notablemente virulentas, causa la mayor parte de los casos. El endotelio vascular normal es resistente a las infecciones bacterianas. Esto puede deducirse de la relativa rareza de la endocarditis de las válvulas cardíacas normales. El examen microscópico de la válvula traumatizada en los modelos animales experimentales revela que las bacterias inyectadas por vía intravenosa en un principio se adhieren a agregados de plaquetas y fibrina, las denominadas vegetaciones trombóticas no bacterianas. En las necropsias las vegetaciones trombóticas no bacterianas, si bien poco frecuentes, se hallan en el lado auricular de la válvula mitral o en el lado ventricular de la válvula aórtica a lo largo de la línea de cierre valvular. Éste es



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	186 / 320

precisamente el sitio valvular más a menudo involucrado en la endocarditis infecciosa.

El diagnóstico de endocarditis es sugerido por el cuadro clínico y se confirma clínicamente por medio de la documentación de la bacteriemia persistente, es decir, múltiples hemocultivos positivos para los mismos microorganismos en un período de 24 a 48 hs. Asimismo los hemocultivos positivos para los microorganismos que habitualmente causan endocarditis pueden llevar a considerar con sumo cuidado este diagnóstico, incluso en ausencia de otros hallazgos clínicos. Sin antibioticoterapia previa por lo menos el 95% de los pacientes con endocarditis pueden tener hemocultivos positivos y, en casi todos estos individuos, uno de los dos cultivos iniciales puede ser positivo. Según la susceptibilidad de los microorganismos, la administración de antibióticos durante las 2 semanas previas puede reducir de forma marcada la frecuencia de los hemocultivos positivos. Por lo tanto, para evitar los resultados falso-negativos de los hemocultivos, el material para los cultivos debe obtenerse antes de la administración de los antibióticos.

El tratamiento efectivo de la endocarditis requiere la identificación del agente causal y la determinación de su susceptibilidad antimicrobiana. Dado que las defensas del huésped no son muy notables en las vegetaciones, se requieren antibióticos bactericidas o combinaciones de antibióticos para el tratamiento óptimo. Los antibióticos se administran por vía parenteral para lograr las altas concentraciones séricas necesarias para llegar a la profundidad de las vegetaciones relativamente avasculares.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	187 / 320

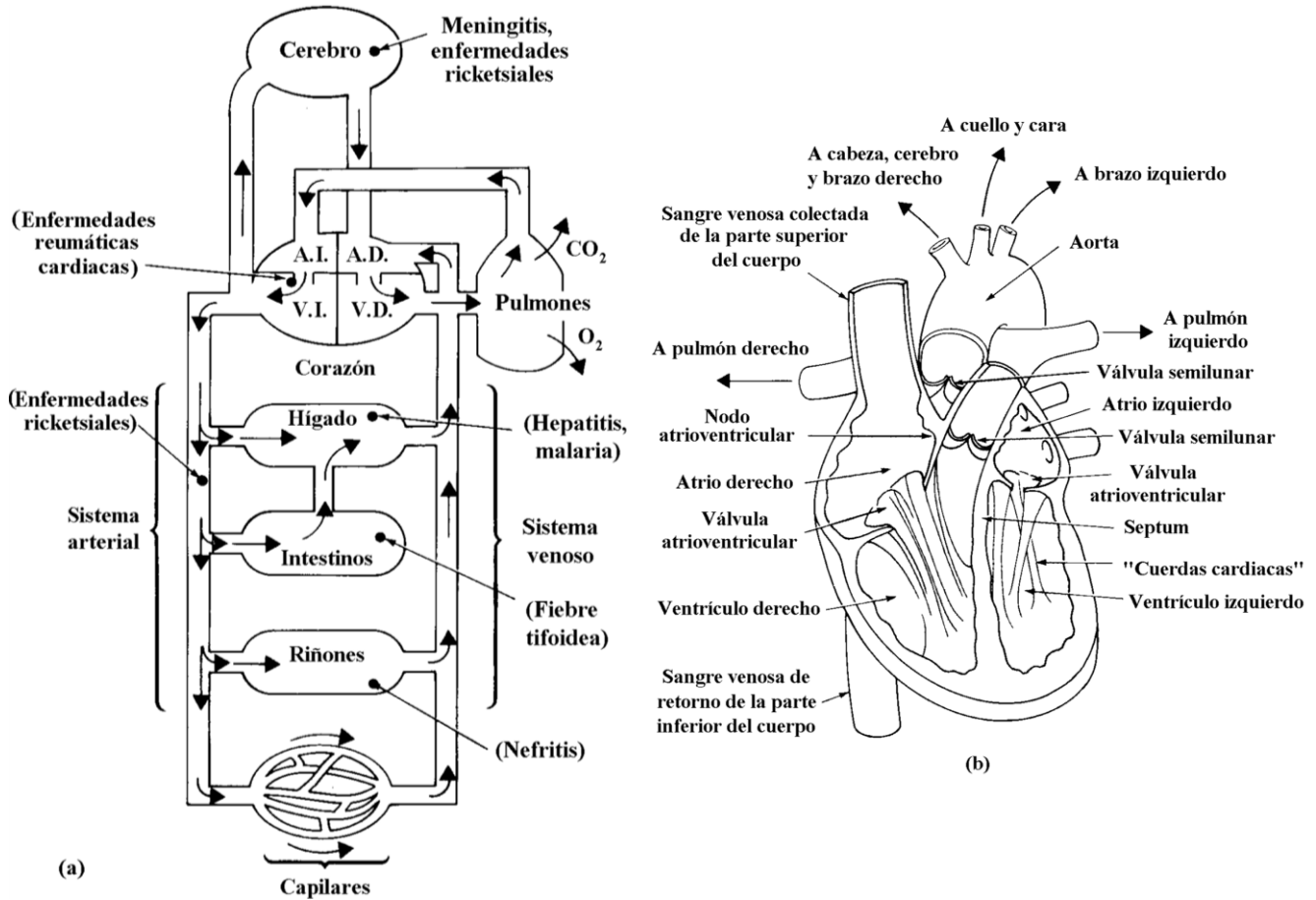


Fig. (a) Estructura y flujo general del aparato circulatorio humano. Este sistema cerrado es realmente doble y consiste en el sistema pulmonar, que abastece a los pulmones y el sistema general que abastece al resto del cuerpo. Se indican órganos específicos que sufren infección microbiana.

(b) Vista interior del corazón.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	188 / 320

## TOMA DE MUESTRAS.

La contaminación de los hemocultivos es bastante frecuente, y suele ocurrir cuando se toma la muestra. La muestra de sangre debe obtenerse a través de la piel, que es una fuente de numerosos contaminantes, Resulta esencial una asepsia meticulosa de la piel: la mayoría de los detergentes, compresas impregnadas de alcohol y otros métodos empleados antes de la punción son inadecuados. Después de una limpieza superficial, el área deberá tratarse con tintura de yodo a no ser que el paciente sea particularmente sensible al yodo. Se inicia al centro y se retira mediante círculos concéntricos; para obtener una máxima efectividad, es preferible dejar secar al aire antes de realizar la punción. Aunque todos saben que el área limpia no debe tocarse, es sorprendente la frecuencia con que se palpa la vena "sólo una vez más para estar seguro", por tanto el dedo también deberá desinfectarse.

Fuente: Schaechter, 1994.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	189 / 320

## PRÁCTICA No. 15

### HEMOCULTIVO

#### Objetivo

Realizar el diagnóstico microbiológico de las especies que causan bacteremia primaria o secundaria.

#### Fundamento teórico

Los organismos más probablemente encontrados en los cultivos de sangre, incluyen los siguientes: *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) y (-), estreptococos viridans. *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas sp.*, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides*, *Brucella sp.*, *Neisseria meningitidis*, *Clostridium perfringens*, *Francisella tularensis*, bacilos difteroides, cocos anaerobios y hongos oportunistas, tales como *Candida* y *Torulopsis*.

Las enfermedades infecciosas que presentan períodos febriles, pueden ser: brucelosis, tifo, tifoidea, paratifoidea, neumonía, escarlatina, fiebre recurrente, etc. Además de otras de etiología no bacteriana como: paludismo, hepatitis infecciosa, influenza, rabia, toxoplasmosis, enfermedad de Chagas, etc.

La Fiebre, es un síndrome complejo integrado por hipertermia, taquicardia, quebrantamiento, intranquilidad o estupor y suele acompañarse de mialgias, artralgias, cansancio, inapetencia y sudoración.

Las bacterias cuando invaden sangre, pueden producir lo siguiente:

**Bacteriemia:** Condición en la que las bacterias viables están presentes en la sangre.

**Septicemia:** Es una forma de bacteremia, en la que las bacterias se pueden o no



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	190 / 320

multiplicar activamente, presentándose síntomas debido a la presencia de toxinas.

**Piemia:** Infección purulenta producida por microorganismos piógenos, caracterizada por la formación de abscesos en distintas partes del cuerpo, acompañada de ictericia, sudor, dolores articulares y escalofríos.

**Toxemia:** Presencia de toxinas en la sangre.

La presencia de microorganismos en la sangre, induce la formación de anticuerpos, que se emplean para el diagnóstico mediante pruebas inmunológicas como las "reacciones febriles".

- Reacción de Huddleson = Diagnóstico de Brucelosis
- Reacción de Widal = Diagnóstico de Tifoidea y paratifoidea.
- Reacción de Weil Felix = Diagnóstico de Tifo.

Para el diagnóstico de las enfermedades febriles, es de gran importancia, el aislamiento del agente etiológico, sobre todo en infecciones por bacterias Gram negativas, y para esto es necesario cultivar la sangre del paciente, es decir, realizar un hemocultivo. Ver Diagrama 16.1.

La muestra de sangre para el hemocultivo, se toma en condiciones asépticas y de preferencia durante el estado febril; en pacientes con fiebre constante que no muestran aumento de temperatura se tomarán tres muestras cuando menos.

La sangre se coloca en medios de cultivo enriquecidos, al que en ocasiones se le agregan sustancias neutralizantes de antimicrobianos e inhibidores de la acción anticomplementaria del suero y de la fagocitosis como: penicilinas y el polietanol sulfonato de sodio.

El medio utilizado tradicionalmente es el bifásico de Ruíz Castañeda. Cuando se sospeche de la presencia de esferoplastos, protoplastos, es conveniente utilizar un medio que contenga sacarosa como regulador de la presión osmótica.

Actualmente existen en el mercado una gran variedad de medios comerciales para realizar los hemocultivos y su selección dependerá de varios factores tales como, el tipo de microorganismos que se espere aislar, los procedimientos del laboratorio y la automatización que se tenga o no en el mismo.

A continuación se menciona la clasificación de los diferentes medios de cultivo sugerida por la ASM (American Society for Microbiology):



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	191 / 320

I. Para microorganismos aerobios y anaerobios facultativos

- a. Medios líquidos.- Infusión cerebro corazón (BHI), Caldo Brucella, Caldo Columbia, Caldo soya trpticaseína, Peptona suplementada.
- b. Sistemas bifásicos.- Septi-chek® (Roche Diagnostics), botellas bifásicas para cultivo de sangre (Becton Dickinson).
- c. Sistemas de lisis y centrifugación.- Isolator (Wampole Laboratories).
- d. Medios para utilizarse en sistemas automatizados.- Medios Bactec® 6A, 16A, 26Plus, Peds Plus (Becton Dickinson); Medio para aerobios de BacT/Alert® (Organon Teknika).

II. Para microorganismos anaerobios

- a. Medios líquidos.- Medio líquido de tioglicolato, Infusión cerebro corazón para anaerobios.
- b. Medios para utilizarse en sistemas automatizados.- Medios Bactec® 7A, 17A, 27Plus, lítico (Becton Dickinson); Medio para anaerobios de BacT/Alert® (Organon Teknika).

III. Medios específicos para la recuperación de hongos.- Isolator® y Medio Bactec® para hongos.

IV. Medios específicos para la recuperación de micobacterias.- Bactec® 13A, Isolator® y Septi-chek® AFB.

**Material, reactivos y cepas microbiológicas:**

Tubos con cepas problema

Frasco con medio de Ruíz Castañeda.

Material necesario para realizar una extracción aséptica de sangre venosa

Tintura de Yodo al 3%.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	192 / 320

Alcohol 70%.

Juego de reactivos para tinción de Gram

Juego de reactivos para tinción de cápsula

Paquetes con 2 hisopos estériles c/u

Discos con antibióticos para pruebas de susceptibilidad

Placas de agar sangre de carnero 4.5%

Placas agar EMB

Placas agar *Staphylococcus* 110

Placas agar Mueller Hinton

Placas agar Cetrimida

Placas agar Corn Meal

Placas agar Biggy

Tubos con medio de cultivo para realizar las pruebas bioquímicas de identificación:

Manitol Hugh-Leifson con sello de nujol

Manitol Hugh-Leifson sin sello de nujol

TSI

SIM

LIA

MIO

RM-VP

Caldo nitrato

Caldo nitrato campana

Urea Christensen

Citrato de Simmons

Caldo trehalosa con rojo de fenol





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	193 / 320

Caldo manitol con rojo de fenol

Caldo lactosa con rojo de fenol

Caldo glucosa con rojo de fenol

Caldo arabinosa con rojo de fenol

Caldo adonitol con rojo de fenol

Caldo levadura con dextrosa y púrpura de bromocresol

Caldo levadura con maltosa y púrpura de bromocresol

Caldo levadura con sacarosa y púrpura de bromocresol

Caldo levadura con lactosa y púrpura de bromocresol

Caldo levadura con galactosa y púrpura de bromocresol

Caldo levadura con trehalosa y púrpura de bromocresol

## Procedimiento

1. Desinfectar con yodo 3% una zona de aproximadamente 2 cm. de diámetro sobre la piel de la vena escogida para realizar la venopunción.
2. Eliminar con alcohol 70% el exceso de yodo y dejar evaporar.
3. Realizar la punción de la vena y extraer 3 mL. de sangre y depositarlos inmediatamente en el frasco del medio de cultivo. Este proceso realizarlo junto a un mechero.
4. Agitar lentamente el frasco por unos segundos e incubar a 37 ° C por media hora en posición horizontal, para que la sangre haga contacto con la fase sólida.
5. Enderezar el frasco e incubar a 37 ° C y observar cada 24 horas, si hay crecimiento en la fase sólida y/o turbiedad de la fase líquida, durante una semana. Continuar la observación semanalmente, durante dos semanas, o hasta cuatro semanas si se sospecha de endocarditis, brucelosis, fungemia o bacteriemia por anaerobios.

**NOTA:** los cultivos en medios bifásicos deben inclinarse diariamente para que la mezcla caldo-sangre entre en contacto con la superficie de la fase sólida, sin embargo la observación de crecimiento tanto en la fase sólida como en la líquida



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	194 / 320

debe realizarse antes de efectuar la inversión.

6. En caso de que aparezcan cambios en el medio, realizar frotis y teñir con la técnica de Gram y hacer resiembras para el aislamiento de microorganismos en los medios de Agar sangre, Agar EMB y Agar Staph 110.
7. Incubar a 37 ° C durante 24 horas.
8. Hacer pruebas diferenciales según la morfología microscópica y colonial.
9. Una vez identificado el microorganismo, realizar la prueba de sensibilidad a los antibióticos.
10. Discutir y concluir resultados.

### Equipo

Microscopio Óptico  
Jarra de anaerobiosis

### Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

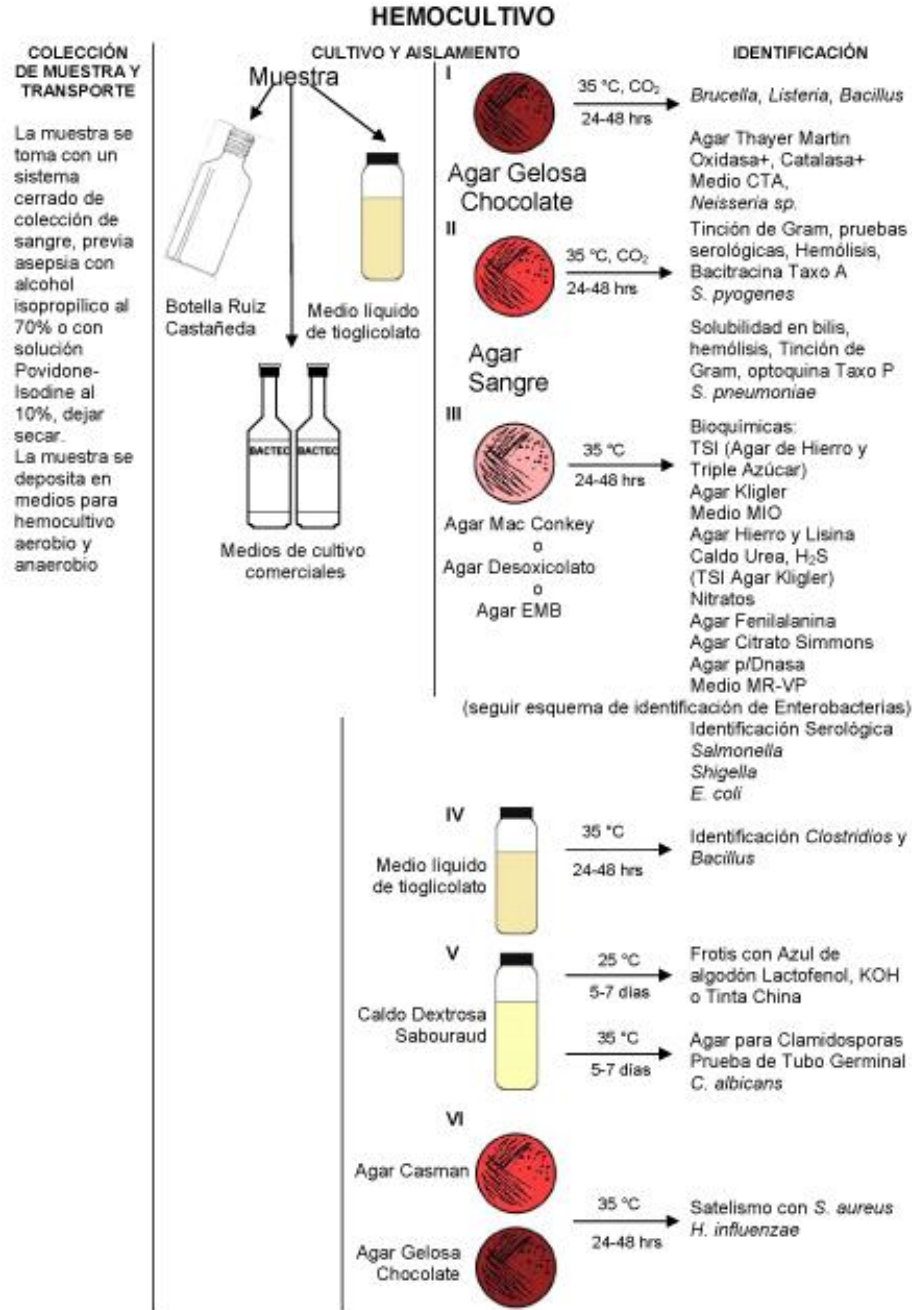
### Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	195 / 320

### Diagrama 15.1 HEMOCULTIVO





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>196 / 320</b>

# APARATO GENITOURINARIO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	197 / 320

## Aparato genitourinario

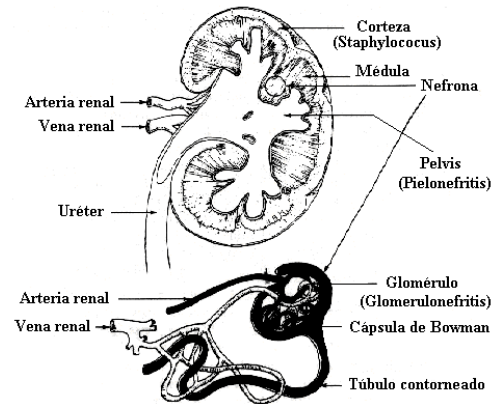
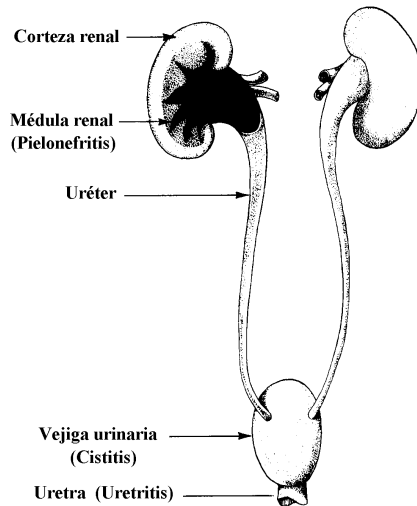
Desde la parte distal de la uretra hasta los cálices renales las vías urinarias están revestidas por una hoja de epitelio que se continúa con la de la piel. Por ende, esta superficie epitelial es una vía de ingreso potencial de los microorganismos desde el mundo exterior. La mayor parte de las infecciones urinarias (IU) ocurren por el ascenso de los microorganismos fecales (en especial *E. coli*) después de haber colonizado el área periuretral. Las infecciones de los riñones por la vía hematogena son mucho más raras. Las principales defensas contra las IU son el flujo de la orina y la eliminación de las células epiteliales a las cuales pueden adherirse las bacterias. Las defensas inmunes (humorales o celulares) casi no desempeñan ningún papel aquí.

En vista del fácil acceso de las bacterias a las vías urinarias no es sorprendente que las IU se ubiquen segundas en incidencia, después de las infecciones del aparato respiratorio. Se ubican primeras entre las enfermedades bacterianas de los adultos que llegan a la atención de los médicos. La mayoría de los pacientes son mujeres, supuestamente porque la uretra femenina es mucho más corta que la uretra masculina. El efecto antibacteriano de las secreciones prostáticas también puede proporcionar cierta protección al hombre. Por ende, la bacteriuria (presencia de bacterias en la orina), sea sintomática o asintomática, en general es más común en las mujeres que en los hombres en todos los grupos etarios. Hasta el 20% de todas las mujeres presentan un episodio de IU hacia los 30 años de edad. Aproximadamente una de cada diez mujeres tiene episodios recurrentes de IU en algún momento de la vida.

Cualquier parte de las vías urinarias puede estar afectada, pero las IU más frecuentes son las infecciones de la vejiga (cistitis) y de la pelvis renales (pielonefritis). La infección de la uretra sola, o uretritis, así como las infecciones prostáticas en general se consideran por separado, si bien una prostatitis bacteriana crónica puede conducir a IU recurrentes. Pueden producirse abscesos renales como resultado de una IU ascendente o de bacteriemia, y también puede aparecer una pielonefritis como consecuencia de la bacteriemia sin compromiso de las vías urinarias. Como en otras enfermedades infecciosas, el médico en general sospecha una IU sobre la base de los síntomas y signos característicos y confirma el diagnóstico por medio de los cultivos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	198 / 320



El acceso de los agentes infecciosos a las vías urinarias casi siempre ocurre por el ascenso desde la uretra. Las infecciones transportadas por la sangre son relativamente poco frecuentes y es más probable que den como resultado abscesos renales que ocurren luego de una bacteriemia por alojamiento en los glomérulos de microorganismos transportados por la sangre. La mayor parte de las IU ascendentes son causadas por bacterias entéricas o cutáneas, seguidas en frecuencia por las clamidias, *C. albicans* y, rara vez, los virus, los protozoarios u otros parásitos.

Las bacterias fecales, la causa más frecuente de IU, no constituyen una muestra al azar sino un grupo seleccionado de la biota intestinal. Las especies anaerobias estrictas rara vez causan IU. Más del 80% de las IU agudas en los pacientes sin anomalías anatómicas (las IU no complicadas) son causadas por cepas de *E. coli* que poseen ciertos factores de virulencia. Otros miembros de los bacilos entéricos y los estreptococos de los grupos B y D también son prominentes. Algunas infecciones en especial en las mujeres, son causadas por el *S. saprophyticus* o por la *C. albicans*. El motivo de la prominencia de estas especies puede suponerse en parte: la adherencia a las células epiteliales parece ser el determinante único más importante de la patogenicidad.

Algunos estudios prospectivos en mujeres con IU recurrentes, indican que poco antes del comienzo de las infecciones vesicales un número creciente de bacterias fecales colonizan el epitelio de la vagina y alrededor del meato urinario. Cuando la cantidad de bacterias llega a ser lo bastante elevada los microorganismos pueden



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	199 / 320

ingresar en la uretra y la vejiga y superar los mecanismos de defensa normales. Sin embargo, un gran número de bacterias solamente puede no ser suficiente como para causar una IU; los factores mecánicos y otros factores pueden contribuir a provocar las infecciones.

La IU en los pacientes con anomalías estructurales de las vías urinarias, incluyendo cálculos, obstrucciones o sondas, se conocen como "IU complicadas". Estas infecciones, en especial las asociadas con las sondas, a menudo son causadas por especies de microorganismos Gram negativos como la *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, las especies de *Serratia*, o *Pseudomonas aeruginosa*, que son relativamente resistentes a los antibióticos. Los pacientes con cálculos urinarios a menudo presentan infecciones causadas por microorganismos que degradan la urea, en especial las especies de *Proteus*, que aumentan el pH de la orina y llevan a la formación de cálculos de "estruvita". Las IU complicadas son importantes desde el punto de vista médico debido a la alta probabilidad de diseminación hacia los riñones (pielonefritis) y el torrente circulatorio (sepsis).

De los factores bacterianos que predisponen a las IU el mejor estudiado es la capacidad de los microorganismos para adherirse a la mucosa de las vías urinarias. La adherencia a las células epiteliales asegura que las bacterias no sean eliminadas de forma rápida y sencilla por el flujo de la orina. Muchos agentes causales de IU poseen fuertes adhesinas, en general en la forma de pili. Estos apéndices proteicos ayudan a superar las fuerzas repulsivas entre la superficie de las células bacterianas y epiteliales. En el caso de *E. coli* los denominados pili P parecen desempeñar un papel en el establecimiento de la infección en la vejiga y en los riñones.

La consecuencia más severa de una infección vesical es el ascenso de los microorganismos hacia los riñones, lo que conduce a la pielonefritis. Cualquier factor que contribuya al flujo retrógrado de la orina puede contribuir al establecimiento de la pielonefritis. Los ejemplos más comunes de estos factores predisponentes incluyen:

- El reflujo de orina desde la vejiga hacia los uréteres; éste es un problema frecuente en los niños y es causado por el cierre incompleto de las válvulas ureterovesicales. Puede conducir a la regurgitación de la orina contaminada desde la vejiga hacia los uréteres y los cálculos.
- Otras disfunciones fisiológicas; los trastornos neurológicos llevan al mal vaciamiento de la vejiga. Los efectos hormonales y anatómicos del embarazo causan la dilatación y la disminución del peristaltismo de los uréteres. Los pacientes diabéticos también están predispuestos a la pielonefritis por motivos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	200 / 320

que no se comprenden del todo.

- Las sondas uretrales; estas sondas conllevan por lo menos dos factores de riesgo de cistitis y pielonefritis: sirven como un conducto a lo largo del cual pueden diseminarse las bacterias y como nidos para las infecciones persistentes. La prevalencia de la bacteriuria en los pacientes aumenta en aproximadamente un 5% por cada día que la sonda está colocada. En este caso muchas de las cepas que carecen de adhesinas habituales, son capaces de ascender a lo largo de la sonda sin necesidad de adherirse a la mucosa.
- Los cálculos urinarios; una vez colonizados por las bacterias, sirven como nidos para las infecciones recurrentes de la vejiga y los riñones.

En general las bacterias no invaden la mucosa de las vías urinarias bajas. Los síntomas de la cistitis y la uretritis son causados principalmente por la irritación superficial. En contraste, las bacterias que llegan al parénquima renal producen las manifestaciones sistémicas de fiebre, escalofríos y leucocitosis que, junto con el dolor localizado en el flanco, constituyen los signos característicos de la pielonefritis. La pielonefritis a menudo se acompaña de bacteriemia, pero no es necesario que así sea para que produzca las manifestaciones sistémicas. Los cálculos son particularmente perniciosos para las vías urinarias por cuanto a menudo causan una obstrucción, la cual por sí misma puede lesionar de manera significativa los riñones. La obstrucción con infección es particularmente peligrosa porque lleva a una sepsis potencialmente letal y a la rápida destrucción renal.

## TOMA DE MUESTRA

La confirmación de laboratorio del diagnóstico de IU depende de los cultivos de orina, pero la interpretación de estos cultivos es difícil porque la orina obtenida por la micción en general contiene bacterias contaminantes del meato uretral. Las precauciones normales de la limpieza de los genitales externos y la recolección de una muestra de la parte media del chorro reducen el grado de contaminación pero no evitan por completo el problema. La orina recolectada por medio de la aspiración con aguja de la vejiga o mediante el sondaje uretral contiene menos contaminantes que la orina obtenida por la micción, pero estos procedimientos no son prácticos. Ciertas especies que son miembros de la biota cutánea, incluidos los estafilococos coagulasa-negativos y los difteroides tienen más probabilidades de ser contaminantes que los bacilos Gram negativos entéricos, pero ésta no es una forma confiable de diferenciar entre una bacteriuria verdadera y una orina contaminada. Pueden repetirse los cultivos para determinar la reproductibilidad de los hallazgos, pero esto es costoso y lleva tiempo.





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	201 / 320

Con propósitos prácticos, la diferenciación entre una bacteriuria significativa y la contaminación de la orina se basa en el recuento del número de bacterias en la orina. Se han desarrollado las siguientes pautas que se aplican principalmente a las bacterias Gram negativas. En el paciente asintomático un nivel de  $10^5$  UFC /ml de orina o más se considera indicativo de infección. En los pacientes con síntomas de cistitis incluso 100 UFC/ml se consideran significativas. El motivo de la diferencia en el umbral es que en el paciente asintomático existe una mayor probabilidad de que los recuentos bajos representen la contaminación más que una bacteriuria verdadera.

Los síntomas y/o alteración de las características organolépticas de la orina (color, turbidez, olor) pueden orientar a la sospecha clínica de infección urinaria, pero nunca diagnosticarla. Del mismo modo el examen en fresco del sedimento urinario o algunas pruebas bioquímicas sólo pueden llevar a pensar en una posible infección urinaria. El cultivo de la orina es el procedimiento idóneo para este diagnóstico y es irremplazable por cualquier otra técnica.

Mediante él, además, se obtiene el dato identificatorio del o de los agentes causales y su sensibilidad antibiótica.

El médico que solicita la realización de un urocultivo debe comprender que la interpretación del resultado debe surgir de un análisis cuidadoso de todos los elementos que rodean el caso. Al margen de la posibilidad de discutirlo oralmente, el microbiólogo debe de disponer de ciertos datos para poder jerarquizar sus hallazgos y llegar a un diagnóstico correcto.

Los datos más relevantes se mencionan a continuación:

*Datos del paciente*

Edad,

Sexo,

Enfermedad subyacente,

Antibióticos administrados previamente,

Infección urinaria previa: número y fechas

Administración de medicamentos que pudieran alterar el pH urinario,

Instrumentación urológica previa,

Presencia de malformaciones u obstrucción en las vías urinarias, y



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	202 / 320

Síntomas.

#### *Datos de la muestra*

Tiempo y temperatura de conservación,

Método de obtención, y

Tiempo de retención urinaria previo a la toma de la muestra.

#### **Pacientes que controlan esfínteres**

Método del chorro medio.

Solicitar al paciente que recoja el material en frasco estéril de boca ancha después de una retención urinaria de por lo menos 3 hs. De este modo se dará tiempo a que las bacterias presentes en la vejiga puedan duplicarse varias veces. Así se podrán obtener concentraciones bacterianas elevadas que podrán diferenciarse claramente de los recuentos microbianos debidos exclusivamente a bacterias contaminantes provenientes de la uretra y zona periuretral. Preferentemente se utilizará la primera micción de la mañana. Si esto no pudiera realizarse, se tratará de tomar la muestra cuando se haya logrado el mayor tiempo de retención que fuera posible. Este tiempo deberá ser informado al microbiólogo.

El paciente higienizará sus genitales externos con agua y una pastilla nueva de jabón. No se deben utilizar antisépticos pues podrían ser arrastrados hacia el frasco colector produciendo resultados falsamente negativos en algunos casos.

Los genitales deberán enjuagarse con agua (en lo posible estéril, o al menos hervida y enfriada) con el objeto de eliminar el jabón residual. El paciente comenzará a orinar descartando la primera porción del chorro miccional. Recogerá en frasco estéril la siguiente porción de orina y en lo posible descartará la última parte, sobre todo si en ese momento comienza a orinar con esfuerzo. A veces, en esos casos, la orina puede contaminarse con flujo vaginal en la mujer o con líquido prostático en el varón, pudiéndose confundir los diagnósticos.

Si el paciente es del sexo masculino se le indicará que orine retrayendo el prepucio para evitar contaminaciones provenientes en esa zona. Si es del sexo femenino, se le aconsejará la colocación de un tapón vaginal, que puede fabricarse con gasa y algodón en caso de no emplearse los disponibles en el comercio. Este dispositivo evitará la contaminación de la orina con flujo vaginal. Con el mismo fin se instruirá a la paciente para que recoja la muestra orinando con los labios mayores separados.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA



MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	203 / 320

Conservación: La muestra deberá conservarse en frío (4°C), temperatura a la que podrá permanecer durante 24-48 hs sin que se produzcan alteraciones importantes de la viabilidad de los microorganismos. Sin embargo, para evitar el sobredesarrollo de bacterias psicrófilas como *Pseudomonas aeruginosa* o de hongos capaces de duplicarse a bajas temperaturas, conviene enviarla lo antes posible al laboratorio de microbiología. Si debiera ser transportada se apelará a un recipiente térmico con hielo, donde se colocará el frasco recolector con la muestra y podrá permanecer en frío durante el tránsito hacia el laboratorio. La muestra no deberá mantenerse a temperatura ambiente por espacios mayores de una hora.

### Pacientes que no controlan esfínteres

Recolección al acecho.

El método es similar al ya descrito para pacientes que controlan esfínteres. La diferencia consiste en que la toma de la muestra se dificulta por el desconocimiento del momento en que se producirá la micción. En ese instante el operador procederá rápidamente recogiendo lo que seguramente será la porción media del chorro miccional. La conservación y transporte se efectúan del mismo modo que en el método de chorro medio.

Nunca se utilizarán bolsitas recolectoras para obtener muestras destinadas al estudio microbiológico. Al hacerlo, inevitablemente se produciría la contaminación de la orina por defectos de colocación, movimiento hacia zonas altamente contaminadas (zona perianal) y porque no se puede descartar la primera porción del chorro miccional. Dos tercios de las muestras aparecerían como positivas sin poder discriminarse entre contaminación o infección. Si bien el tercio restante podría estar constituido por orinas verdaderamente desprovistas de microorganismos, el costo que implica la repetición de las positivas y la demora que se produce en la definición del diagnóstico en una población de alto riesgo de sufrir secuelas son determinantes de suficiente peso como para recomendar el no procesamiento de las muestras recogidas de ese modo.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	204 / 320

### Punción suprapúbica.

Si bien se trata de una técnica invasiva, se aplica a una variedad de casos en que se requiere la obtención de una muestra exenta de contaminantes provenientes de la uretra y zonas adyacentes. Es el procedimiento mandatorio en caso de neonatos y lactantes graves, donde la velocidad del diagnóstico puede ser crucial incluso para la vida del enfermo. También es aplicable en aquellos casos en que los métodos incruentos producen resultados conflictivos, o cuando se sospecha la presencia de microorganismos que normalmente colonizan la uretra (micoplasmas, *Corynebacterium* sp, anaerobios, etc.).

El procedimiento debe ser efectuado por personal entrenado. Primeramente se verifica que el paciente presente un globo vesical palpable. Se desinfecta la piel con solución antiséptica de yodopovidona o alcohol yodado en la región elegida (1-2 cm por encima del pubis). Se deja actuar un minuto, se limpia con etanol de 70% y se punza con la aguja adecuada según el caso, la que estará adosada a una jeringa estéril de 10 o más mililitros. Se aspira la orina y se vuelca en un tubo estéril con tapón de rosca.

Conservación: A temperatura ambiente, el menor tiempo posible.

### Por cateterización.

Al efectuar el procedimiento de cateterización de las vías urinarias se corre el riesgo de producir el arrastre de microorganismos desde la uretra hacia la vejiga. Esto podría determinar la producción de una infección urinaria iatrogénica en pacientes que no la tuvieran. Por ello sólo es recomendable como procedimiento diagnóstico en aquellos pacientes que estén sometidos a tratamiento de evacuación urinaria por cateterismo intermitente (p. ej., pacientes con vejiga neurogénica). De este modo, se aprovecha el procedimiento de cateterización para recoger la muestra de orina destinada al cultivo. Esta muestra se recolectará tomando la porción media del chorro que sale a través de la sonda o catéter introduciéndola en un frasco estéril. La conservación y el transporte se realizarán como en los casos anteriores.

También pueden aplicarse la cateterización para tomar las muestras de orina a pacientes portadores de uretostomías o vesicostomías. El procedimiento es igual al descrito anteriormente, excepto que en algunos casos se deberá utilizar catéteres de menor diámetro.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	205 / 320

#### Pacientes con sonda vesical.

Si bien el método ideal es la punción suprapúbica, en estos casos se puede evitar la utilización de esta técnica invasiva punzando el tercio proximal de la sonda, previa desinfección. Antes de efectuar la punción, la sonda debe ser obturada con una pinza y se debe esperar unos 10-15 minutos para que se acumule la orina. Si la sonda estuvo colocada durante varios días, los cultivos serán siempre positivos a pesar de la ausencia de síntomas. Los microorganismos normalmente pueden ascender por el sistema, aunque éste sea cerrado. Lo hacen aprovechando la propia orina del paciente, por la producción de burbujas o por retroceso del líquido en el sistema. A veces son los mismos microorganismos que colonizan al paciente en la zona uretral que descienden hacia la bolsa colectora, se reproducen y vuelven a ganar el tracto urinario, pero ahora con ventaja numérica. Otras veces pueden ser producto de infecciones cruzadas. Es decir, puede tratarse de bacterias procedentes de otros enfermos que pueden haberse trasladado a través de las manos del personal. En este caso comienzan por colonizar las uniones de las distintas partes del sistema para luego ingresar a él.

En pacientes con sondas colocadas durante períodos cortos conviene esperar su retiro y tomar una muestra 72 hs después por el método del chorro medio. De este modo se obtendrá un dato más fidedigno de los microorganismos que pudieron haber quedado en la vejiga con motivo del sondaje. En pacientes con sonda permanente o colocada por períodos prolongados conviene emplear procedimientos diagnósticos sólo cuando existan síntomas. En ellos no ha sido demostrado que la profilaxis antibiótica produzca algún beneficio. Tampoco el tratamiento de la bacteriuria asintomática resulta de utilidad en pacientes con sonda permanente. Por ello conviene realizar el urocultivo sólo en pacientes sintomáticos. De otro modo, lo que se lograría sería aumentar los gastos e inducir a la sobremedicación, pudiendo seleccionarse cepas resistentes.

Fuentes Argeri, 1993; Schaechter, 1994 y Wistreich, 1980.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	206 / 320

## PRÁCTICA No. 16

### DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES EN LAS VÍAS URINARIAS

#### Objetivo.

Realizar el diagnóstico microbiológico de las especies causantes de bacteriuria primaria o secundaria.

#### Fundamento teórico

Una infección en las vías urinarias es la aparición de cantidades elevadas de bacterias en la orina. Estas infecciones son muy frecuentes y marcadamente resistentes al tratamiento; se consideran peligrosas por evolucionar a enfermedades renales graves como la pielonefritis, pudiendo diseminarse al torrente sanguíneo.

La bacteriuria, puede ser asintomática o presentarse como enfermedad aguda o crónica. Las infecciones agudas, generalmente son producidas por un solo microorganismo, mientras que en las crónicas pueden intervenir varias bacterias.

En la implantación de los microorganismos, intervienen factores como: malformaciones, uropatía obstructiva, enfermedad renal, hipertensión, la alteración neurogénica de la vejiga, diabetes mellitus, embarazo, cateterismo, terapia de fármacos potentes, alteraciones en las defensas antibacterianas del huésped, cáncer.

Los microorganismos que con mayor frecuencia colonizan estas vías son: *Escherichia coli*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Ocasionalmente pueden encontrarse *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans* y otros microorganismos oportunistas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	207 / 320

Para el diagnóstico de laboratorio debe tomarse en cuenta lo siguiente:

1. El agente causal es aquel microorganismo que se aísla repetidas veces en urocultivos sucesivos.
2. Se consideran como responsables a las bacterias aisladas de la muestra de la orina que presente 5 o más leucocitos por campo siempre que se haga la observación de una gota de orina homogeneizada por agitación y observada con el objetivo a seco fuerte.
3. Se considera que las bacterias provenientes de la vejiga o de las porciones superiores del aparato urinario, utilizan la orina como medio de cultivo y durante su residencia en la vejiga alcanzan una población superior a 100,000 colonias por mL de la muestra; en cambio, las bacterias que son arrastradas durante la micción nunca llegan a esa cifra, por lo que, en éstos casos se les considera como contaminantes. Los autores consideran que cuentas menores de  $1 \times 10^5$  colonias por mL podrían corresponder a infecciones en las vías superiores en pacientes que han recibido antimicrobianos, o en aquéllos cuya orina está muy diluida por la terapia hidrante.

La toma de la muestra se realiza instruyendo a los pacientes para que, se practiquen un aseo escrupuloso con agua y jabón. El paciente debe desechar aproximadamente los primeros 50 mL y recibir el resto en un frasco estéril de boca ancha hasta una cantidad de 75 a 100 mL.

El sondeo vesical no es recomendable aún en condiciones de estricta esterilidad, debido al peligro de transportar microorganismos de la uretra o del exterior hacia la vejiga.

La muestra se debe sembrar inmediatamente o refrigerar por un tiempo máximo de dos horas. La mayoría de los laboratorios utilizan asa calibrada para inocular por estría la superficie de los medios de cultivo y emite un reporte cuantitativo del cultivo, las asas son de platino y tienen calibres de 0.01 y 0.001 mL, la selección de éste dependerá del tipo de espécimen urinario colectado.

Después de la incubación el número de UFC es multiplicado por 100 si el asa utilizada fue de 0.01 mL, o por 1000 si el asa empleada para inocular el medio fue de 0.001 mL.

Kass define 100,000 UFC o más /mL a partir de pacientes asintomáticos, como una bacteriuria significativa e indicativa de infección, esto no quiere decir sin embargo, que especímenes que presentan menos de 100,000 UFC/mL no



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	208 / 320

indiquen un bacteriuria significativa. Algunos pacientes sintomáticos, de hecho, producen cultivos urinarios menores de 100,000 UFC/mL (tabla 19.1)

Tabla 16.1 Definiciones de "bacteriuria significativa" en grupos seleccionados de pacientes

POBLACIÓN	"BACTERIURIA SIGNIFICATIVA"
Asintomática	$>10^5$ UFC/ mL
Pielonefritis aguda	$>10^5$ UFC/mL
Mujeres con disuria aguda	$>10^2$ UFC/mL en mujeres con piuria anormal
Pacientes con sonda	$>10^2$ UFC/mL

Fuente: Schaecher, et al 1994





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	209 / 320

### Material, reactivos y cepas microbiológicas:

Tubos con cepas problema  
Placas de agar EMB o Agar MacConkey  
Placas de agar sangre de carnero 4.5%  
Placas de agar Staphylococcus 110 ó agar sal y manitol  
Placas de agar Mueller Hinton  
Placas de agar Corn Meal  
Placas de agar Biggy  
Tubos con caldo BHI

Tubos con medio de cultivo para realizar las pruebas bioquímicas de identificación:

Caldo adonitol con rojo de fenol  
Caldo arabinosa con rojo de fenol  
Caldo glucosa con rojo de fenol  
Caldo lactosa con rojo de fenol  
Caldo levadura con dextrosa y púrpura de bromocresol  
Caldo levadura con maltosa y púrpura de bromocresol  
Caldo levadura con trehalosa y púrpura de bromocresol  
Caldo levadura con galactosa y púrpura de bromocresol  
Caldo levadura con lactosa y púrpura de bromocresol  
Caldo levadura con sacarosa y púrpura de bromocresol  
Caldo manitol con rojo de fenol  
Caldo trehalosa con rojo de fenol  
LIA  
SIM  
TSI  
Manitol Hugh-Leifson con sello de nujol  
Manitol Hugh-Leifson sin sello de nujol  
MIO  
RM-VP  
Citrato de Simmons  
Urea Christensen  
Caldo nitrato campana  
Caldo nitrato



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	210 / 320

Asa calibrada (0.01 ó 0.001 mL)

Hisopos estériles

Muestra de orina

Discos con antibióticos para pruebas de susceptibilidad

Equipo para tinción de Ziehl-Neelsen

Equipo para tinción de Gram

Reactivos para indol, oxidasa y catalasa

## Procedimiento

1. Tomar el pH de la orina.
2. Agitar el frasco y colocar una gota entre portaobjetos y cubreobjetos y observar al microscopio, utilizando el objetivo seco fuerte. Contar el promedio de leucocitos por campo.
3. Homogeneizar la orina y en condiciones de esterilidad, sembrar con asa calibrada y por estría recta a la mitad de cada placa y luego estriar masivamente de manera perpendicular en las placas de agar sangre, agar EMB, agar Mac Conkey, agar Staph-110, o agar sal y manitol. Incubar a 37° C por 24 hrs. y realizar las pruebas diferenciales.
4. Observar entre porta y cubreobjetos una gota del sedimento, buscando *Trichomonas*, leucocitos, cilindros y eritrocitos.
5. Realizar frotis del sedimento y teñir uno con la técnica de Gram y otro con la técnica de Ziehl Neelsen. Observar al microscopio.
6. Una vez realizada la identificación de bacterias, se procede a realizar la prueba de sensibilidad a los antibióticos.
7. Discusión y conclusiones de los resultados.

Debe reportarse el número de UFC/mL, así como la especie y su sensibilidad.

Ver Diagrama 16.1



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	211 / 320

## Equipo

Microscopio Óptico

## Servicios

Servicio de gas  
Servicio de agua  
Servicio de luz

## Formato para el reporte de resultados

Ver Anexo H



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	212 / 320

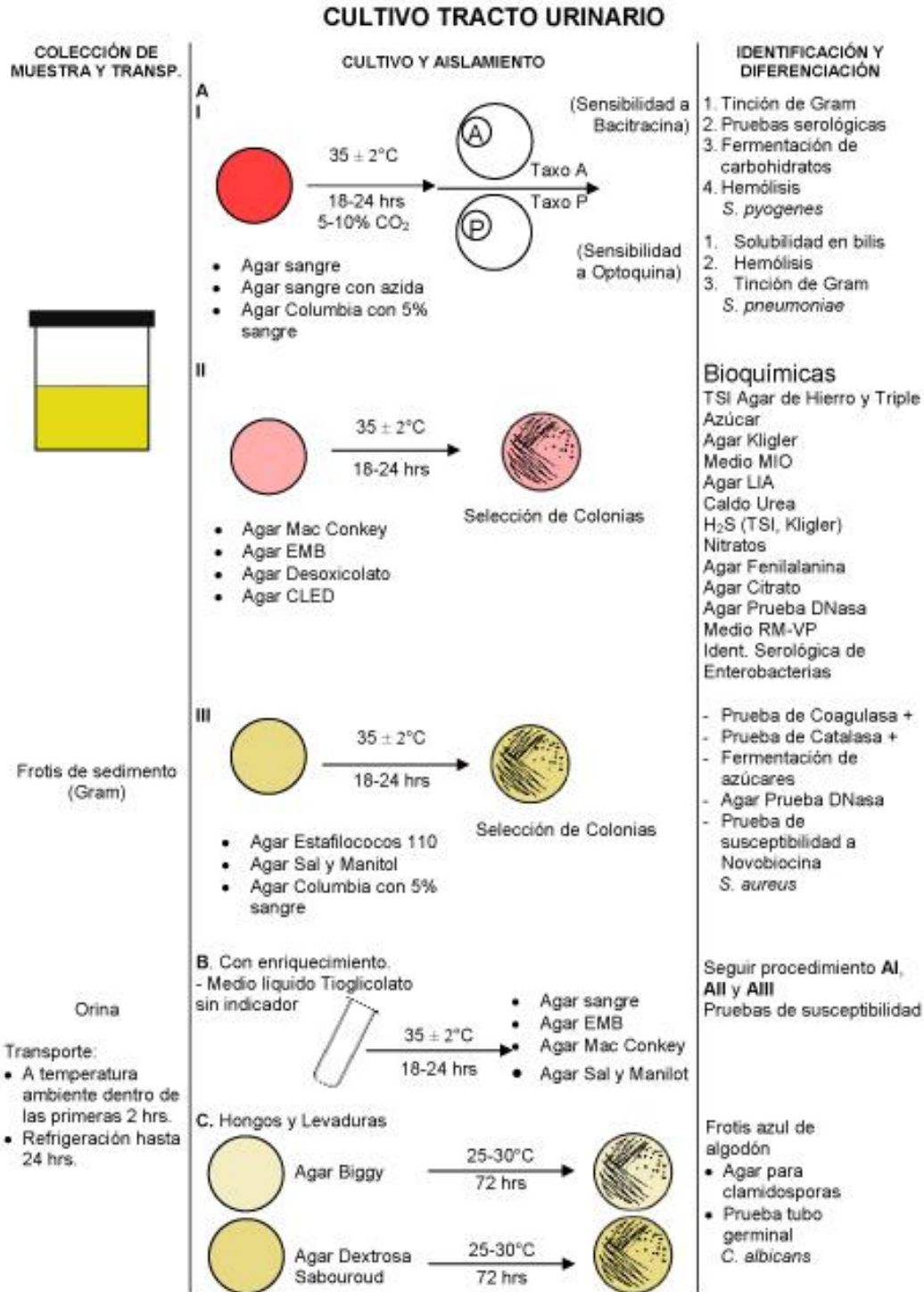


Diagrama 16.1



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>213 / 320</b>

# REFERENCIAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	214 / 320

## REFERENCIAS

### Básicas

Arenas R. Micología médica ilustrada. 3ª ed. México: Interamericana-MacGraw Hill; 2008.

Baker, FJ, Breach MR. Manual de técnicas de microbiología médica. 3ra. ed. Madrid: Acribia; 1990.

Bonifaz, A. Micología médica básica. México: Méndez Editores, SA de CV; 1990.

Brock TD, Madigan MT. Microbiología. 6a. ed. México: Prentice Hall Hispanoamericana; 1991.

Brooks GF, Carrol KC et al. Microbiología médica de Jawetz. 19 ed. México: El Manual Moderno; 2008.

Diccionario terminológico de ciencias médicas. México: Salvat; 1992.

Forbes BA, Sahm DF y Weissfeld AS. Diagnóstico microbiológico de Bailey y Scott. 11ª ed. México: Médica Panamericana; 2004.

Koneman EW, et al. Diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color 6a. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1992.

Lennette HE, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ. Manual de microbiología clínica. 4a. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1992.

López MR, Méndez TL, Hernández HF y Castañón OR. Micología médica. Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio. 2 ed. México: Editorial Trillas; 2004.

Murray PR, Rosenthal KS y Pfaller MA. Microbiología médica. 6ª ed. Madrid: Elsevier; 2006.

Volk A, et al. Essentials of medical microbiology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>215 / 320</b>



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	216 / 320

## Complementarias

Argeri NJ, Lopardo AH. Análisis de orina, fundamentos y práctica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1993.

Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds). Manual of clinical microbiology. 5th. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1991.

Baron EJ, Finegold SM. Bailey Scott s. Diagnostic microbiology. 8th. ed. St. Louis: Mosby Co;

Bioxon. Manual Bioxon de medios de cultivo. México. 1989. Vol (1-2).

Cantú VLM, Pérez MR y Villarreal LJL. Manual de Biología Médica. México: ENEP Zaragoza, UNAM; 1990.

Conferencia Latinoamericana de Bioquímica Clínica (COLABIOCLI). Mejoría continua de la calidad. México: Médica Panamericana; 1995.

Cowan ST. Manual for the identification of medical bacteria. 3rd. ed. London: Cambridge University Press; 1993.

Ewing WH. Edwards & Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*. 4th. ed. New York,: Elsevier; 1986.

Finegold SM (ed). Summary of current nomenclature, taxonomy and classification of various microbial agents. Clin Inf Dis 1993; 16:597-615.

Fitzpatrick, *et al*. Color atlas and synopsis of clinical dermatology (common and serious diseases) 2nd. USA: Mc Graw Hill; 1992.

García CRE, Giono CS. (editoras). Bacteriología médica diagnóstica. México: ENCB-IPN; 1993.

García-del Valle A y Zamudio-Durán MM. Manual Microbiología Médica. 1ª ed. México: FES Zaragoza, UNAM; 1998.

Hinojosa MA, Bessudo D. Manual de técnicas y procedimientos para el estudio de





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	217 / 320

microorganismos patógenos. México: INDRE, SS; 1989.

Isenberg, HD (editor). Clinical microbiology procedures handbook. Washington DC: American Society for Microbiology; 1992.

Krieg RR, Holt AG (editors). Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol 1 Baltimore: The Williams & Wilkins Co.; 1984.

Mims CA, Playfair JHL, Roitt IM, Wakelin D, Williams R. Microbiología médica. Madrid: Mosby/Doyma Libros; 1995.

Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. Manual of clinical microbiology. 6a. ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1995.

OPS/OMS Manual de normas y procedimientos técnicos para la bacteriología de la tuberculosis. Norma técnica no. 27; 1985.

Perea P. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Vol. I y II Madrid: Doyma; 1992.

PLM (ed) Diccionario de especialidades en análisis clínicos - PLM. 7a. ed. México: Ediciones PLM. 1992.

Power DA, McCuen PJ. Manual of BBL products and laboratory procedures. 6th. ed. Cockeysville: Becton Dickinson Microbiology Systems; 1988.

Segretain G, Drouhet E y Mariat F. Diagnóstico de laboratorio en micología médica. México: La Prensa Médica Mexicana; 1966.

Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (editors) Bergey's manual of systemic bacteriology, Vol 2, Baltimore: The Williams & Wilkins Co; 1986.

Schaechter M, Medoff G, Eisenstein BI, Guerra H. Microbiología: mecanismos de las enfermedades infecciosas. 2a. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1994.

Wistreich, GA & Lechtman MD. Microbiology. 3rd. ed. New York: MacMillan Publishing Co., Inc.; 1980.

Zapater RC. Micología médica. Diagnóstico y tratamiento. Buenos Aires: El



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	218 / 320

Ateneo; 1981.

# CRITERIOS DE EVALUACIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	219 / 320

## Sistema de trabajo y evaluación

### *El trabajo.*

- Las actividades desarrolladas durante el semestre corresponden a cuatro módulos: 1) piel y músculo esquelético, 2) aparato digestivo, 3) aparato respiratorio y 4) aparatos circulatorio y genitourinario.
- El alumno presentará un examen de conocimientos básicos antes de cada práctica.
- Al finalizar cada módulo se presentarán: 1) un examen acerca de las tinciones, los medios de cultivo, las pruebas bioquímicas y las pruebas especiales correspondientes, y 2) un examen de conocimientos teórico-práctico acerca de los temas desarrollados. La aplicación de los exámenes antes mencionados queda sujeta a las siguientes condiciones, según el promedio de los exámenes previamente aplicados:
  - a) Si la calificación promedio de los exámenes previos es mayor a 8.0 el alumno exentará el examen de módulo y el examen de tinciones, medios de cultivo, pruebas bioquímicas y pruebas especiales, según corresponda.
  - b) Si la calificación promedio es menor o igual a 5.9, no presenta examen de módulo, ni examen de tinciones, medios de cultivo, pruebas bioquímicas y pruebas especiales, y presenta examen final,
  - c) Si la calificación promedio es de 6.0 a 7.9 presenta examen de módulo y examen de tinciones, medios de cultivo, pruebas bioquímicas y pruebas especiales
- El alumno entregará un reporte de resultados por práctica. La fecha de entrega se le hará saber oportunamente, no hay prórroga.
- El reporte de la práctica deberá estar completo. El alumno recibirá un formato preestablecido (no editable), para el reporte de las prácticas de bacteriología y recibirá indicaciones precisas para llevar a cabo el reporte de resultados de las prácticas de micología.
- Cada equipo de trabajo tiene la obligación de traer el día de la sesión correspondiente de las prácticas que se indiquen, la muestra clínica que utilizarán para su trabajo en el laboratorio, de no hacerlo así no realizarán tal práctica, sin excepción.
- Durante el trabajo del laboratorio, se calificará el desempeño de cada alumno en medidas de bioseguridad. Manejo de Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos, en los rubros considerados de la lista de cotejo (Anexo I), así como en la funciones de cada uno de los integrantes de equipo. (Anexo J).



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	220 / 320

*La evaluación.*

Reportes

Lista de cotejo

Exámenes

De no aprobar 1 ó 2 exámenes parciales sólo se presenta la reposición correspondiente al final del semestre.

De no aprobar tres exámenes parciales se debe presentar examen final global.

Calificación final

Reportes	20%
Lista de cotejo	20%
Exámenes	
parciales (aprobatorios)	30%
pruebas bioquímicas	30%



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	221 / 320

# REGLAMENTO DE LABORATORIO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	222 / 320

## REGLAMENTO DEL LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y MICOLOGÍA MÉDICAS

1. El alumno deberá cumplir un mínimo del 80% de asistencia.
2. El uso de bata blanca, limpia, presentable y cerrada es obligatorio.
3. El límite de entrada es máximo 10 minutos después de la hora de inicio.
4. El uso de guantes y cubreboca durante el desarrollo de la práctica es obligatorio.
5. Se debe limpiar la mesa de trabajo con una solución desinfectante adecuada (hipoclorito de sodio al 5%) antes y después de trabajar en ella.
6. Debe lavarse las manos después de trabajar en el laboratorio.
7. No se debe ingerir alimento alguno dentro del laboratorio.
8. Se requiere tener en gaveta, bajo llave (una copia de la llave por cada integrante del equipo), el siguiente material para su uso durante el semestre:
  - Asas bacteriológicas y micológicas.
  - Franela y jerga limpias.
  - Frascos goteros color ámbar de aproximadamente 20 mL.
  - Gradilla 6 x 12 para tubos de 18 x 150.
  - Guantes, cubreboca y anteojos protectores.
  - Jabón de tocador y detergente.
  - Jeringa desechable de 10 mL.
  - Marcador indeleble de punto fino y maskingtape.
  - Mechero (Bunsen o Fisher).
  - Papel absorbente.
  - Papel de aluminio, barniz transparente para uñas.
  - Portaobjetos y cubreobjetos nuevos.
  - Soluciones desinfectantes (alcohol 70%, hipoclorito de sodio, benzal).



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	<b>1</b>	<b>223 / 320</b>

# ANEXO A

# CLASIFICACIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	224 / 320

## La clasificación de Bergey de las bacterias

El Manual de *Bergey de Bacteriología Sistemática* es la autoridad reconocida sobre la taxonomía bacteriana. El Manual está dividido en cuatro volúmenes. Cada volumen contiene varias secciones y cada sección contiene varios géneros relacionados. Brevemente, el contenido de cada volumen es el siguiente:

<b>Volumen I 1984</b>	<b>Bacterias Gram-negativas de importancia médica y comercial:</b> espiroquetas, espirilos y bacterias curvas, bacilos gram-negativos aeróbicos y aeróbicos facultativos, anaeróbicos obligados, cocos Gram-negativos, aeróbicos y anaeróbicos, bacterias reductoras de sulfato y de azufre, rickettsias y clamidias, micoplasmas.
<b>Volumen II 1986</b>	<b>Bacterias Gram-positivas de importancia médica y comercial:</b> cocos Gram-positivos, formadores y no formadores de esporas, micobacterias y actinomicetos no filamentosos.
<b>Volumen III 1989</b>	<b>Bacterias Gram-negativas restantes:</b> bacterias deslizantes, fototróficas, cubiertas, formadoras de yemas y apendiculadas, cianobacterias, bacterias litotróficas y las arqueobacterias.
<b>Volumen IV 1989</b>	<b>Actinomicetos filamentosos y bacterias relacionadas.</b>

La lista detallada de géneros en el Manual de *Bergey de Bacteriología Sistemática* es la siguiente:

<p><b>Volumen I</b></p> <p><b>SECCIÓN 1</b> <b>Las espiroquetas</b> <b>Orden I: Spiroquetales</b> Familia I. Spirochaetaceae Género I: <i>Spirochaeta</i> Género II: <i>Cristispira</i> Género III: <i>Treponema</i> Género IV: <i>Borrelia</i> Familia II: Leptospiraceae Género: <i>Leptospira</i> <b>Otros organismos</b> Espiroquetas del intestino posterior de termitas y <i>Cryptocercus punctulatus</i></p> <p><b>SECCIÓN 2</b> <b>Bacterias aeróbicas microaerófilas, mótils, helicoidales/vibrioides</b></p>	<p><b>gramnegativas</b> Género: <i>Aquaspirillum</i> Género: <i>Spirillum</i> Género: <i>Azospirillum</i> Género: <i>Oceanospirillum</i> Género: <i>Campylobacter</i> Género: <i>Bdellovibrio</i> Género: <i>Vampirovibrio</i></p> <p><b>SECCIÓN 3</b> <b>Bacterias no mótils (o raramente mótils), gramnegativas, curvas</b> Familia I: Spirosomaceae Género: <i>Spirosoma</i> Género: <i>Runella</i> Género: <i>Flectobacillus</i> <b>Otros géneros</b> Género: <i>Microcyclus</i> Género: <i>Meniscus</i> Género: <i>Brachyarcus</i></p>	<p>Género: <i>Pelosigma</i> <b>SECCIÓN 4</b> <b>Bacilos y cocos gramnegativos aeróbicos</b> Familia I: Pseudomonadaceae Género: <i>Pseudomonas</i> Género: <i>Xanthomonas</i> Género: <i>Frateuria</i> Género: <i>Zooglea</i> Familia II: Azotobacteraceae Género: <i>Azotobacter</i> Género: <i>Azomonas</i> Familia III: Rhizobiaceae Género: <i>Rhizobium</i> Género: <i>Bradyrhizobium</i> Género: <i>Agrobacterium</i> Género: <i>Philobacterium</i> Familia IV:</p>
--	---	---





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA



MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	225 / 320

Methylococcaceae  
 Género: *Methylococcus*  
 Género: *Methylomonas*  
 Familia V: Halobacteriaceae  
 Género: *Halobacterium*  
 Género: *Halococcus*  
 Familia  
 VI: Acetobacteraceae  
 Género: *Acetobacter*  
 Género: *Gluconobacter*  
 Familia VII: Legionellaceae  
 Género: *Legionella*  
 Familia VIII: Neisseria  
 Género: *Neisseria*  
 Género: *Moraxella*  
 Género: *Acinetobacter*  
 Género: *Kingella*  
**Otros géneros**  
 Género: *Beijerinckia*  
 Género: *Ferxia*  
 Género: *Xanthobacter*  
 Género: *Thermus*  
 Género: *Halomonas*  
 Género: *Alteromonas*  
 Género: *Flavobacterium*  
 Género: *Alcaligenes*  
 Género: *Serpens*  
 Género: *Janthinobacterium*  
 Género: *Brucella*  
 Género: *Bordetella*  
 Género: *Francisella*  
 Género: *Lampropedia*

**SECCIÓN 5**  
**Bacilos gramnegativos aeróbicos facultativos**  
 Familia:  
 Enterobacteriaceae  
 Género: *Escherichia*  
 Género: *Shigella*  
 Género: *Salmonella*  
 Género: *Citrobacter*  
 Género: *Klebsiella*  
 Género: *Enterobacter*  
 Género: *Erwinia*  
 Género: *Serratia*

Género: *Hafnia*  
 Género: *Edwardsiella*  
 Género: *Proteus*  
 Género: *Providencia*  
 Género: *Morganella*  
 Género: *Yersinia*  
**Otros géneros de la familia**  
 Género: *Obseumbacterium*  
 Género: *Xenorhabdus*  
 Género: *Kluyvera*  
 Género: *Cedecea*  
 Género: *Tatumella*  
 Familia II: Vibrionaceae  
 Género: *Vibrio*  
 Género: *Photobacterium*  
 Género: *Aeromonas*  
 Género: *Plesiomonas*  
 Familia III: Pasteurillaceae  
 Género: *Pasteurella*  
 Género: *Haemophilus*  
 Género: *Actinobacillus*  
**Otros géneros**  
 Género: *Zymomonas*  
 Género: *Chromobacterium*  
 Género:  
*Valymmatobacterium*  
 Género: *Gardnerella*  
 Género: *Eikenella*  
 Género: *Streptobacillus*

**SECCIÓN 6**  
**Bacilos anaeróbicos gramnegativos rectos, curvos y helicoidales**  
 Familia: Bacteroidaceae  
 Género: *Bacteroides*  
 Género: *Fusobacterium*  
 Género: *Leptotrichia*  
 Género: *Butyrovibrio*  
 Género: *Succinomonas*  
 Género: *Succinivibrio*  
 Género: *Anaerobiospirillum*  
 Género: *Wolinella*  
 Género: *Selenomonas*  
 Género: *Anaerovibrio*

Género: *Pectinatus*  
 Género: *Acetivibrio*  
 Género: *Lachnospira*  
**SECCIÓN 7**  
**Bacterias reductoras desasimilativas de sulfato -o de azufre**  
 Género: *Desulfuromonas*  
 Género: *Desulfovibrio*  
 Género: *Desulfomonas*  
 Género: *Desulfococcus*  
 Género: *Desulfobacter*  
 Género: *Desulfobulbus*  
 Género: *Desulfosarcina*

**SECCIÓN 8**  
**Cocos anaeróbicos gramnegativos**  
 Familia: Vellonellaceae  
 Género: *Veillonella*  
 Género: *Acidaminococcus*  
 Género: *Megasphaera*

**SECCIÓN 9**  
**Rickettsias y clamidias**  
**Orden I: Rickettsiales**  
 Familia I: Rickettsiaceae  
 Tribu I: Rickettsieae  
 Género: *Rickettsia*  
 Género: *Rochalimaca*  
 Género: *Coxiella*  
 Tribu II: Ehrlichieae  
 Género: *Ehrlichia*  
 Género: *Cawdria*  
 Género: *Neorickettsia*  
 Tribu III: Wolbachieae  
 Género: *Wolbachia*  
 Género: *Rickettsiella*  
 Familia II: Bartonellaceae  
 Género: *Bartonella*  
 Género: *Grahamella*  
 Familia III:  
 Anaplasmataceae  
 Género: *Anaplasma*  
 Género: *Aegyptianella*  
 Género: *Haemobartonella*  
 Género: *Eperythrozoon*



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA



MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	226 / 320

**Orden II: Chlamidiales**

Familia I: Chlamydiaceae

Género: *Chlamydia*

**SECCIÓN 10**

**Los micoplasmas**

**Orden I: Mycoplasmales**

Familia I: Mycoplasma-  
taceae

Género: *Mycoplasma*

Género: *Ureaplasma*

Familia II:

Archaeoplasmataceae

Género: *Acholeplasma*

Familia III:

Spiroplasmataceae

Género: *Spiroplasma*

**Otros géneros**

Género: *Anaeroplasma*

Género: *Thermoplasma*

Organismos parecidos a  
*Mycoplasma* de plantas e  
invertebrados

**SECCIÓN 11**

**Endosimbiontes (ES)**

A: ES de protozoos

ES de ciliados

ES de flagelados

ES de amibas

Taxa de endosimbiontes

Género: *Holospora*

Género: *Caedibacter*

Género:

*Pseudocaedibacter*

Género: *Lyticium*

Género: *Tectibacter*

B: ES de insectos

Chupadores de: sangre  
jugos de plantas.

Comedores de celulosa  
y granos almacenados

Que se alimentan de  
dietas complejas.

Taxón de ES:

Género: *Blattabacterium*

C: ES de hongos e  
invertebrados no

artropodos.

Hongos

Esponjas

Celenterados

Helmintos

Anélidos

Gusanos y moluscos  
marinos.

**Volumen II**

**SECCIÓN 12**

**Cocos grampositivos**

Familia I: Micrococcaceae

Género: *Micrococcus*

Género: *Stomatococcus*

Género: *Planococcus*

Género: *Staphylococcus*

Familia II: Deinococcaceae

Género: *Deinococcus*

**Otros géneros**

Género: *Streptococcus*

Estreptococos hemolíticos  
piógenos.

Estreptococos orales

Enterococos

Estreptococos del ácido  
láctico.

Otros estreptococos.

Género: *Leuconostoc*

Género: *Pediococcus*

Género: *Aerococcus*

Género: *Gemella*

Género: *Peptococcus*

Género:

*Peptostreptococcus*

Género: *Ruminococcus*

Género: *Sarcina*

**SECCIÓN 13**

**Bacilos y cocos  
grampositivos formadores de  
endosporas**

Género: *Bacillus*

Género: *Sporolactobacillus*

Género: *Clostridium*

Género:

*Desulfotomaculum*

Género: *Sporosarcina*

Género: *Oscillospora*

**SECCIÓN 14**

**Bacilos regulares, no  
esporulantes,  
grampositivos**

Género: *Lactobacillus*

Género: *Listeria*

Género: *Erysipelothrix*

Género: *Brochothrix*

Género: *Renibacterium*

Género: *Kurthia*

Género: *Caryophanon*

**SECCIÓN 15**

**Bacilos irregulares, no  
esporulantes,  
grampositivos**

Género: *Corynebacterium*

Especies de

*Corynebacterium*

fitopatógenas

Género: *Gardnerella*

Género: *Arcanobacterium*

Género: *Arthrobacter*

Género: *Brevibacterium*

Género: *Curtobacterium*

Género: *Caseobacter*

Género: *Microbacterium*

Género: *Aureobacterium*

Género: *Cellulomonas*

Género: *Agromyces*

Género: *Arachnia*

Género: *Rothia*

Género: *Propionibacterium*

Género: *Eubacterium*

Género: *Acetobacterium*

Género: *Lachnospira*

Género: *Butyrivibrio*

Género:

*Thermoanaerobacter*



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	227 / 320

Género: *Actinomyces*  
Género: *Bifidobacterium*

**SECCIÓN 16**  
**Los micobacterias**  
Familia: Mycobacteriaceae

Fuente: Brock, 1991.

Género: *Mycobacterium*

**SECCIÓN 17**  
**Nocardioformas**  
Género: *Nocardia*  
Género: *Rhodococcus*  
Género: *Nocardioides*  
Género: *Pseudonocardia*

Género: *Perskovia*  
Género:  
*Saccharopolyspora*  
Género: *Micropolyspora*  
Género:  
*Promicromonospora*  
Género: *Intrasporangium*



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	<b>1</b>	<b>228 / 320</b>

# ANEXO B

# TINCIONES



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	229 / 320

## TINCIONES

### Tinción de Gram

Ésta es una tinción diferencial usada para demostrar las propiedades tintoriales de bacterias de todos los tipos.

Las bacterias Gram positivas retienen el colorante de cristal violeta después de la decoloración y se ven de color azul oscuro.

Las bacterias Gram negativas no son capaces de retener el colorante cristal violeta después de la decoloración y se contratiñen de color rojo con el colorante de safranina.

Las características tintoriales pueden ser atípicas en cultivos muy jóvenes, viejos, muertos o en degeneración.

#### *Técnica:*

1. Se hace un frotis delgado del material a estudiar y se deja secar al aire.
2. Se fija el material en el portaobjeto pasándolo 3 ó 4 veces a través de la llama de un mechero de modo que el material no sea lavado durante el procedimiento de tinción.
3. Se coloca el frotis sobre un soporte para tinción y se cubre la superficie con solución de cristal violeta.
4. Después de "un" minuto de exposición al cristal violeta se lava totalmente con agua destilada.
5. Se cubre el frotis con solución de yodo de Gram durante "un" minuto. Se lava nuevamente con agua.
6. Se sostiene el frotis entre los dedos pulgar e índice y se cubre la superficie con unas gotas de decolorante de alcohol y acetona hasta que no se desprenda color violeta.
7. Se lava con agua corriente y se coloca otra vez sobre el soporte. Se cubre la superficie con contratinción de safranina durante "un" minuto. Se lava con agua corriente.
8. Se coloca el preparado en posición vertical dejando que drene el exceso de agua.
9. Se examina el frotis en el microscopio.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>230 / 320</b>

*Interpretación:*

Las bacterias Gram positivas se tiñen de color azul oscuro y las bacterias Gram negativas se ven de color rojo rosado.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	231 / 320

### Shaeffer - Fulton (Tinción de esporas)

La spora se forma en alguna región de la célula bacteriana que se rodea de una cápsula muy refringente. La composición de la spora en relación con la de la célula originaria varía principalmente por su menor contenido en agua y la presencia característica de ácido dipicolínico. La resistencia a las condiciones físicas desfavorables se debe al compuesto formado por el ácido dipicolínico y sales de calcio, formando un dicoiplinato de calcio.

#### *Técnica:*

1. Cubrir la preparación con verde de malaquita, y calentar a emisión de vapores por un minuto sin dejar secar el colorante.
2. Lavar con agua corriente.
3. Cubrir la preparación con safranina durante 15 minutos.
4. Lavar con agua y dejar secar al aire.

#### *Interpretación:*

Observación: Las esporas aparecen de color verde y el citoplasma de color rojo.

### Tinción de Tinta China

La tinción de tinta china se usa ampliamente para poder llevar a cabo la observación de la presencia o ausencia de cápsula.

Principalmente este tipo de tinciones se lleva a cabo en microorganismos como *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*.

Ya que el color de la tinta china es negro esto nos va a permitir observar la cápsula pues, el alto contenido de lípidos que contiene no va a permitir la penetración del colorante en ella así que será la única parte del microorganismo no teñido.

#### *Técnica:*

1. En un portaobjetos colocar una asada del cultivo y agregar una gota pequeña de tinta china y un cubreobjetos.
2. Observar con seco fuerte y con lente de inmersión.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	232 / 320

*Interpretación:*

La presencia de la cápsula se observará como una zona transparente alrededor del microorganismo que se teñirá de negro.

### Tinción de Rojo Congo

La tinción con rojo Congo es utilizada para lograr la identificación de *K. pneumoniae*, ya que al igual que la tinción de tinta china, el colorante (rojo Congo) será el único que pueda penetrar al cuerpo del bacilo sin lograr teñir la cápsula que cubre a éste.

*Técnica:*

1. Colocar una gota de rojo Congo en un portaobjetos.
2. Hacer una suspensión con la cepa. Fijar.
3. Adicionar mordiente de cápsula por 3 min.
4. Secar y observar.

*Interpretación:*

El bacilo se observará de color rojo y la cápsula como un halo transparente.

### Tinción de Ziehl-Neelsen (tinción caliente)

Las paredes celulares de las micobacterias, debido a su alto contenido lipídico, tienen la capacidad de combinarse con el colorante carbolfucsina, resistiendo la decoloración con el alcohol ácido. Esta tinción junto con su característica forma y tamaño, constituye una valiosa ayuda para la detección precoz de infección y el control de la terapia antimicrobiana.

*Técnica:*

1. Fijar frotis al calor.
2. Agregar carbolfucsina de Ziehl-Neelsen, calentar a emisión de vapores por 5 min
3. Lavar con agua.
4. Decolorar con alcohol-ácido hasta eliminar el colorante, más o menos





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	233 / 320

durante 1 min

5. Lavar con abundante agua.
6. Agregar el colorante de contraste, azul de metileno por 30 seg.
7. Dejar secar y observar al microscopio

*Interpretación:*

Resultado positivo: bacilos color rojo ácido-resistentes

Resultado negativo: organismos de color azul no ácido-resistentes.

### **Tinción de Kinyuon (tinción fría)**

*Técnica:*

1. Fijar frotis al calor.
2. Agregar carbolfucsina-tergitol, dejar actuar durante 5 minutos. ¡No calentar!
3. Lavar con agua.
4. Decolorar con alcohol-ácido hasta eliminar el colorante, más o menos durante 1 min.
5. Lavar con abundante agua.
6. Agregar el colorante de contraste, azul de metileno por 30 seg.
7. Dejar secar y observar al microscopio.

*Interpretación:*

Resultado positivo: bacilos color rojo ácido-resistentes

Resultado negativo: organismos de color azul no ácido-resistentes.

### **Tinción de Albert**

La técnica de tinción de Albert se utiliza para la identificación del género *Corynebacterium*; ya que mediante esta tinción se puede llevar a cabo la observación de los gránulos metacromáticos característicos de esta especie.

*Técnica:*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	234 / 320

1. Teñir con el colorante de Albert por 3 a 5 min.
2. Lavar con agua corriente.
3. Cubrir con solución de lugol por 1 min.
4. Lavar con agua y dejar secar al aire.

*Interpretación:*

El citoplasma aparece de color verde y los gránulos de color azul intenso.

### **Tinción de Loeffler**

La técnica de Loeffler al igual que la de Albert, se usa para poder llevar a cabo la diferenciación del género *Corynebacterium* por medio de la presencia de los gránulos metacromáticos con ayuda del colorante de Loeffler.

*Técnica:*

1. Cubrir el frotis de azul de metileno y dejarlo durante 1 min.
2. Lavar con agua y dejar secar; observar la preparación.

*Interpretación:*

Los gránulos toman el colorante rápidamente y aparecen de color azul intenso; si se sobretiñó disminuye el contraste con el citoplasma.

### **Tinción de Azul de Algodón Lactofenol**

El ácido láctico conserva las estructuras fúngicas que destruye el fenol y que son teñidas por el azul-algodón.

*Técnica:*

Se limpia un portaobjetos de microscopio con papel cubierto de silicona y se añaden unas gotas de azul-algodón lactofenol y aparte una pequeña parte de alcohol al 95%.

Con una aguja de inoculación rígida y estéril, se toma una porción del micelio aéreo, se introduce rápidamente en la gota de alcohol y se transfiere al líquido de montaje. Usando dos agujas se desmenuza la muestra, se coloca el cubre y se examina con objetivos de poco aumento.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	235 / 320

La preparación se sella con laca de uñas.

*Interpretación:*

Los elementos fúngicos aparecen azules claros u oscuros.

### Tinción de Giemsa

En este método se reemplazan los colorantes policromáticos empíricos por distintos compuestos de azul (tionina y sus derivados metilados).

Generalmente este tipo de tinción se lleva a cabo para microorganismos intracelulares como por ejemplo: *H. capsulatum*, algunas formas de *Penicillium*, etc.

*Técnica:*

El frotis se seca al aire, se fija con metanol absoluto durante 5 min se cubre con la solución de Giemsa durante 15 a 20 min el portaobjetos se lava rápidamente con alcohol etílico 95% para quitar el exceso de colorante. Se examina para observar la presencia del típico cuerpo intracitoplasmático.

*Interpretación:*

Los cuerpos elementales se tiñen de color violeta, en tanto que los cuerpos iniciales son un poco basófilos y tienden a colorearse de azul.

## MÉTODOS DE TINCIÓN PARA PARÁSITOS SANGUÍNEOS

### Giemsa normal

El colorante Giemsa se compone de: azul de metileno, eosina, glicerina y metanol; es el más utilizado para teñir muestras de sangre en busca de protozoarios principalmente.

Para ser utilizado, el colorante se diluye a razón de 3 gotas de la solución madre (concentrada) en 2 ml. de agua destilada. Hay que cuidar que el colorante no precipite sobre la preparación, por lo que se recomienda teñir las preparaciones invertidas. La fijación del frotis delgado, con metanol o etanol, es necesaria para que la hemoglobina se fije a los eritrocitos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	236 / 320

*Técnica:*

1. Hacer un frotis delgado y otro de gota gruesa, y dejarlos secar al aire.
2. Cubrir con etanol o metanol absolutos durante 2 minutos para fijarlos.
3. Mezclar en una caja de Petri 1 ml. del colorante Giemsa concentrado con 9 ml. de agua destilada ligeramente alcalina (pH=7.0), que se logra añadiendo carbonato de sodio al 1%.
4. Colocar en posición invertida los frotis sobre el colorante durante 15 a 30 minutos.
5. Lavar las preparaciones con abundante agua destilada hasta que el frotis comience a verse de color rosa, generalmente se logra en 1 minuto.
6. Dejar secar al aire y observar al microscopio.

## Wright

Esta técnica es comúnmente utilizada para teñir frotis sanguíneos para la cuenta leucocitaria y observar parásitos de sangre.

No es necesario fijar previamente, ya que el colorante ya tiene fijador y al momento de colorear, fija.

*Técnica:*

1. Cubrir el frotis con solución de Wright durante 2 a 5 min.
2. En una caja de petri, agregar igual cantidad de agua destilada y dejar el frotis durante 5 a 15 minutos.
3. Lavar la preparación con agua corriente cuidando que se arrastre la película superficial formada por el colorante.
4. Escurrir y dejar secar al aire.
5. Observar al microscopio.

NOTA. Para utilizar este método, en frotis de gota gruesa, diluir el colorante de Wright con agua destilada 1:30.

## Coloración de Field



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	237 / 320

Este método es muy usado para teñir gota gruesa en la investigación de paludismo. Al igual que en Wright, no se necesita fijar el frotis, pero éste debe ser reciente y bien seco.

*Técnica:*

1. Sumergir el frotis durante 1 segundo en la solución No. 1.
2. Enjuagar inmediatamente con agua destilada hasta que ésta deje de salir teñida por el colorante.
3. Sumergir el frotis durante 1 segundo en la solución No. 2.
4. Enjuagar en la misma forma que el paso b.
5. Escurrir y dejar secar al aire y observar al microscopio.

Preparación de las 2 soluciones colorantes; ambas isotónicas y a pH= 6.6

Solución No. 1

Azul de metileno	0.8 g
Azur B	0.5 g
Fosfato disódico anhidro	5.0 g
Fosfato monopotásico anhidro	6.25 g
Agua destilada aforar a	500.0 ml.

Solución No. 2

Eosina	1.0 g
Fosfato disódico anhidro	5.0 g
Fosfato monopotásico anhidro	6.25 g
Agua destilada aforar a	500 ml.

Disolver primero los fosfatos en agua destilada, agregar los colorantes respectivos. Previamente se muele el Azur B en un mortero con solución de fosfato.

Se dejan reposar las soluciones de cada uno de los colorantes durante 24 hs y



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	238 / 320

luego se filtran; si posteriormente se forma nata o precipitado, es necesario filtrar de nuevo.

Las soluciones se guardan en frascos bien tapados, y se pueden utilizar varias veces; si la eosina se vuelve verde, debe prepararse colorante nuevo.

### **Tinción de Leishman:**

Leishman, es un colorante alcohólico, se utiliza para teñir protozoarios de sangre. No requiere fijación previa del frotis. Es necesario preparar cada mes el colorante.

#### *Técnica:*

1. Realizar un frotis delgado de sangre y dejar al aire a que seque.
2. Agregar el colorante sobre el frotis.
3. Mover con balanceo la preparación durante 30 seg. para fijarla.
4. Agregar agua destilada ligeramente alcalina y dejar en tinción durante 5 a 10 minutos.
5. Enjuagar con agua destilada, hasta que el frotis se vea de color rosa (aproximadamente 1 min.)
6. Dejar escurrir la preparación en posición vertical hasta que seque.
7. Observar al microscopio.

NOTA. Después de teñida y seca una preparación de sangre, se puede convertir en una preparación permanente colocando una gota de resina sintética y una de xilol sobre la preparación y colocar encima un cubreobjetos, presionando suavemente, cuidando que no queden burbujas. Dejar secar toda la noche.

### Colorante

Polvo Leishman	0.15 g
Alcohol metílico	100.0 ml.

Moler el polvo junto con el metanol en un mortero y filtrar la solución.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>239 / 320</b>



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	<b>1</b>	<b>240 / 320</b>

# ANEXO C

# MEDIOS DE

# CULTIVO





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	241 / 320

## MEDIOS DE CULTIVO

### Agar nutritivo

Es un medio no selectivo usado ampliamente en bacteriología para el cultivo de casi todos los microorganismos. Ya que contiene una gran cantidad de nutrientes proporciona las condiciones óptimas de crecimiento para "cualquier" microorganismo.

#### *Técnica:*

La inoculación primaria puede hacerse con un asa, hisopo u otros dispositivos adecuados. Una vez hecho el inóculo primario, puede usarse un alambre en asa o recto para diseminar el material en los cuadrantes de la placa. El inóculo se disemina con un movimiento hacia atrás y hacia adelante en cada cuadrante girando la placa a 90°. El propósito de esta técnica consiste en diluir el inóculo en forma suficiente en la superficie del agar como para que sea posible obtener colonias.

Incubar a 37°C por 18 a 24 hs.

#### *Interpretación:*

La interpretación de cultivos primarios después de 24 ó 48 hs de incubación a 37°C requiere una considerable habilidad. A partir de las observaciones iniciales se debe evaluar el crecimiento de las colonias y decidir si son necesarios procedimientos adicionales.

- Observando las características y el número relativo de cada tipo de colonia recuperado en medios de agar;
- Determinando la pureza, coloración de Gram y morfología de las bacterias en cada tipo de colonia; y
- Observando cambios en el medio que rodea las colonias, que reflejan actividades metabólicas específicas de las bacterias recuperadas.

### Agar de Soya Trypticasa

El agar de soya tripticasa es un medio para todas las finalidades, hecho de la digestión pancreática de caseína más peptona de semilla de soya. Facilita el crecimiento de la mayoría de las bacterias que se encuentran en microbiología médica.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	242 / 320

*Técnica:*

Incubar de preferencia a 37°C durante 18 a 24 hs.

*Interpretación:*

Este medio permite la multiplicación abundante y satisfactoria de gérmenes como estreptococos, neumococos, *Neisseria*, *Brucella*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Pasteurella*, *Vibrio*, *Haemophilus*, *Candida*, etc.

**Agar Sangre de Carnero (ASC 5%)**

La base de agar sangre es adecuada para aislar y cultivar diversos microorganismos de difícil crecimiento. Al añadir sangre, puede usarse para descubrir la actividad hemolítica.

*Técnica:*

La descrita en: agar nutritivo.

Incubar de preferencia a 37°C durante 18 a 24 hs.

*Interpretación:*

La interpretación de cultivos primarios después de 24 ó 48 hs de incubación a 37°C requiere una considerable habilidad. A partir de las observaciones iniciales se debe evaluar el crecimiento de las colonias y decidir si son necesarios procedimientos adicionales.

Observando las características y el número relativo de cada tipo de colonia recuperado en medios de agar.

Determinando la pureza, coloración de Gram y morfología de las bacterias en cada tipo de colonia.

Observando cambios en el medio que rodea las colonias, que reflejan actividades metabólicas específicas de las bacterias recuperadas.

**Agar Mueller-Hinton**

Medio de cultivo que se utiliza para pruebas de sensibilidad a antibióticos y cultivo de *Neisseria*.

Es un medio rico en nutrientes que se recomienda para el aislamiento y desarrollo de gonococos y meningococos. También se emplea sobre todo, en las pruebas de



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	243 / 320

sensibilidad (antibiogramas).

Para este medio se requiere un tiempo de incubación de 12 a 18 hs en atmósfera de CO<sub>2</sub>; lo cual puede llevarse a cabo mediante el uso de una vela encendida cerrando herméticamente el frasco.

Para realizar una prueba de sensibilidad a antibióticos (discos comerciales) debe realizarse un cultivo masivo.

### **Agar Chapman (Agar S-110 Selectivo para *Staphylococcus*)**

Medio selectivo para la diferenciación y aislamiento del género *Staphylococcus*.

Sólo esos microorganismos son capaces de crecer en un medio de alta concentración de cloruro de sodio.

#### *Técnica:*

La descrita en agar nutritivo.

Incubar de preferencia a 37°C durante 18 a 24 hs.

El agar para Estafilococos No.110 se emplea para aislar estafilococos de procesos purulentos, casos de neumonía, meningitis, forunculosis, uretritis, vaginitis, etc.

#### *Interpretación:*

La mayoría de las especies forman colonias relativamente grandes, de 2-3 mm, después de 24 hs de incubación, o hasta de 7 mm después de 48 a 72 hs de incubación. Son colonias opacas, convexas, tienen consistencia cremosa y son blancas o muestran una variada gama de tonos amarillos, en particular después de incubación prolongada.

### **Agar Sal y Manitol**

El agar manitol salado es un medio altamente selectivo para el aislamiento de estafilococos patógenos en cultivos mixtos.

Este medio aprovecha la capacidad de los estafilococos de desarrollar en presencia de cloruro de sodio al 7.5 %, y la del *S. aureus* de fermentar manitol. Las colonias de *S. aureus* desarrollan bien en el medio, formando un halo amarillo en el agar circundante, que indica la producción de ácido a partir del manitol.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	244 / 320

*Técnica:*

La descrita en: agar nutritivo.

Incubar de preferencia a 37°C durante 24 a 36 hs.

*Interpretación:*

La degradación del manitol con producción de ácido cambia el color del medio, de rosado a amarillo. Las colonias de estafilococos no patógenas aparecen de tamaño pequeño y rodeadas de una zona roja; en cambio, las colonias de estafilococos patógenos fermentadores de manitol, dan colonias más grandes y rodeadas de una zona amarilla.

### **Agar de Vogel-Johnson**

El agar de Vogel-Johnson es un agar-manitol salado modificado, con telurito de potasio, selectivo para la recuperación e identificación de *S. aureus*.

*Técnica:*

La descrita en: agar nutritivo.

Incubar a 35 – 37°C por 24 a 30 hs.

*Interpretación:*

Los estafilococos coagulasa positivos forman pequeñas colonias negras en las placas rojas. Si hay fermentación del manitol, las colonias aparecen rodeadas por zonas amarillas debido a la formación de ácido del manitol. Si no hay fermentación del manitol, no se observa ninguna zona amarilla y el color del medio alrededor de las colonias pueden ser aun más rojo de lo normal.

### **Agar de MacConkey**

El agar de MacConkey es un medio selectivo de aislamiento primario que habitualmente se emplea para la diferenciación presuntiva de miembros fermentadores de lactosa y no fermentadores de lactosa de la familia *Enterobacteriaceae*.

*Técnica:*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	245 / 320

La descrita en: agar nutritivo.

Incubarse a 35°C de 18 a 24 hs.

*Interpretación:*

Las Enterobacterias fermentadoras de la lactosa bajan el pH del medio, que es un indicador rojo neutro dando colonias rojas o rosadas. Las no fermentadoras de la lactosa dan colonias transparentes, incoloras o ambarinas.

También pueden crecer bacilos Gram negativos que no pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* como *Pseudomonas* y *Aeromonas*. Así mismo, pueden desarrollarse en número reducido colonias puntiformes de *Streptococos* (enterococos) de color rojo y de algunos *Estafilococos* cuyas colonias son pequeñas, opacas de color rosa pálido.

**Agar EMB (Eosina - Azul de Metileno)**

El agar EMB es un medio selectivo de aislamiento primario que habitualmente se emplea para la diferenciación presuntiva de miembros fermentadores de lactosa y no fermentadores de lactosa de la familia *Enterobacteriaceae*.

*Técnica:*

La descrita en: agar nutritivo.

Incubar a 37°C por 18 a 24 hs.

*Interpretación:*

En el agar EMB, los fermentadores de lactosa intensos se ven con un brillo verde, con producción de suficiente ácido como para llevar el pH a aproximadamente 4.5.

*Características de las colonias:*

*Escherichia coli*.- De 2 a 3 mm de diámetro. Azul negras en la parte central y bordes claros a la luz transmitida. Presentan un brillo metálico verdoso a la luz reflejada.

*Salmonella* y *Shigella*.- Transparentes, ambarinas hasta incoloras.

*Proteus sp.*- Cuando no hay Swarming, semejantes a *Salmonella* y *Shigella*.

*Estafilococos* coagulasa-positivos.- Puntiformes, incoloras.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	246 / 320

### **Agar *Salmonella* y *Shigella***

Es un medio diferencial selectivo muy empleado en Bacteriología Sanitaria para aislar *Salmonella* y *Shigella*, a partir de heces, orina y alimentos diversos, tanto frescos como enlatados. La inhibición de bacterias Gram positivas se obtiene por una mezcla de sales biliares.

#### *Técnica:*

La descrita en: agar nutritivo.

Incubar a 37°C de 18 a 24 hs.

#### *Interpretación:*

Las bacterias no fermentadoras de la lactosa (supuestamente patógenas) dan colonias claras, transparentes e incoloras, en cambio los coliformes que son bastante inhibidos, forman colonias bastante pequeñas que varían del rosa al rojo.

Las bacterias formadoras de sulfuros dan colonias que presentan un centro negro y un halo claro alrededor como *Proteus* y algunas especies de *Salmonella*.

### **Agar Sulfito y Bismuto**

Es un medio de Wilson y Blair modificado y altamente selectivo para aislar *Salmonella typhi*, así como otros bacilos entéricos, de heces, aguas negras, aguas de bebidas y diversos alimentos.

#### *Técnica:*

Por lo común, el agar Sulfito de Bismuto se siembra por estría superficial tratando de obtener colonias muy bien aisladas.

Pueden hacerse inoculaciones por vaciado de una suspensión de heces como del 10% en agua destilada o en solución salina estéril. Vaciar aproximadamente 5 ml de suspensión en no menos de 20 ml del medio previamente fundido y enfriado. Mezclar perfectamente, dejar que solidifique e incubar de 24 a 48 hs a 37°C.

#### *Interpretación:*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	247 / 320

### Características de las colonias

*Salmonella Typha*.- Elevadas con centro negro, bordes claros y translúcidos. Colonias en "ojo de pescado o de conejo". Se vuelven uniformemente negras a las 48 hs. Entre las 18 a 24 hs se forma en el medio de cultivo un halo negro grisáceo y brillo metálico rodeando la colonia.

Otras *Salmonellas*.- Elevadas y generalmente más pequeñas que las de *S. typhi*. Negras, si producen ácido sulfhídrico. Halo negro grisáceo con brillo metálico después de 36 a 48 hs de incubación. Café pardas, si forman sulfuros como *S. paratyphi*. Pequeñas y pardas como *S. choleraesuis* y *S. gallinarum*, que son bastante inhibidas.

*Arizona* y *Citrobacter*.- Grandes, elevadas, negras grisáceas, como gotitas de plomo. Halo gris negro y con brillo metálico. Las cepas no fermentadoras de la lactosa varían del verde al café.

Coliformes, *Proteus*.- Desarrollo ocasional. Colonias que pueden ser verdes, cafés y aún negras. Estas últimas más pequeñas que *S. typhi* y por lo general sin brillo metálico en el medio que rodea a la colonia.

*Shigella*.- Casi todas inhibidas. En el caso de crecer, *Sh. flexneri* y *Sh. sonnei* son de color café, deprimidas en el centro y con bordes elevados (crateriformes).

Es un medio altamente selectivo empleado para aislar *Salmonella* (excepto *Salmonella typhi* y *Shigella*), de heces, orina, leche y productos lácteos y de otros alimentos de importancia sanitaria.

#### Técnica:

Debido a que es un medio fuertemente inhibitorio, inocule las placas con una asada bien cargada con el material en estudio. Cuando se sospecha que el material en estudio contiene bajas concentraciones de *Salmonella*, es necesario inocular la muestra inicialmente en Caldo Tetratoato o Caldo Selenito-Cistina.

Incubar a 37 °C por 24 a 48 hs.

#### Interpretación:

Los gérmenes que degradan la lactosa son inhibidos completamente, presentando algunas de las cepas no inhibidas, colonias verde amarillentas, opacas y rodeadas de un halo amarillento. Los microorganismos lactosa negativos, como *Salmonella* y ocasionalmente *Proteus*, forman colonias de color rosa pálido, transparentes y rodeadas de un halo rojo brillante. Algunas colonias de *Proteus* forman colonias rojas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	248 / 320

## Agar XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato)

Es un medio que se emplea para el aislamiento de bacterias enteropatógenas, especialmente de los géneros *Shigella*, *Salmonella* y *Arizona*

### *Técnica:*

La descrita en: agar nutritivo.

Incubar a 37°C de 18 a 24 hs.

### *Interpretación:*

En el agar XLD es posible obtener las siguientes reacciones de diferenciación: La degradación de xilosa, lactosa y sacarosa, con producción de ácido, se manifiesta por un cambio de color del rojo de fenol a amarillo. El tiosulfato sirve como sustancia reaccionante y la sal de hierro como indicador de la formación de sulfuro de hidrógeno. Las bacterias que descarboxilan la lisina a cadaverina, se reconocen por la presencia de un color rojo púrpura alrededor de las colonias, lo cual se debe a la elevación del pH.

Características de las colonias:

*Arizona*.- Rojas y transparentes con el centro negro.

*Citrobacter*.- Amarillas y opacas. Pueden presentar un centro negro y bordes claros.

*Edwarsiella*.- Rojas con el centro negro y bordes claros.

*E. coli*, *Enterobacter* y *Serratia*.- Amarillas y opacas. Halo de precipitado amarillo alrededor de las colonias.

*Klebsiella*.- Grandes amarillas pálidas, mucoides y opacas. Halo de precipitado amarillo rodeando a la colonia.

*P. mirabilis* y *P. Vulgaris*.- Amarillas, transparentes con bordes claros. Centro negro.

*Providencia* y *Shigella*.- Rojas y transparentes.

*Salmonella*.- Rojas transparentes y bordes amarillos con centro negro si producen ácido sulfhídrico. Sin centro negro si no son productoras de ácido sulfhídrico.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	249 / 320

## Agar Entérico Hektoen

El agar entérico de Hektoen es usado para el aislamiento y diferenciación de patógenos entéricos, como *Salmonella*, *Shigellas* y otras enterobacterias.

### Técnica:

La descrita en: agar nutritivo.

Incubar a 37°C de 18 a 24 hs.

### Interpretación :

Las colonias de coliformes son de color salmón a naranja mientras que *Salmonella* y *Shigella* son de verde a azul verdoso.

El *Proteus* puede no ser inhibido pero produce una colonia verde amarillenta cuando hay crecimiento. Las colonias de *Proteus* y *Salmonella* pueden presentar un centro negro si forman H<sub>2</sub>S.

## Base de Caldo Tetracionato

Es un medio líquido selectivo y de enriquecimiento, empleado para aislar *Salmonella* provenientes de heces, aguas de albañal y alimentos, etc.

### Técnica:

Inmediatamente antes de la inoculación, agregar 0.2 ml de solución iodo-ioduro.

El tubo debe inclinarse con un ángulo de aproximadamente 30°, con un asa de inoculación se toca la superficie interna del vidrio, exactamente por encima del punto donde la superficie del medio forma un ángulo agudo. Cuando el tubo se vuelve a colocar en posición erecta, el área de inoculación queda sumergida en el medio.

Incubarse a 37°C durante 12 a 24 hs. Inocular a cada 10 ml del medio uno a dos gramos de heces o del espécimen en estudio.

### Interpretación:

El crecimiento es indicado por la turbidez del medio. Subcultive en placas de



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	250 / 320

medios selectivos y diferenciales para realizar el aislamiento.

Los gérmenes que reducen el tetrionato, como *Salmonella*, proliferan en este medio, los *Proteus* también lo reducen disminuyendo por lo tanto la eficiencia del medio. Esta desventaja puede reducirse grandemente agregando cuatro microgramos de novobiocina por cada mililitro del medio antes de agregar la solución de yodo.

### Caldo de Selenito de Sodio

El caldo de Selenito de Sodio es más selectivo para el aislamiento de *Salmonella*. Se recomienda el uso de este medio de enriquecimiento para la transportación de especímenes de *Vibrio cholerae* ya que éstos sobreviven de 2 a 5 días en el Caldo Selenito de Sodio.

#### Técnica:

La descrita en: base de caldo tetrionato.

Incubar de 16 a 18 hs a 43°C en vez de 37°C.

#### Interpretación :

Ya que es un medio de enriquecimiento selectivo; después del tiempo de incubación sólo se observará una turbidez del medio, lo que indicará que el crecimiento del espécimen en estudio se ha desarrollado lo suficiente para poder llevar a cabo la siembra en los medios de cultivo en placa.

### Agar Cetrimida

El agar cetrimida tiene usos principalmente para el aislamiento e identificación del género *Pseudomonas* (principalmente *P. aeruginosa*); ya que sobre la base de este agar se promueve tanto la producción de la pirocianina como la fluoresceína. Esta última sólo puede observarse bajo una lámpara de luz ultravioleta.

#### Técnica:

La descrita en: agar nutritivo.

Incubar a 37°C por 18 a 24 hs.

#### Interpretación :



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	251 / 320

La base de Agar cetrimida promueve tanto la producción de piocianina como la fluoresceína, bajo la luz ultravioleta, en los cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*, lo cual puede considerarse como prueba presuntiva para su identificación.

### **Agar Brewer**

Este medio de cultivo se utiliza principalmente para el cultivo de microorganismos que crecen en medios de anaerobiosis; lo cual es permitido por su contenido rico en tioglicolato.

#### *Técnica:*

La descrita en: agar nutritivo

Incubar a 37°C por 18 a 24 hs.

#### *Interpretación:*

Las colonias de microorganismos anaerobios son grandes (3 a 10 mm), amorfas de color grisáceo, borde irregular.

### **Caldo BHI (Infusión cerebro corazón)**

Este es un caldo que por su alto contenido de nutrientes proporciona un medio adecuado para permitir el crecimiento de "todos los microorganismos". Dentro de los usos que se le ha dado son para poder observar el crecimiento de *Pseudomonas* a 4 y 42°C; lo cual nos va a permitir realizar una diferenciación de especies; otra de las formas en que se utiliza es para preparar suspensiones de bacterias y poder realizar así los análisis necesarios para llegar a su identificación.

#### *Técnica:*

La descrita en: base de caldo tetrionato.

#### *Interpretación:*

Los gérmenes anaerobios se desarrollan en el fondo del tubo; los microaerófilos en la parte de media y los aerobios en la capa superficial. Se recomienda prolongar la incubación hasta 8 días y hacer tinciones de frotis a diversos intervalos de tiempo.

### **Medio de Tioglicolato Enriquecido (THIO)**



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	252 / 320

El THIO es un medio líquido enriquecido que se prepara suplementando el medio de tioglicolato BBL-0135C (sin indicador) con hemina y vitamina K1.

Este es un caldo no inhibitorio, especialmente útil para el aislamiento de actinomicetos. También es un excelente complemento para respaldar los medios de agar sólidos para aislamiento de microorganismos de crecimiento lento o exigentes. Permite el crecimiento de casi todos los anaerobios comúnmente encontrados en los materiales clínicos.

*Técnica:*

La descrita en: base de caldo tetratonato.

*Interpretación:*

Los gérmenes anaerobios se desarrollan en el fondo del tubo; los microaerófilos en la parte de media y los aerobios en la capa superficial. Se recomienda prolongar la incubación hasta 8 días y hacer tinciones de frotis a diversos intervalos de tiempo.

### **Medio de Loeffler**

Ampliamente usado para el cultivo de bacilos diftéricos y de gérmenes exigentes. Muy útil en el estudio de *Moraxella lacunata*.

El medio de suero de Loeffler es comúnmente usado para la identificación de *Corynebacterium*. Los microorganismos antes mencionados presentan sus caracteres morfológicos y fisiológicos originales típicos. Se le emplea para restaurar por ejemplo : las propiedades tintoriales, morfología colonial, cromogénesis y virulencia causada cuando se ha llevado a cabo la resiembra varias veces.

*Técnica:*

La descrita en: agar nutritivo.

*Interpretación:*

La morfología de *Corynebacterium* en este medio no es de gran utilidad en cuanto a su diferenciación; de los tres tipos de *Corynebacterium*; así que, la morfología colonial que presentan es muy semejante.

Las colonias son de color blanco-amarillas, convexas, cremosas, pero pueden



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	253 / 320

presentar consistencia seca, opacas, mate, circulares. El tamaño dependerá del tipo de *Corynebacterium* que se trate.

### Medio de Lowenstein-Jensen

El medio de Lowenstein-Jensen es utilizado para la identificación del género *Mycobacterium*. Es un medio altamente enriquecido ya que contiene huevos enteros frescos, sales definidas, glicerol y harina de papas, además de contener el verde de malaquita para inhibir que crezcan otro tipo de microorganismos.

#### Técnica:

El medio puede presentarse tanto en tubo como en placa.

Si es en tubo, el inóculo debe ser abundante, ya que su crecimiento es muy lento.

Si es un medio en placa debe realizarse por estría cruzada, esterilizando entre cada cuadrante para permitir su diseminación, y obtener colonias aisladas.

#### Interpretación:

Incubar durante 5 a 7 días a una temperatura de 37°C.

Aquí el tiempo de incubación dependerá de la especie de *Mycobacterium* que se trate.

Las colonias que se presentan son de color ante, tienen una consistencia polvosa, compacta, convexas, borde irregular.

### Agar Dextrosa-Papa (PDA)

Este medio además de ser utilizado para el crecimiento de cualquier tipo de hongo, ya que su alto contenido de nutrientes así lo permite, su propósito principal es permitir la producción de pigmento por *T. rubrum*.

#### Técnica:

Se toma una pequeña cantidad de muestra para cultivarla y se hacen 2 ó 3 cortes en la superficie del medio. Se incuban a 22°C.

Se examinan los cultivos cada 24 hs para observar las colonias jóvenes.

#### Interpretación:

La morfología que presentará el hongo en estudio, dependerá del género y de la



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	254 / 320

especie de que se trate. El crecimiento característico de hongos es en forma radial, pueden ser de aspecto algodonoso, polvoso, compacto y con presencia o no de pigmentación.

### **Agar Sabouraud**

Es un medio estándar en las investigaciones de hongos y levaduras.

Por su alto contenido de nutrientes puede crecer cualquier tipo de hongo.

#### *Técnica:*

Ya que es un medio sólido inclinado, la inoculación debe realizarse por punción sobre el medio. Hay que aclarar que esta punción no debe ser muy profunda, ya que el crecimiento del hongo podría inhibirse.

Incubar a temperatura ambiente (25° a 28°C) durante 5 a 8 días.

#### *Interpretación:*

La morfología que presentará el hongo en estudio, dependerá del género y de la especie de que se trate. El crecimiento característico de hongos es en forma radial, puede ser de aspecto algodonoso, polvoso, compacto y con presencia o no de coloración.

### **Agar Corn-Meal**

Este tipo de medio es utilizado para la obtención específicamente de clamidosporos; ya que sus componentes así lo permiten.

#### *Técnica:*

Ya que es un medio sólido en placa, la inoculación debe realizarse mediante el uso de una asa para poder diseminar perfectamente el microorganismo en estudio; permitiendo así que pueda llevarse a cabo el crecimiento de las levaduras, que pudieran encontrarse en la muestra. Es recomendable realizar estrías rectas que queden separadas y que corten el medio para favorecer la desecación del medio y en consecuencia la formación de clamidosporos.

Incubar a 37°C durante 24-48 hs.

#### *Interpretación:*

La morfología que presentará la levadura, dependerá del género y de la especie de que se trate.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	255 / 320

El crecimiento característico generalmente se va a presentar como colonias cremosas, amarillentas, convexas, circulares, grandes, borde entero.

### **CLED o CLDE o Brocalin**

#### *Técnica:*

La muestra de orina homogenizada se toma con un asa calibrada (5  $\mu$ l) se disemina en tres sentidos sobre una placa de CLED.

Incubar a 37 °C por 18 a 24 hs.

Realizar el recuento de colonias.

#### *Interpretación:*

La deficiencia en electrolitos disminuye el fenómeno de diseminación o *swarming* de las cepas de *Proteus*, permitiendo de ese modo el recuento de colonias. La presencia de lactosa y un indicador de pH (azul de bromotimol) permite la diferenciación entre colonias fermentadoras y no fermentadoras de este disacárido.

### **Medio de Ruíz Castañeda \***

El método de Castañeda, es aquel, en el cual la sangre se siembra en un frasco con medio líquido y medio sólido, es el procedimiento de elección por su facilidad para las resiembras y su seguridad frente a las contaminaciones tanto del propio medio como del personal.

#### *Técnica:*

Como el cultivo en este caso es cerrado, lo que hay que hacer es obtener la muestra de sangre del paciente, aproximadamente 10 ml, mediante una jeringa o directamente con un sistema Vacutainer y depositar la sangre obtenida introduciendo la aguja en el tapón de hule que cubre la botella. Incubar durante a 37°C en forma inclinada durante 24- 48 hs.

#### *Interpretación:*

Hemocultivo positivo: Las botellas deben examinarse macroscópicamente el día en que se inocularon y diariamente a continuación en búsqueda de turbidez, hemólisis o formación de gases o de colonias. Ante la presencia de alguno de estos signos, debe hacerse subcultivos en medios adecuados para aislar el



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	256 / 320

organismo visto en un frotis del medio teñido con Gram.

Resultado negativo: sólo se descartará el hemocultivo cuando no hay indicios de algún crecimiento en las 2 semanas posteriores a su cultivo.

\* El doctor Maximiliano Ruiz Castañeda originario de Acambay, Edo. de México, nació el 5 de diciembre de 1898 y murió en 1990. Se trata de un mexicano excepcional, un sabio que destaca en la investigación médica. Fue uno de los investigadores mexicanos más distinguidos internacionalmente por sus contribuciones en beneficio de la humanidad. Investigó sobre la brucelosis y la fiebre de malta y creó la botella "medio doble Castañeda" para hemocultivo. Su reconocimiento mundial no sólo había sido logrado por la vacuna para el tifo exantemático, sino también por haber logrado, mediante un ingenioso método, el aislamiento de Brucelas en sus tres variedades (*bovis*, *abortus*, *suis*). El medio es sólido y líquido y se utiliza en forma inclinada, de tal suerte que el aislamiento del germen crece en la fase líquida y posteriormente emigra hacia la porción sólida constituida por agar para formar colonias. Este ingenioso método y medio de cultivo, se le conoce internacionalmente como "*Castaneda medium*".





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	257 / 320

# ANEXO D

# PRUEBAS

# BIOQUÍMICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	258 / 320

## PRUEBAS BIOQUÍMICAS

### Fermentación de los hidratos de carbono más rojo de fenol

Determinar la capacidad de un organismo de fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado a un medio básico, produciendo ácido.

#### *Técnica:*

El tubo debe inclinarse con un ángulo de aproximadamente 30°, con un asa de inoculación se toca la superficie interna del vidrio, exactamente por encima del punto donde la superficie del medio forma un ángulo agudo. Cuando el tubo se vuelve a colocar en posición erecta, el área de inoculación queda sumergida en el medio.

#### *Interpretación:*

- a) Amarillo (positivo) ácido
- b) Anaranjado (retardada) "volver a incubar"
- c) Rojo (negativo) alcalino

### TSI (Agar - Hierro - Triple Azúcar)

Determinar la capacidad de un organismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de posible producción de ácido sulfhídrico

#### *Técnica:*

Los picos de flauta (planos inclinados) de agar se inoculan primero atravesando todo el fondo del agar con el alambre de inoculación y luego éste se retira con un movimiento en "S" a través del agar que disemina el inóculo.

Incubación a 35°C durante 18 a 24 hs.

#### *Interpretación:*

- A) Utilización del nitrato de carbono
  - 1) Fermentación de la glucosa solamente
    - a) En pico de flauta: reacción alcalina. Color rojo
    - b) Capa profunda: reacción ácida. Color amarillo
      - i) Si también se produce gas (ácido sulfhídrico) el precipitado negro puede ocultar la acidez



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	259 / 320

- ii) Existe acidez en la capa profunda, que se registra como tal
- 2) Fermentación, tanto de la glucosa como de la lactosa
  - a) Pico de flauta: reacción ácida. Color amarillo
  - b) Capa profunda: reacción ácida. Color amarillo
- 3) No fermentación de la glucosa ni de la lactosa (no entéricos)
  - a) Pico de flauta: reacción alcalina. Color rojo
  - b) Capa profunda: organismo aeróbico. No hay cambio de color, organismo facultativo. Reacción alcalina. Color rojo.
- B) Producción de gas
  - 1) aerogénico
    - a) Producción de gases: CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>
    - b) Se manifiesta por: una sola burbuja de gas, burbujas en el medio. Desplazamiento completo del medio del fondo del tubo.

## Hugh - Leifson

Su principio es determinar el metabolismo oxidativo o fermentativo de determinado hidrato de carbono.

### *Técnica:*

Es un agar semisólido adecuado también para pruebas de motilidad.

Cuando se inocula agar semisólido en un tubo para pruebas de motilidad, es importante que el alambre de inoculación sea retirado a lo largo del mismo camino que se usó para atravesar inicialmente el medio. Un movimiento en abanico puede dar como resultado un patrón de crecimiento a lo largo de la línea de entrada que puede interpretarse erróneamente como motilidad bacteriana.

Los tubos (abierto y sellado) se incuban a 35°C hasta 4d y se examinan diariamente para observar la producción de ácido que se detecta por el cambio del indicador azul de bromotimol de verde a amarillo.

### *Interpretación:*

#### OXIDACION

- A) Tubo abierto
- Tubo sellado

- Amarillo (A)
- Verde (N)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	260 / 320

### FERMENTACION

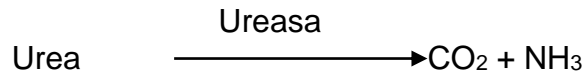
B) Tubo abierto                      Amarillo (A)  
   Tubo sellado                      Amarillo (A)

### NO UTILIZA EL CARBOHIDRATO

C) Tubos abierto y sellado       Verde o Azul (N o K)

## Urea - Christensen

La prueba de la ureasa se emplea para detectar organismos que producen una enzima, la ureasa, que actúa del siguiente modo:



### *Técnica:*

Inocular la superficie del inclinado desde el fondo, retirando el asa con un movimiento en "S".

Incubación a 35°C durante 18 a 24 horas.

### *Interpretación:*

- 1) Hidrólisis de la urea:            Rojo en todo el medio
- 2) Hidrólisis lenta de la urea:    Rojo sólo en el pico de    que de forma gradual se extiende a todo el medio.
- 3) No hidrólisis de la urea:       El medio conserva su color amarillo original

## Citrato de Simmons

El citrato de Simmons es un medio sintético que incorpora citrato como única fuente de carbono en el medio. En las bacterias, el desdoblamiento del citrato comprende un sistema enzimático sin la intervención de la coenzima A. esta enzima se denomina citritasa o citrato desmolasa.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	261 / 320

*Técnica:*

La descrita en: urea de Christensen.

Incubación a 35°C durante 18 a 24 hs.

*Interpretación:*

- 1) Prueba positiva: crecimiento con un color azul intenso en el pico de flauta
- 2) Prueba positiva: crecimiento en el pico de flauta, sin producción de color
- 3) Prueba negativa: no hay cambio de color, ni crecimiento en el medio.

**LIA (Agar - Hierro - Lisina)**

Medir la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido para formar una amina, con la consiguiente alcalinidad.

*Técnica:*

La descrita en: TSI.

Incubación a 35°C durante 24 hs a 4 días.

*Interpretación:*

Prueba positiva:

- a) Pico de flauta: púrpura turbio (descarboxilación de la lisina para dar cadaverina)
- b) Capa profunda: amarillo claro (solamente fermentación de la glucosa) se puede presentar la formación de ácido sulfhídrico

Prueba negativa:

- a) Pico de flauta: rojo (desaminación de la lisina)
- b) Capa profunda: amarillo claro (solamente fermentación de la glucosa)

**MIO ( Movilidad - Indol - Ornitina )**

Medir la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido para formar una amina, con la consiguiente alcalinidad.

*Técnica:*

Cuando se inocula agar semisólido en un tubo para pruebas de motilidad, es



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	262 / 320

importante que el alambre de inoculación sea retirado a lo largo del mismo camino que se usó para atravesar inicialmente el medio. Un movimiento en abanico puede dar como resultado un patrón de crecimiento a lo largo de la línea de entrada que puede interpretarse erróneamente como motilidad bacteriana.

Incubación a 35°C durante 18 a 24 hs

*Interpretación:*

- a) Color amarillo (descarboxilación de la ornitina a la putrescina)
- b) Indol (Agregar dos o tres gotas de Kovac)
  - Color rojo púrpura: Positiva
  - Color amarillo: Negativa
- c) Movilidad
  - Crecimiento sólo en la punción: Negativa
  - Crecimiento en todo el medio: Positiva

**RM-VP (Rojo de metilo Voges - Proskauer)**

Determinar la capacidad de algunos organismos de producir un producto final neutro, el acetilmetilcarbinol (acetoína), a partir de la fermentación de la glucosa. Comprobar la capacidad de un organismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa, y vencer la capacidad amortiguadora del sistema.

*Técnica:*

La descrita en: fermentación de carbohidratos.

RM: Agregar 2 gotas de rojo de metilo, y observar color (de preferencia no mezclar)

VP: Agregar 0.6 mL de  $\alpha$ -naftol y 0.2 mL de KOH 40%; agitar vigorosamente e inclinar el tubo procurando la máxima exposición del líquido al aire, revisar luego de 15 minutos, si aparece una coloración roja la prueba de VP es positiva

*Interpretación:*

- RM positiva: Color rojo (ácido)
- RM negativa: Color amarillo
- RM retardada: Color anaranjado (continuar la incubación)
- VP positivo: Color rojo rosado (presencia de acetoína)
- VP negativa: Color amarillo



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	263 / 320

## Reducción de Nitratos

Determinar la capacidad de un organismo de reducir el nitrato en nitritos o en nitrógeno libre.

### *Técnica:*

La descrita en fermentación de carbohidratos.  
Incubar a 35 °C durante 18 a 24 hs.  
Adicionar ácido sulfanílico y  $\alpha$ -naftilamina.

### *Interpretación:*

- A) Fase 1.
  - 1) Prueba positiva
    - a) Color rosado a rojo intenso
    - b) Nitrato reducido a nitrito por el organismo
    - c) Prueba completa
  - 2) Prueba negativa
    - a) No se ha desarrollado color
    - b) Seguir con la fase 2
- B) Fase 2: Prueba de la reducción del cinc
  - 1) Prueba positiva
    - a) No se desarrolla color
    - b) Ausencia de nitrito en el medio
    - c) El organismo redujo el nitrato en nitrito y luego redujo nuevamente el nitrito
  - 2) Prueba negativa
    - a) Color rosado a rojo intenso
    - b) Nitrato presente; no ha sido reducido por el organismo
    - c) El zinc redujo en nitrato en nitrito.

## Prueba de la fenilalanina-desaminasa

Determinar la capacidad de un organismo de desaminar la fenilalanina en ácido fenilpirúvico por su actividad enzimática, con la consiguiente acidez resultante.

### *Técnica:*

La descrita en: urea de Christensen.  
Incubación a 35°C durante 18 a 24 hs.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	264 / 320

*Interpretación:*

Prueba positiva: Formación de un color verde claro a intenso en el pico de flauta y en el líquido de sinéresis.

Prueba negativa: no se produce cambio de color; se mantiene amarillo por el color del reactivo cloruro férrico.

**SIM**

Se utiliza para detectar ácido sulfhídrico, indol y movilidad.

*Técnica:*

La descrita en: MIO

*Interpretación:*

- a) Ácido sulfhídrico
  - Ennegrecimiento del medio: Positivo
  - No hay cambio del medio: Negativo
- b) Indol (Agregar dos o tres gotas de Kovac)
  - Color rojo púrpura: Positiva
  - Color amarillo: Negativa
- c) Movilidad
  - Crecimiento sólo en la punción: Negativa
  - Crecimiento en todo el medio: Positiva

**Reducción de la leche con azul de metileno**

Diferenciar organismos por su capacidad enzimática de reducir el azul de metileno en un medio con leche.

El azul de metileno, sal básica, es un indicador de la oxidación-reducción que, cuando es incorporado a un medio, indica los cambios en el potencial de oxidación-reducción producidos por un organismo.

*Técnica:*

La descrita en: fermentación de carbohidratos. *Interpretación:*

- a) Medio incoloro: (positiva) reducción
- b) Medio azul: (negativa) no hay reducción





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	265 / 320

## Leche tornasol

Diferenciar organismos sobre la base de sus múltiples reacciones metabólicas en un medio lácteo.

La leche tornasolada es un medio diferencial que se emplea para determinar varias funciones metabólicas de un organismo: 1) fermentación de la lactosa, 2) caseólisis y 3) coagulación de la caseína.

### *Técnica:*

La descrita en: fermentación de carbohidratos.

### *Interpretación:*

- a) Rojo rosado (A)
  - 1) Reacción ácida
  - 2) fermentación de la lactosa
- b) Azul purpúreo (SC)
  - 1) No hay fermentación de la lactosa
  - 2) No hay cambio en el indicador del pH tornasol; igual que el tubo no inoculado.
- c) Azul (Alc)
  - 1) Reacción alcalina
  - 2) No hay fermentación de la lactosa
  - 3) El organismo ataca las sustancias nitrogenadas que se encuentran en el medio
- d) Blanco (Red):
  - 1) Reducción del tornasol a una leucobase
- e) Formación de coágulo (C)
  - 1) Coagulación de la proteína de la leche
- f) Digestión (D)
  - 1) Peptonización
- g) Gas (CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>) (G)
  - 1) Burbujas en el medio
  - 2) El coágulo puede desintegrarse
- h) Fermentación turbulenta (T)
  - 1) El coágulo ácido es fragmentado por la abundante producción de gas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	<b>1</b>	<b>266 / 320</b>

# ANEXO E

# PRUEBAS

# ESPECIALES



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	267 / 320

## Catalasa

Comprobar la presencia de la enzima catalasa.

La enzima catalasa se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo y por lo tanto descomponen el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.

### *Técnica:*

Prueba en portaobjeto:

Transferir células del centro de una colonia bien aislada a la superficie de un portaobjeto.

Añadir una o dos gotas de peróxido de hidrógeno al 3%

Homogeneizar el inóculo

Método en tubos o placas de agar

Añadir unas gotas (aproximadamente 0.1 ml.) de peróxido de hidrógeno al 3% directamente sobre la superficie del desarrollo de una placa.

En la prueba semicuantitativa en tubos, el agar se vuelca formando una superficie plana en lugar de inclinada.

### *Interpretación:*

Prueba cualitativa

Prueba positiva: aparición rápida y producción sostenida de burbujas de gas o efervescencia.

Prueba semicuantitativa

Prueba positiva: una columna de 50 mm o más.

## Coagulasa

La coagulasa se haya presente en dos formas, "libre" y "fija":

Coagulasa fija (Prueba en portaobjeto): la coagulasa fija, conocida como "factor de aglutinación", está unida a la pared celular bacteriana y no está presente en los filtrados de cultivos. Los hilos de fibrina formados entre las células bacterianas suspendidas en el plasma provocan su aglutinación, indicada por la presencia de



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	268 / 320

agregados visibles en el portaobjeto.

Coagulasa libre (Prueba en tubo): la coagulasa libre es una sustancia semejante a la trombina, que se haya presente en los filtrados de cultivo. Cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezcla en partes iguales con una pequeña cantidad de plasma en un tubo de ensayo, se forma un coágulo visible como consecuencia de la utilización de los factores de coagulación del plasma.

*Técnica:*

Prueba en portaobjeto

Colocar una gota de agua destilada sobre un portaobjeto

Emulsionar suavemente una suspensión del organismo en estudio en la gota de agua

Colocar una gota del plasma reconstituido junto a la gota de la suspensión bacteriana. Mezclarlas bien.

Inclinar el portaobjeto hacia uno y otro lado

Prueba en tubo

Colocar 0.5 ml. de plasma de conejo reconstituido en un tubo estéril

Añadir 0.5 ml. de un cultivo puro en caldo del organismo por investigar

Mezclar por rotación suave

Colocar el tubo en un baño de agua a 37°C.

*Interpretación:*

Prueba en portaobjeto

Prueba positiva: se detecta de 15 a 20 s por la aparición de un precipitado granular o la formación de grumos blancos.

Prueba negativa: no se observa aglutinación en 2 a 3 min.

Prueba en tubo

Prueba positiva: las bacterias fuertemente coagulasa positivas pueden producir un coágulo en 1 a 4 hs, por lo tanto se recomienda observar el tubo a intervalos de 30 min. durante 4 hs



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	269 / 320

Prueba negativa: no se observa formación de coágulo después de 18 a 24 horas de incubación.

### **Fosfatasa**

Determinar la capacidad de un organismo de producir la enzima fosfatasa en cantidad suficiente como para desdoblar el difosfato de fenoltaleína. Es un medio de selección útil para organismos coagulasa-positivos. La fosfatasa, que se encuentra siempre en estos estafilococos, divide la fenoltaleína.

#### *Técnica:*

La inoculación primaria puede hacerse con un asa, hisopo u otros dispositivos adecuados.

Una vez hecho el inóculo primario, puede usarse un alambre en asa o recto para diseminar el material en los cuadrantes de la placa. El inóculo se disemina con un movimiento hacia atrás y hacia adelante en cada cuadrante girando la placa a 90°. El asa o alambre debe esterilizarse entre cada diseminación hacia un cuadrante. El propósito de esta técnica consiste en diluir el inóculo en forma suficiente en la superficie del agar como para que sea posible obtener colonias.

Incubación a 30° C, invertir la placa de agar sobre placa de vidrio de caja de Petri llena con amoniaco.

#### *Interpretación:*

Prueba positiva: colonias de color rojo rosado brillante

Prueba negativa: no se produce cambio de color; las colonias se mantienen blancas.

### **DNAasa**

Determinar la capacidad del microorganismo de producir la desoxirribonucleasa

#### *Técnica:*

Adicionar ADN al medio de agar soya tripticasa con cloruro de calcio anhidro.

Después de producirse crecimiento la placa se inunda con ácido clorhídrico normal.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	270 / 320

*Interpretación:*

Prueba positiva: los cultivos que producen DNasa muestran una zona de aclaramiento alrededor de las franjas de diseminación, y el medio no afectado aparece turbio.

## CAMP

La identificación de los estreptococos  $\beta$ -hemolíticos grupo B ha sido simplificada por la implantación de la prueba de CAMP.

La actividad hemolítica de la b-lisina estafilocócica sobre los eritrocitos es incrementada por un factor extracelular producido por los estreptococos del grupo B denominado factor CAMP.

Por lo tanto, la acentuación de la reacción  $\beta$ -hemolítica ocurre cuando los dos reactivos se superponen en una placa de agar sangre de carnero.

*Técnica:*

La prueba de CAMP se realiza efectuando una siembra única de los estreptococos perpendicular a una siembra de *S. aureus* productora de  $\beta$ -lisina. Las dos líneas de siembra no deben tocarse.

Debe incubarse en atmósfera ambiental.

*Interpretación:*

Prueba positiva: la zona de lisis aumentada toma la forma de una cabeza de flecha en la unión de las dos líneas de siembra.

## Bilis - Esculina

Esta prueba se basa en la capacidad de ciertas bacterias, en particular los estreptococos del grupo D, de hidrolizar la esculina en glucosa y esculetina de aglucona en presencia de 1 a 4 % de sales biliares.

*Técnica:*

Se toman muestras de 2 ó 3 colonias de medios de aislamiento primario con una asa. Se inocula la superficie de un agar inclinado en forma de "S", o se siembra la superficie de una placa de agar.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	271 / 320

### *Interpretación:*

Una prueba se considera positiva cuando se observa el ennegrecimiento difuso en el agar inclinado, o un halo negro o marrón alrededor de las colonias en la placa de agar.

### **Oxidasa**

La prueba de la oxidasa está basada en la producción bacteriana de una enzima oxidasa. Esta reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular, el que a su vez actúa como aceptor de electrones en la etapa terminal del sistema de transferencia de electrones.

### *Técnica:*

Con una parte de la colonia a estudiar se hace un frotis sobre un área impregnada con reactivo de una tira de prueba para oxidasa.

También puede realizarse utilizando el reactivo de Kovacs; el reactivo de Gordon y McLeod; el reactivo de Nadi; el de Carpenter o discos impregnados con oxidasa.

### *Interpretación :*

Colonias oxidasa positivas: la colonia toma un color rosado, después marrón finalmente negro.

Cuando se emplea una mezcla del reactivo dimetil-p-fenilendiamina-  $\alpha$ -naftol, la reacción oxidasa positiva está indicada por un color azul.

Colonias oxidasa negativas: No se produce cambio de color en las colonias; o se adquiere un color rosa pálido por el reactivo.

### **Hidrólisis del Hipurato**

La producción de hipuricasa por los estreptococos del grupo B resulta en la hidrólisis del hipurato de sodio con la formación de benzoato de sodio y glicina.

### *Técnica:*

La hidrólisis del ácido hipúrico puede detectarse por uno de dos métodos:

- Prueba del benzoato



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	272 / 320

Inocular un tubo con medio de hipurato de sodio con el microorganismo en estudio, incubar a 35° C durante 20 hs o más.

Centrifugar el medio para compactar las células y pipetear 0.8 ml. del sobrenadante en un tubo de prueba limpio.

Agregar 0.2 ml. del reactivo de cloruro férrico al tubo de prueba y mezclar bien.

- Prueba de la glicina

Inocular un asa grande de suspensión de cultivo de estreptococos b-hemolíticos en una alícuota de 0.4 ml. del reactivo de hipurato de sodio al 1% en un pequeño tubo de prueba.

Incubar el tubo a 35°C durante 2 hs.

Agregar 0.2 ml. del reactivo de ninhidrina y mezclar bien.

*Interpretación:*

Prueba del benzoato: después del agregado del reactivo de cloruro férrico se formará un precipitado denso. Si la solución se aclara dentro de los 10 min., la reacción no es específica y se debe a la interacción con el hipurato no hidrolizado o con las proteínas del medio. Si el precipitado persiste después de 10 min, se ha formado benzoato de sodio, lo que indica hidrólisis y un resultado positivo.

Prueba de la glicina: la aparición de un color púrpura profundo después del agregado del reactivo de ninhidrina indica la presencia de glicina en la mezcla y un resultado positivo para la hidrólisis del hipurato. El color debe aparecer dentro de los 10 min. de la adición del reactivo.

### **Solubilidad en bilis**

El *S. pneumoniae* produce enzimas autolíticas, que son responsables de la depresión central o umbilicación característica de las colonias viejas en medio de agar. Se cree que el agregado de sales biliares acelera este proceso, aumentando la reacción lítica asociada con la disminución de la tensión superficial entre el medio y la membrana celular bacteriana.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	273 / 320

*Técnica:*

- Prueba en caldo

Transferir aproximadamente 0.5 ml. de un cultivo en caldo de Todd-Hewitt de 18 a 24 hs a 2 tubos de prueba limpios.

Agregar una gota de rojo de fenol, a cada tubo de prueba.

Agregar hidróxido de sodio 0.1 N para ajustar el pH a 7, si fuera necesario.

Agregar 0.5 ml. de desoxicolato de sodio al 10% a uno de los tubos de prueba.

Agregar 0.5 ml. de solución salina estéril al segundo tubo de prueba (control)

Agitar con suavidad ambos tubos y colocarlos a 35°C en un baño de agua durante 3 hs.

- Prueba en placa de agar

Agregar una gota de desoxicolato de sodio al 2% a un cultivo bien aislado del microorganismo, de una placa de ASC al 5%. Sin invertir la placa, incubar a 35°C durante 30 min.

*Interpretación:*

Prueba en caldo: los microorganismos solubles en bilis (reacción positiva) aclaran visiblemente la turbidez del cultivo dentro de las 3 hs.

Prueba en placa de agar: una colonia soluble e bilis (prueba positiva) desaparece, dejando un área parcialmente hemolizada en el sitio en que estuvo. Las colonias insolubles en bilis permanecen intactas.

## **Susceptibilidad a la optoquina**

La optoquina inhibe selectivamente el crecimiento *S. pneumoniae* en concentraciones muy bajas. La optoquina es soluble en agua y difunde con rapidez en el medio de agar. Por lo tanto, los discos de papel filtro impregnados con optoquina pueden colocarse directamente sobre la superficie del agar al realizar esta prueba.

*Técnica:*

Mediante el empleo de un asa de inoculación, seleccionar 3 ó 4 colonias bien



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	274 / 320

aisladas del microorganismo de prueba y sembrar un área de 3 cm de diámetro en una placa de ASC al 5%.

Colocar el disco de optoquina en el tercio superior del área sembrada.

Presionar suavemente el disco, para que se adhiera a la superficie del agar.

Invertir la placa e incubar a 35°C durante 18 a 24 hs en un frasco con vela o en incubadora de CO<sub>2</sub>.

#### *Interpretación:*

Un estreptococo puede ser identificado de forma presuntiva como *S. pneumoniae* si muestra una zona de inhibición de 14 mm o más alrededor de un disco de optoquina de 6 mm o una de 16 mm o más si se utiliza un disco de 10 mm. Los estreptococos que muestran zonas de diámetro menor deben ser sometidos a la prueba de solubilidad en bilis.

#### **Sensibilidad a la Bacitracina**

Determinar la sensibilidad a la bacitracina (0.04 unidades) en los estreptococos del grupo A.

#### *Técnica:*

Se realiza preferentemente sobre placas de agar-sangre, donde se encuentren colonias de estreptococos en forma pura.

Se pueden utilizar discos de bacitracina común de un pH ácido.

#### *Interpretación:*

Cualquier zona de inhibición es considerada prueba positiva.

#### **Revelación de piocianina y fluoresceína**

Los pigmentos hidrosolubles y difusibles comprenden fluoresceína (pioverdina), piocianina y otros productos pigmentados que colorean el medio de cultivo.

#### *Técnica:*

Los medios "Tech" y "Flo" fueron desarrollados para aumentar la formación de los pigmentos hidrosolubles piocianina y pioverdina.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	275 / 320

Estos medios contienen peptonas especiales y una mayor concentración de iones de magnesio para incrementar la producción de pigmentos. Los medios que contienen hierro pueden estimular o inhibir la formación de pigmentos, de acuerdo con el microorganismo en cuestión. La producción de pigmentos también se incrementa cuando el microorganismo crece en medios con gelatina, papa o leche e incubación de 25 a 30°C.

*Interpretación:*

La pioverdina puede demostrarse usando una lámpara de Wood o, en agar Flo, por la aparición de colonias de color amarillo.

La piocianina puede detectarse por la presencia de un pigmento azul verde.

### **Sistemas anaerobios**

Los diferentes frascos en uso para el cultivo de bacterias anaerobias incluyen los frascos Brewer, Baird-Tatlock, GasPak, McIntosh-Fildes, Oxoid, Scott Laboratories y Torbal.

En general, los medios antes mencionados van a reducir total o parcialmente las condiciones de oxígeno por diferentes vías.

*Técnica:*

En la mayor parte de los casos, la temperatura más satisfactoria para el aislamiento primario de bacterias anaerobias de especímenes clínicos es 35°C a 37°C. Para que las colonias se desarrollen plenamente, las placas inoculadas en la mesa de trabajo y colocadas en frascos anaerobios deben incubarse durante por lo menos 48 hs antes de abrir los frascos.

*Interpretación:*

Deben examinarse los preparados con tinción de Gram de colonias de anaerobios y de placas incubadas con CO<sub>2</sub>. No debe asumirse sólo sobre la base de las características de las colonias y su morfología de las bacterias que desarrollan en placas incubadas en un sistema anaerobio son anaerobios obligados. Aunque la morfología y características de las colonias de algunos anaerobios son distintivas, a menudo es imposible distinguir algunos anaerobios facultativos de anaerobios obligados sin prueba de aerotolerancia, aún cuando las placas incubadas en CO<sub>2</sub> no muestren crecimiento.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	276 / 320

## Concentración de Esputo

Ya que cuando se realiza una recolección de esputo de pacientes que padecen tuberculosis, la muestra es generalmente en su mayoría saliva. Al realizar la baciloscopia se tiene que desechar y pedir otra muestra.

Sin embargo, hay pacientes que no pueden dar otra muestra de esputo voluntariamente y, por lo tanto, no es recomendable pedir otra muestra.

En este segundo caso, lo que se hace es llevar a cabo una concentración, descontaminación del cultivo de esputo, conocido como el método de Petroff modificado.

### *Técnica:*

Mezclar el esputo con igual cantidad de NaOH al 4%.

Agitar de 15 a 30 min y vaciar a un tubo de plástico.

Centrifugar a 300 rpm durante 15 min. No abra la centrifuga, espere a que se haya detenido por completo.

Decantar cuidadosamente el sobrenadante y depositarlo en el frasco original.

Resuspender el sedimento alcalino en 10 a 20 ml de agua estéril y centrifugar nuevamente por 20 min.

Decantar cuidadosamente y sembrar 2 ó 3 gotas del sedimento con pipeta pasteur a dos tubos de L-J.

Hacer dos frotis con la muestra y teñir con Ziehl-Neelsen.

Incubar los tubos a 37°C, dejándolos en posición horizontal durante 18 h.

Examinar semanalmente hasta la octava semana.

### *Interpretación :*

Cultivo positivo:

Positivo (+++): colonias confluentes.

Positivo (++) : colonias separadas (más de 100).

Positivo (+): 20 a 100 colonias

Positivo (# observado): el número de colonias en los tubos sembrados, si hay



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	277 / 320

menos de 20 colonias.

Negativo (-): no se observan colonias

### Prueba de Niacina

La capacidad de *M. tuberculosis* para producir abundante niacina está ampliamente demostrada.

La niacina se segrega de los bacilos al medio y, si esté último no es líquido, se prueba un extracto acuoso de las colonias.

#### *Técnica:*

A un cultivo bien desarrollado de más de cuatro semanas de crecimiento en el medio de L-J agregarle 1 ml de agua destilada y romper las colonias con el asa a fin de facilitar la difusión de niacina. Dejar el tubo inclinado durante 15 min.

Tomar con una pipeta pasteur del líquido anterior y depositarlo en un tubo. Añadir 0.5 ml de la solución alcohólica de anilina o bencidina.

Añadir 0.5 ml de solución acuosa de cianógeno al 10%. Agitar suavemente la placa (al terminar la prueba neutralizar con hidróxido de sodio o de amonio al 10%).

#### *Interpretación:*

Observar de 2 a 4 min la aparición de un color amarillo, rosa o coral (dependiendo del reactivo usado) en la prueba positiva, e incoloro o blanco en la prueba negativa.

### Prueba de Fotocromogenicidad

Es otra de las pruebas para llevar a cabo la identificación del género *Mycobacterium*. La exposición a la luz estimula la producción de pigmento en las cepas fotocromógenas, y generalmente estas últimas no muestran pigmentación amarilla a menos que se expongan a la luz en condiciones apropiadas.

#### *Técnica:*

Exponer los cultivos de L-J que fueron incubados a 37°C (el cubierto y el descubierto) a la luz natural durante 48 h o a la de una lámpara de 30 watts, a una distancia de 45 cm durante 1 h. Después incubar a 37°C hasta el día siguiente.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	278 / 320

### *Interpretación:*

Comparar el desarrollo de pigmento en los dos tubos. Si existe pigmento sólo en el tubo destapado la cepa es fotocromógena. Para tener resultados confiables en esta prueba, los cultivos deben ser jóvenes y mantener suficiente ventilación por el uso de tapones de metal o bien dejar flojo el tapón de vaquelita o de rosca.

### **Actividad de Catalasa a 68 °C**

La prueba semicuantitativa de catalasa ha resultado valiosa en la separación de algunas especies de micobacterias. La prueba de catalasa junto con la prueba de niacina es útil para reconocer bacilos tuberculosos.

Es una prueba semicuantitativa, la cual contiene entre los reactivos utilizados Tween 80 al 10% y peróxido de hidrógeno al 30%.

### *Técnica:*

Suspender varias colonias aisladas bien desarrolladas, preferiblemente de medio de cultivo L-J, en 0.5 ml de buffer de fosfatos en un tubo con tapón de rosca. Colocar el tubo en un baño de agua a 68°C durante 20 min. Enfriar la suspensión a temperatura ambiente y añadir 0.5 ml de mezcla de Tween-peróxido.

### *Interpretación:*

Prueba positiva: formación de burbujas

Prueba negativa: no hay formación de burbujas

### **Prueba de Quellung**

Cuando se mezclan neumococos de un tipo determinado con suero antipolisacárido específico del mismo tipo (o con antisuero polivalente) en un portaobjetos, la cápsula se hincha notablemente. Esta reacción es útil para la identificación rápida y la tipificación del microorganismo, ya sea en esputo o en cultivos. Un suero polivalente que contiene anticuerpos de más de 80 tipos de neumococos (omnisuero), es un buen reactivo para determinación microscópica rápida de la presencia de neumococos en esputo fresco.

### *Técnica:*

Colocar una gotita pequeña de cultivo, suspensión celular o líquido corporal sobre un portaobjetos de vidrio.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	279 / 320

Añadir un asa llena (diámetro 1 mm) de antisuero y mezclar bien.

Añadir un asa pequeña de colorante saturado de azul de metileno acuoso y mezclar.

Colocar un cubreobjetos sobre la mezcla y 10 min después examinar microscópicamente con lente de inmersión.

Para evitar un exceso de antígeno, que puede causar reacciones negativas, preparar portaobjetos de modo que cada campo microscópico contenga de 50 a 100 células.

Para obtener la iluminación oblicua necesaria para examinar el portaobjetos, manipular en espejo cóncavo de modo que sólo la tercera parte, aproximadamente, de la luz pase a través del condensador con bajo aumento.

*Interpretación:*

La reacción positiva de Quellung se debe a la unión del polisacárido capsular neumocócico con antisuero tipo-específico. El consiguiente cambio de refracción hace que la cápsula parezca hinchada, pero en realidad sólo se hace más visible.

La célula neumocócica se tiñe de azul oscuro y está rodeada de un halo netamente marcado que representa el borde externo de la cápsula.

La reacción negativa: no hay presencia de cápsula.

**Prueba de Eleck**

La prueba de inmunodifusión de Eleck modificada se usa mucho en laboratorios de referencia para la detección rápida de cepas toxigénicas.

La presencia de telurito de potasio en el agar permite que los cultivos primarios se prueben directamente desde el agar inclinado de Loeffler o Pai.

*Técnica:*

La base de agar de Eleck fundida se enfría hasta 50°C y 10 ml de éste se vierten en una caja de petri que contiene 2 ml de suero estéril de conejo y 1 ml de una solución estéril de telurito de potasio al 0.3%. El contenido de la placa se mezcla por rotación suave y se deja endurecer parcialmente. Una tira de papel filtro estéril de 1.5 por 7 cm se introduce en un tubo que contiene antitoxina diftérica diluida hasta unas 100 U/ ml, el exceso de líquido se quita por drenaje y la franja se presiona suavemente sobre la superficie del centro de la placa. Se deja secar



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	280 / 320

dicha superficie con la tapa parcialmente abierta durante 1 h en una incubadora.

*Interpretación:*

Después de 48 h de incubación, la difusión de la antitoxina a partir del papel filtro ha precipitado la toxina, que se difunde de las cepas toxigénicas formando líneas de precipitación que irradian de la intersección de la tira de papel filtro y las estrías del crecimiento bacteriano.

Una prueba negativa: no se observan líneas de precipitación.

### **Toxigenicidad in vivo**

Es una prueba de toxigenicidad; todos los *C. diphtheriae* aislados se prueban para determinar su producción de toxinas. Casi siempre se envían a un laboratorio para las pruebas *in vivo* de las toxinas.

*Técnica:*

El método más seguro para detectar producción de toxinas es la prueba subcutánea, que requiere 2 cobayos para cada aislado probado. El inóculo se prepara a partir de todo el crecimiento de 24 h de un agar de Loeffler o Pai suspendiendo en 12 ml de caldo estéril. No es posible reemplazar el caldo por solución fisiológica. Las suspensiones deben ser por lo menos tan densas como un estándar para nefelómetro No. 3 de McFarland, pues algunas cepas producen pequeñas cantidades de toxinas. El abdomen de cada cobayo se afeita o se sostiene con clips, y el área se desinfecta con alcohol. El animal de control recibe una inyección intraperitoneal de 1000 U de antitoxina diftérica. Una o dos hs después se inyecta al cobayo de control y al de prueba 5 ml de la suspensión de cultivo en el área preparada.

*Interpretación:*

Una cepa toxigénica causa generalmente muerte en el animal en 1 a 4 días, sin afectar el animal de control. Si el cultivo no es toxigénico ninguno de los cobayos muestra pruebas de intoxicación en 10 días. Los cobayos de prueba que mueren en 10 días deben someterse a autopsia. El hallazgo más notable es la hinchazón y congestión de las glándulas suprarrenales con hemorragias dispersas en la médula y/o corteza.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	281 / 320

### Prueba del tubo germinal

Un tubo germinal se define como una extensión filamentososa de una célula de levadura que mide alrededor de la mitad del ancho y tres a cuatro veces el largo de la célula.

#### *Técnica:*

A partir de una colonia, tomar un pequeño inóculo y suspenderlo en un tubo que contiene 0.5 ml de suero humano o de carnero.

Incubar a 37°C por no más de tres hs.

Colocar en un portaobjetos, una gota de suero incubado y colocar encima un cubreobjetos. Examinar a seco débil.

#### *Interpretación:*

La presencia de emisión de tubos germinativos, observándose un apéndice largo del tamaño de 2 a 3 veces la célula levaduriforme.

### Prueba de Fermentación de Carbohidratos para la identificación de Levaduras

La fermentación de la levadura en medios de cultivo apropiados, que contengan una fuente única de carbohidratos es detectada por la producción de gas. la producción de ácido (utilización de carbohidratos) no es un indicador confiable de la fermentación. Para obtener resultados exactos, puede ser necesario hacer crecer la levadura mediante dos o tres pasajes a través de un caldo sin carbohidratos para extraer los hidratos de carbono asimilados durante el crecimiento en el medio de recuperación primaria.

#### *Técnica:*

Agregar a cada tubo para fermentación de carbohidratos 0.2 ml de una suspensión salina de levadura equivalente a estándar No. 4 de McFarland.

Cerrar las tapas ligeramente. Incubar a 37°C durante 48 hs. Antes de descartar las pruebas como negativas, dejarlas en la incubadora durante 6 a 10 días.

#### *Interpretación:*

La presencia de burbujas en el tubo invertido en el tubo de Durham o una



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	282 / 320

disminución en el nivel líquido indica fermentación. el desarrollo de un color amarillo no es indicador confiable y debe ser ignorado.

### **Prueba de Asimilación de Carbohidratos para la identificación de Levaduras**

El método de disco para la evaluación de la capacidad de las levaduras de utilizar carbohidratos, se basa en el uso de base nitrogenada, sin carbohidratos, y la observación del crecimiento alrededor de discos de papel de filtro impregnados en hidratos de carbono después de un período apropiado de incubación.

#### *Técnica:*

Con una pipeta estéril, verter una suspensión de levadura en solución salina equivalente a un estándar de Mc Farland No. 4, sobre una placa de base nitrogenada-levadura.

Aspirar el exceso de suspensión utilizando la misma pipeta. Dejar secar la superficie de agar durante unos 5 min.

Colocar los discos de carbohidratos sobre el agar y presionar firmemente con pinzas esterilizadas a la llama.

Los discos deben colocarse en los cuatro cuadrantes y en el campo del centro, para formar una configuración en cruz.

Incubar la placa a 30°C durante 24 hs y registrar los resultados.

#### *Interpretación:*

El crecimiento alrededor de un disco de carbohidrato indica que el azúcar contenido en ese disco ha sido asimilado por la especie de levadura en estudio, y es una prueba positiva. Si el crecimiento no estuviera suficientemente concentrado para permitir una lectura, re-incubar durante 24 hs nuevamente.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	283 / 320

# ANEXO F

## MEDIOS DE CULTIVO PARA GRUPOS ESPECÍFICOS DE MICROORGANISMOS Y PROCEDIMIENTOS



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	284 / 320

MEDIOS DE CULTIVO PARA GRUPOS ESPECÍFICOS DE MICROORGANISMOS Y PROCEDIMIENTOS

MICROORGANISMOS	AISLAMIENTO	CULTIVO	IDENTIFICACION	MANTENIMIENTO
<i>Actinomyces</i> (aeróbicos) <i>Nocardia</i> , <i>Streptomyces</i>	Agar de Emerson Agar Sangre CDC (Anaeróbicos) Agar Soya Trypticase	Agar de Emerson Agar Dextrosa Sabouraud Agar Eugon Agar Mycophil Agar Sange CDC(An) Agar Soya Trypticase Caldo Actinomyces	Gelatina Nutritiva Medio CTA Medio Indol Nitrito Medio Thiogel	Agar Soya Trypticase Caldo Actinomyces Medio CTA
Anaeróbicos(excluyendo Clostridios) <i>Actinomyces bovis</i> <i>A. israelii</i> <i>Bacteroides</i> <i>Fusiformes</i> <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> <i>Sphaerophorus</i>	Agar Bacteroides Bilis Esculina Agar Sangre CDC (An) Agar Schaedler Agar Soya Trypticase Caldo Schaedler Caldo Soya Trypticase Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato de Brewer Medio de Tioglicolato sin indicador Medio Líquido de Tioglicolato	Agar Sange CDC (An) Agar Schaedler Agar Soya Trypticase Caldo Schaedler Caldo Soya Trypticase Caldo Soya Trypticase con 0.1% Agar Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato de Brewer Medio de Tioglicolato sin indicador Medio Líquido de Tioglicolato	Agar Bacteroides Bilis Esculina Medio CTA con carbohidratos Medio de Carne Cocida Medio de tioglicolato sin Dextrosa Medio de Tioglicolato sin Dextrosa y sin indicador Medio Indol Nitrito Medio Thiogel	Medio CTA Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato sin indicador
Bacilos Entéricos	Agar de Bilis y Rojo Violeta Agar Citrato Desoxicolato Agar Desoxicolato Agar Endo Agar Entérico Hektoen Agar Eosina y Azul de Metileno Agar Lactosa Desoxicolato Agar Levine (Agar LEMB) Agar MacConkey	Agar Infusión Cerebro-Corazón Agar Soya Trypticase Caldo Soya Trypticase Infusión Cerebro-Corazón	Agar Citrato Desoxicolato Agar Citrato Simmons Agar Desoxicolato Agar DNAsa con Azul de Toluidina Agar Endo Agar Entérico Hektoen Agar Eosina Azul de Metileno Agar Fenilalanina Agar Hierro y Kligler Agar Hierro y Lisina Agar Lactosa Desoxicolato	Agar Nutritivo Agar Soya Trypticase Base de Agar Trypticase



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	285 / 320

MICROORGANISMOS	AISLAMIENTO	CULTIVO	IDENTIFICACION	MANTENIMIENTO
<i>Brucella</i>	Agar Brucella Agar Eugon Agar Soya Trypticase Caldo Brucella Caldo Soya Trypticase Caldo Tryptosa	Agar Brucella Agar Eugon Agar Soya Trypticase Caldo Brucella Caldo Eugon Caldo Soya Trypticase	Base de Agar Urea Caldo Urea Medio CTA Medio Thiogel	Medio CTA
<i>Campylobacter</i>	Agar Campylobacter (con 5 antimicrobianos y 10% sangre carnero)		Agar Campylobacter (con 5 antimicrobianos y 10% sangre carnero)	
<i>Clostridium</i>	Agar anaeróbico Agar Clostridium difficiles (CCFA) Agar Clostrisel Agar Lecitina Lactosa Agar Sangre CDC(An) Agar Schaedler Agar SPS Agar TSN Caldo Schaedler Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato de Brewer Medio de Tioglicolato sin indicador Medio liquido de Tioglicolato	Agar Anaeróbico Agar Sangre CDC (An) Agar Schaedler Caldo Schaedler Caldo Soya Trypticase con 0.1% de Agar Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato de Brewer Medio de Tioglicolato sin indicador Medio Líquido de Tioglicolato	Agar Clostridium difficiles (CCFA) Agar Lecitina Lactosa Agar SPS Base de Agar Trypticase Leche Litmus Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato sin Dextrosa Medio de Tioglicolato sin Dextrosa sin indicador Medio Indol Nitrito Medio Thiogel	Base de Agar Trypticase Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato sin Indicador
Coliformes y <i>Proteus</i>	Agar Cled Agar de Bilis Verde Brillante Agar de Bilis y Rojo Violeta Agar de Bilis y Rojo Violeta con MUG	Agar Infusión Cerebro-Corazón Agar Soya Trypticase Caldo Soya Trypticase Infusión Cerebro-Corazón	Agar de Bilis Verde Brillante Agar Citrato de Simmons Agar Entérico Hektoen Agar Endo Agar Eosina Azul de Metileno Agar Fenilalanina Agar Hierro de Kligler	Agar Nutritivo Agar Soya Trypticase Base de Agar Trypticase



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	286 / 320

MICROORGANISMOS	AISLAMIENTO	CULTIVO	IDENTIFICACION	MANTENIMIENTO
<i>Brucella</i>	Agar Brucella Agar Eugon Agar Soya Trypticase Caldo Brucella Caldo Soya Trypticase Caldo Tryptosa	Agar Brucella Agar Eugon Agar Soya Trypticase Caldo Brucella Caldo Eugon Caldo Soya Trypticase	Base de Agar Urea Caldo Urea Medio CTA Medio Thiogel	Medio CTA
<i>Campylobacter</i>	Agar Campylobacter (con 5 antimicrobianos y 10% sangre carnero)		Agar Campylobacter (con 5 antimicrobianos y 10% sangre carnero)	
<i>Clostridium</i>	Agar anaeróbico Agar Clostridium difficiles (CCFA) Agar Clostrisel Agar Lecitina Lactosa Agar Sangre CDC(An) Agar Schaedler Agar SPS Agar TSN Caldo Schaedler Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato de Brewer Medio de Tioglicolato sin indicador Medio liquido de Tioglicolato	Agar Anaeróbico Agar Sangre CDC (An) Agar Schaedler Caldo Schaedler Caldo Soya Trypticase con 0.1% de Agar Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato de Brewer Medio de Tioglicolato sin indicador Medio Liquido de Tioglicolato	Agar Clostridium difficiles (CCFA) Agar Lecitina Lactosa Agar SPS Base de Agar Trypticase Leche Litmus Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato sin Dextrosa Medio de Tioglicolato sin Dextrosa sin indicador Medio Indol Nitrito Medio Thiogel	Base de Agar Trypticase Medio de Carne Cocida Medio de Tioglicolato sin Indicador
Coliformes y <i>Proteus</i>	Agar Cled Agar de Bilis Verde Brillante Agar de Bilis y Rojo Violeta Agar de Bilis y Rojo Violeta con MUG	Agar Infusión Cerebro-Corazón Agar Soya Trypticase Caldo Soya Trypticase Infusión Cerebro-Corazón	Agar de Bilis Verde Brillante Agar Citrato de Simmons Agar Entérico Hektoen Agar Endo Agar Eosina Azul de Metileno Agar Fenilalanina Agar Hierro de Kligler	Agar Nutritivo Agar Soya Trypticase Base de Agar Trypticase



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	287 / 320

MICROORGANISMOS	AISLAMIENTO	CULTIVO	IDENTIFICACION	MANTENIMIENTO
Coliformes y <i>Proteus</i> (CONT.)	Agar Endo Agar Entérico Hektoen Agar Eosina y Azul de Metileno Agar Levine EMB Agar MacConkey Agar Salmonella Shigella Agar Tergitol 7 Agar XLD Caldo A-1 Caldo EC Caldo Lactosado Caldo Lauril Sulfato de Sodio con MUG Caldo Lauril Sulfato de Sodio Caldo MacConkey Caldo M-Endo Caldo M-FC Caldo Tergitol 7 Caldo Trypticaseina y Lecitina Caldo Verde Brillante bilis al 2%		Agar Levine EMB Agar MacConkey Agar Salmonella Shigella Agar Tergitol 7 Agar TSI Agar de Bilis y Rojo Violeta Agar XLD Base de Agar Rojo de Fenol Base de Agar Trypticase con Taxo* discos Base de Agar Urea Base de Caldo Descarboxilasa Moeller Base de Caldo Rojo de Fenol Caldo A-1 Caldo Dextrosa Rojo de Fenol Caldo EC Caldo Lactosa Rojo de Fenol Caldo Lauril Sulfato de Sodio con MUG Caldo Malonato de Ewing modificado Caldo Manitol Rojo de Fenol Caldo Nitrato Caldo Sacarosa Rojo de Fenol Caldo Urea Caldo Verde Brillante Bilis al 2% Caldo Verde Brillante Bilis al 2% con MUG Gelatina Nutritiva Medio Basal OF Medio de Indol Nitrito Medio Movilidad Indol Ornitina (Medio MIO) Medio SIM	



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	288 / 320

MICROORGANISMOS	AISLAMIENTO	CULTIVO	IDENTIFICACION	MANTENIMIENTO
Coliformes y <i>Proteus</i> (CONT.)			Medio Thiogel Solucion al 1% de Trypticase	
<i>Corynebacterium</i>	Agar Alcohol fenil-etilico Agar Suero Telurito Agar Trypticase Telurito Medio Loeffler	Agar Infusión Cerebro- Corazón Agar Soya Trypticase Medio Loeffler	Agar CTA Agar Suero Telurito Agar Trypticase Telurito Medio de Indol Nitrito Medio Thiogel	Agar Soya Trypticase Medio CTA
Enterococos	Agar Alcohol Fenil-etilico Agar Bilis Esculina Agar Confirmatorio de enterococos Agar Enterococoseel Agar Streptocócico KF Agar Streptoseel Caldo Streptocócico KF Caldo Azida Dextrosa Caldo Streptoseel	Agar Infusión Cerebro-Corazón Agar Soya Trypticase Caldo Soya Trypticase Infusión Cerebro-Corazón	Agar Bilis Esculina Agar Confirmatorio de Enterococos Agar Enterococoseel Agar Streptocócico KF Caldo Enterococoseel Caldo Streptocócico KF Caldo Soya Trypticase con 6.5% Cloruro de Sodio Medio CTA con Carbohidratos Medio Thiogel	Medio CTA
<i>Haemophilus</i>	Agar Casman Agar Chocolate Base de Agar Casman Base de Agar GC	Agar Casman Agar Chocolate Base de Agar Casman Base de Agar GC	Agar Soya Trypticase con Taxo X, V y XV	Agar Chocolate Medio CTA
Hongos y levaduras	Agar Biggy Agar Corn Meal ( Agar para clamidosporas ) Agar Czapek Dox Agar Dextrosa Agar Dextrosa Sabouraud Agar Dextrosa y papa Agar Emerson Agar Extracto de Malta Agar Dextrosa y papa Agar Emerson Agar Extracto de Malta Agar Infusión Cerebro-	Agar Corn Meal ( Agar para clamidosporas ) Agar Dextrosa Sabouraud Agar Dextrosa y papa Agar Emerson Agar Extracto de Malta Agar Infusión Cerebro- Corazón Agar Mycophil Agar para Clamidosporas	Agar Biggy Agar Corn Meal ( Agar para Clamidosporas )	Agar Dextrosa y papa Agar Dextrosa Sabouraud Agar Emerson Agar Mycophil Base de Agar Trypticase Medio CTA





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	289 / 320

MICROORGANISMOS	AISLAMIENTO	CULTIVO	IDENTIFICACION	MANTENIMIENTO
Hongos y levaduras (CONT.)	Corazón Agar Maltosa Sabouraud Agar Mycophil Agar Mycophil con bajo pH Agar Mycosel Agar para Clamidiasporas Agar Suero de Naranja Caldo Czapek Dox Caldo Dextrosa Sabouraud Caldo Extracto de Malta Caldo Mycophil Medio líquido Sabouraud (Medio antibióticos No. 13)	Agar Soya Trypticase Caldo Dextrosa Sabouraud Caldo Extracto de Malta Caldo Mycophil Caldo Soya Trypticase		
<i>Lactobacillus</i> y <i>Leuconostoc</i>	Agar APT Agar Eugon Agar Jugo de Tomate Agar LBS Agar MRS Agar Suero de Naranja Caldo APT Caldo LBS Caldo MRS	Agar APT Agar Eugon Agar LBS Agar MRS Caldo APT Caldo LBS Caldo MRS	Leche Litmus Medio Indol Nitrito Medio Thiogel	Agar Eugon Medio CTA
<i>Listeria</i>	Agar Alcohol Fenil-étilico Agar <i>Listeria</i> McBride Agar Soya Trypticase Base de Agar LPM Caldo Enriquecimiento <i>Listeria</i>	Agar Eugon Agar Soya Trypticase Caldo Enriquecimiento <i>Listeria</i> Medio de Tioglicolato sin indicador	Leche Litmus Medio CTA Medio Indol Nitrito Medio Thiogel	Agar Soya Trypticase Medio CTA



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	290 / 320

MICROORGANISMOS	ASLAMIENTO	CULTIVO	IDENTIFICACION	MANTENIMIENTO
<i>Mycobacterium</i>	Base de Agar Middlebrook y Cohn 7H10 Base de Medio Lowenstein-Jensen Medio Lowenstein-Jensen	Base de Agar Middlebrook y Cohn 7H10 Base de Medio Lowenstein-Jensen Medio Lowenstein-Jensen		Base de Medio Lowenstein Jensen Medio Lowenstein Jensen
<i>Mycoplasma</i>	Base Agar Mycoplasma Base Caldo Mycoplasma	Base Agar Mycoplasma Base caldo Mycoplasma		Base de Agar Mycoplasma
<i>Neisseria</i>	Agar Casman Agar Chocolate Agar Eugon Agar Thayer-Martin Base de Agar Casman Base de Agar GC Caldo de Tripticaseína y Fosfato	Agar Casman Agar Chocolate Agar Eugon Base de Agar Casman Base de Agar GC Caldo Eugon Caldo de Tripticaseína y Fosfato	Medio CTA	Agar Chocolate Medio CTA
<i>Pseudomonas</i> y otros no fermentadores	Agar Pseudosel (Agar Cetrimida) Caldo Tripticaseína y Lecitina	Agar Eugon Agar Soya Trypticase	Agar Flo Agar Sellers Agar Tech Agar TSI Base de Agar Rojo de Fenol Base de Caldo Rojo de Fenol Caldo Dextrosa Rojo de Fenol Caldo Lactosa Rojo de Fenol Caldo Manitol Rojo de Fenol Caldo Nitrato Caldo Sacarosa Rojo de Fenol Medio Basal OF	Base de Agar Trypticase
<i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i>	Agar Citrato Desoxicolato Agar DCLS Agar Desoxicolato Agar Endo Agar Entérico Hektoen	Agar Infusión de Cerebro-Corazón Agar Soya Trypticase Caldo Soya Trypticase Infusión de Cerebro-	Agar Citrato Desoxicolato Agar DCLS Agar Desoxicolato Agar Entérico Hektoen Agar Eosina Azul de Metileno	Agar Nutritivo Agar Soya Trypticase Base de Agar Trypticase



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	291 / 320

MICROORGANISMOS	AISLAMIENTO	CULTIVO	IDENTIFICACION	MANTENIMIENTO
Salmonella y Shigella (CONT.)	Agar Eosina Azul de Metileno Agar Lactosa Desoxicolato Agar Levine EMB Agar MacConkey Agar Salmonella y Shigella Agar Sulfito y Bismuto Agar Tergitol 7 Agar Verde Brillante Agar XLD Base de Caldo Tetracionato Caldo GN Caldo Lactosado Caldo-M Caldo Selenito F Caldo Selenito y Cistina Caldo Tergitol 7	Corazón	Agar Fenilalanina Agar Hierro de Kligler Agar Hierro y Lisina Agar Lactosa Desoxicolato Agar Levine EMB Agar MacConkey Agar Salmonella Shigella Agar Sulfito y Bismuto Agar Tergitol 7 Agar TSI Agar Verde Brillante Agar XLD Base de Agar Rojo de Fenol Base de Agar Urea Base de Caldo de Moeller KCN Base de caldo Descarboxilasa Moeller Base de Caldo Rojo de Fenol Caldo Dextrosa Rojo de Fenol Caldo Lactosa Rojo de Fenol Caldo Malonato de Ewing Modificado Caldo Manitol Rojo de Fenol Caldo Nitrato Caldo Sacarosa Rojo de Fenol Caldo Urea Gelatina Nutritiva Medio Basal OF Medio Movilidad Indol Ornitina (Medio MIO) Medio de Indol Nitrito Medio SIM Medio Thiogel Solucion al 1% de Trypticase	



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	292 / 320

MICROORGANISMOS	AISLAMIENTO	CULTIVO	IDENTIFICACION	MANTENIMIENTO
<i>Staphylococci</i>	Agar Alcohol Fenil-Etilico Agar Baird-Parker Agar Columbia CNA Agar de Chapman Stone Agar de Vogel-Johnson Agar Sal y Manitol Agar Staphylococcus # 110 Base Agar Baird-Parker	Agar Soya Trypticase Caldo Soya Trypticase	Agar Columbia CNA Agar de Chapman Stone Agar DNasa Agar Sal y Manitol Agar Staphylococcus #110 Base Agar Baird-Parker Caldo Manitol Rojo de Fenol Medio CTA con Manitol	Medio CTA
<i>Streptococcus</i> no del Grupo D	Agar Alcohol Fenil-Etilico Agar Bilis Esculina Agar Columbia CNA Agar Sangre Agar Sangre bajo pH Agar Sangre con Azida Agar Streptocel Base de Agar Sangre Base de Agar Sangre con azida Caldo M17 Caldo Streptocel Caldo Todd Hewitt Caldo Trypticaseina y Fosfato	Agar Infusión de Cerebro- Corazón Agar Soya Trypticase Caldo Soya Trypticase Caldo Todd-Hewitt Caldo Trypticaseina y Fosfatos Infusión de Cerebro- Corazón	Agar Bilis Esculina Agar Columbia CNA Agar Sangre Agar Sangre con Azida Agar Sangre con bajo pH Base de Agar Sangre con Azida Caldo Hipurato de Sodio	Medio CTA
<i>Vibrio</i>	Agar DCLS Agar TCBS		Agar DCLS Agar TCBS	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Agar Yersinia Base de Agar CIN (Base de Agar selectivo para Yersinia)		Agar Yersinia Base de Agar CIN (Base de Agar Selectivo para Yersinia)	



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	293 / 320

# ANEXO G

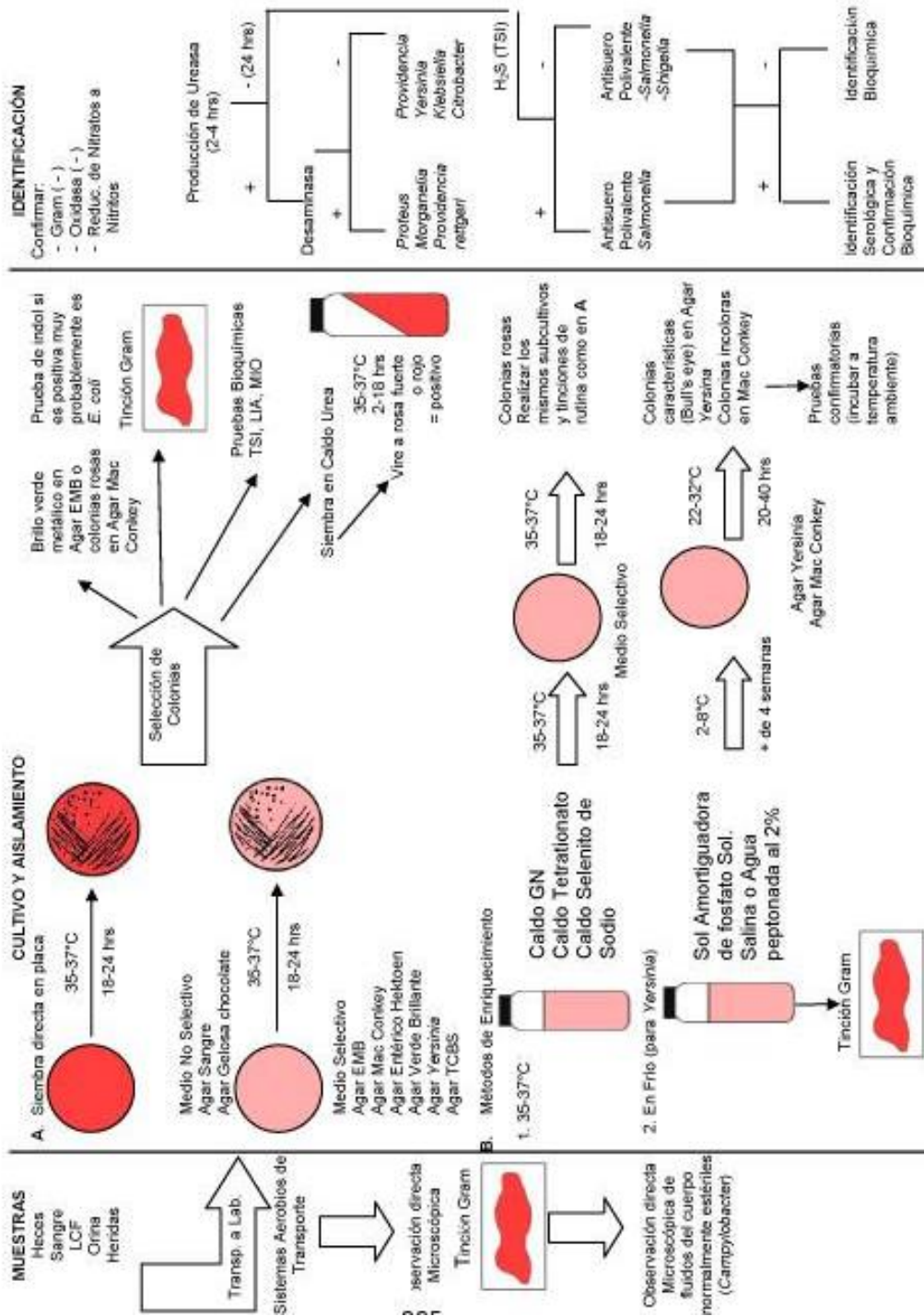
# MARCHAS

# MICROBIOLÓGICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	294 / 320

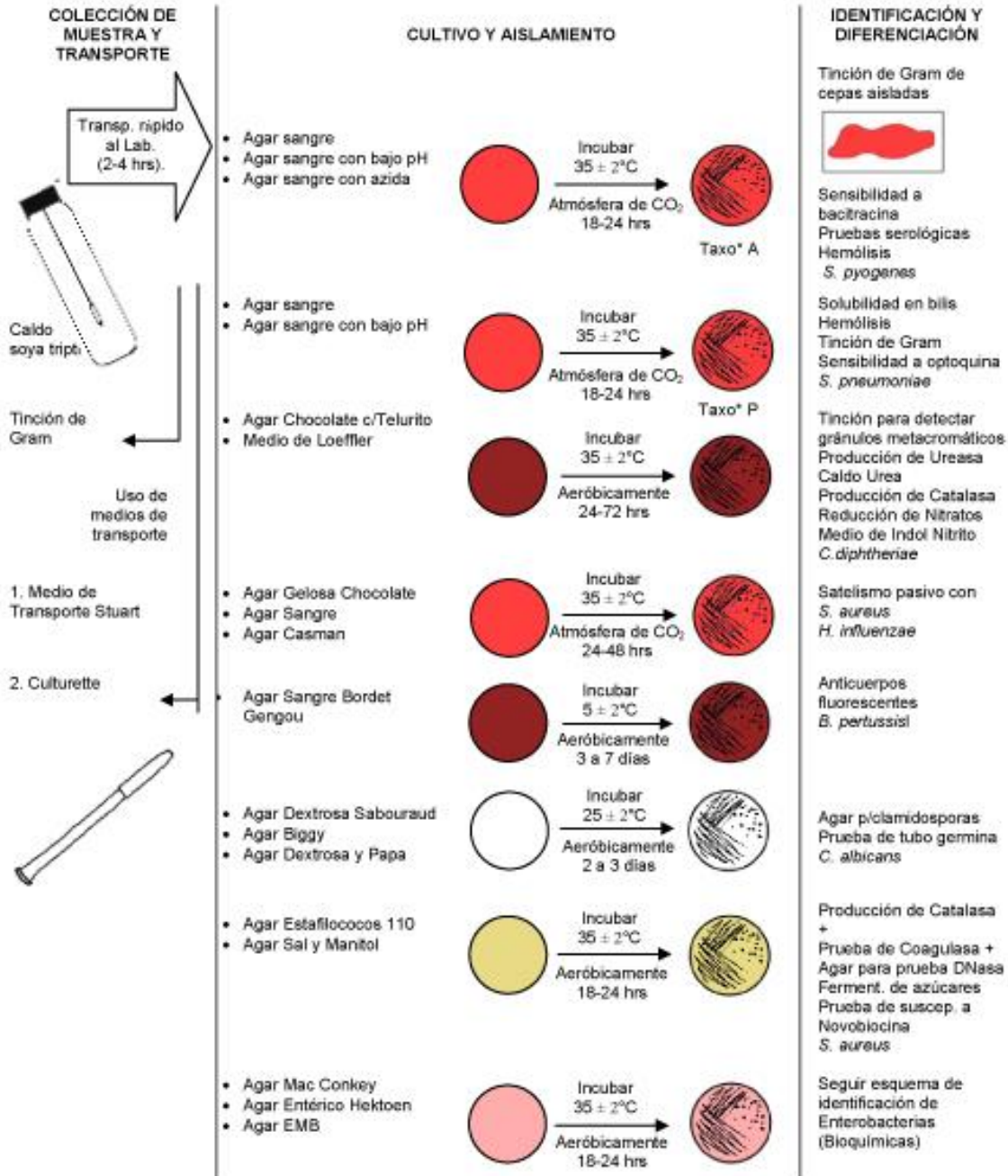
CULTIVO DE ENTEROBACTERIAS





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	295 / 320

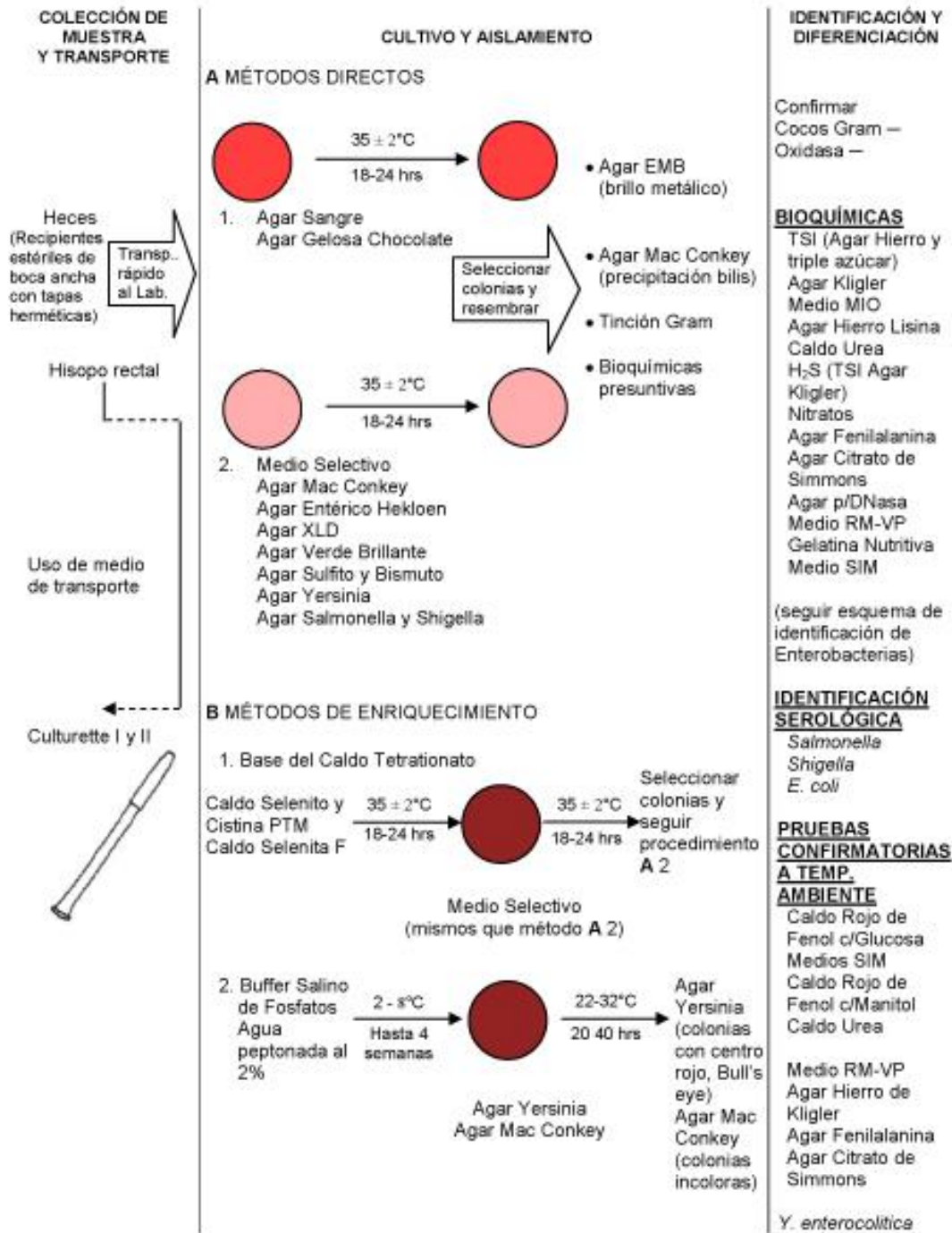
**CULTIVO FARINGEO O NASOFARINGEO**





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	296 / 320

## COPROCULTIVO



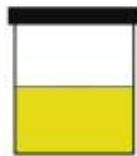




Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	297 / 320

### CULTIVO TRACTO URINARIO

#### COLECCIÓN DE MUESTRA Y TRANSP.

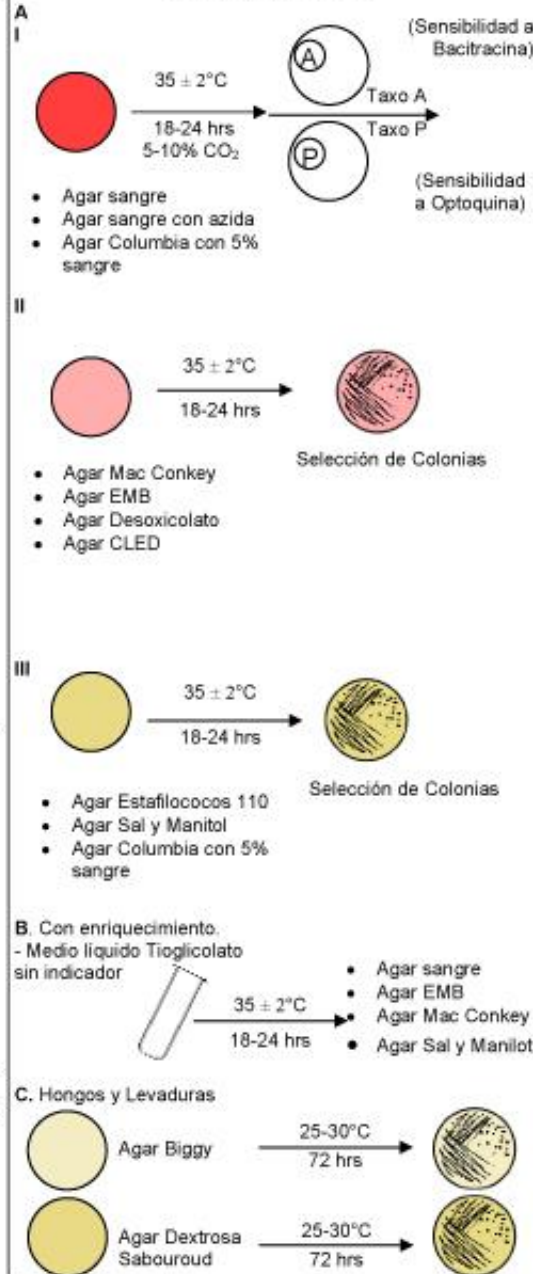


Frotis de sedimento (Gram)

Orina

- Transporte:
- A temperatura ambiente dentro de las primeras 2 hrs.
  - Refrigeración hasta 24 hrs.

#### CULTIVO Y AISLAMIENTO



#### IDENTIFICACIÓN Y DIFERENCIACIÓN

1. Tinción de Gram
  2. Pruebas serológicas
  3. Fermentación de carbohidratos
  4. Hemólisis
- S. pyogenes*
1. Solubilidad en bilis
  2. Hemólisis
  3. Tinción de Gram
- S. pneumoniae*

#### Bioquímicas

- TSI Agar de Hierro y Triple Azúcar
- Agar Kligler
- Medio MIO
- Agar LIA
- Caldo Urea
- H<sub>2</sub>S (TSI, Kligler)
- Nitratos
- Agar Fenilalanina
- Agar Citrato
- Agar Prueba DNasa
- Medio RM-VP
- Ident. Serológica de Enterobacterias

- Prueba de Coagulasa +
- Prueba de Catalasa +
- Fermentación de azúcares
- Agar Prueba DNasa
- Prueba de susceptibilidad a Novobiocina
- S. aureus*

Seguir procedimiento **AI**, **AII** y **AIII**  
Pruebas de susceptibilidad

- Frotis azul de algodón
- Agar para clamidosporas
  - Prueba tubo germinal
  - C. albicans*



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

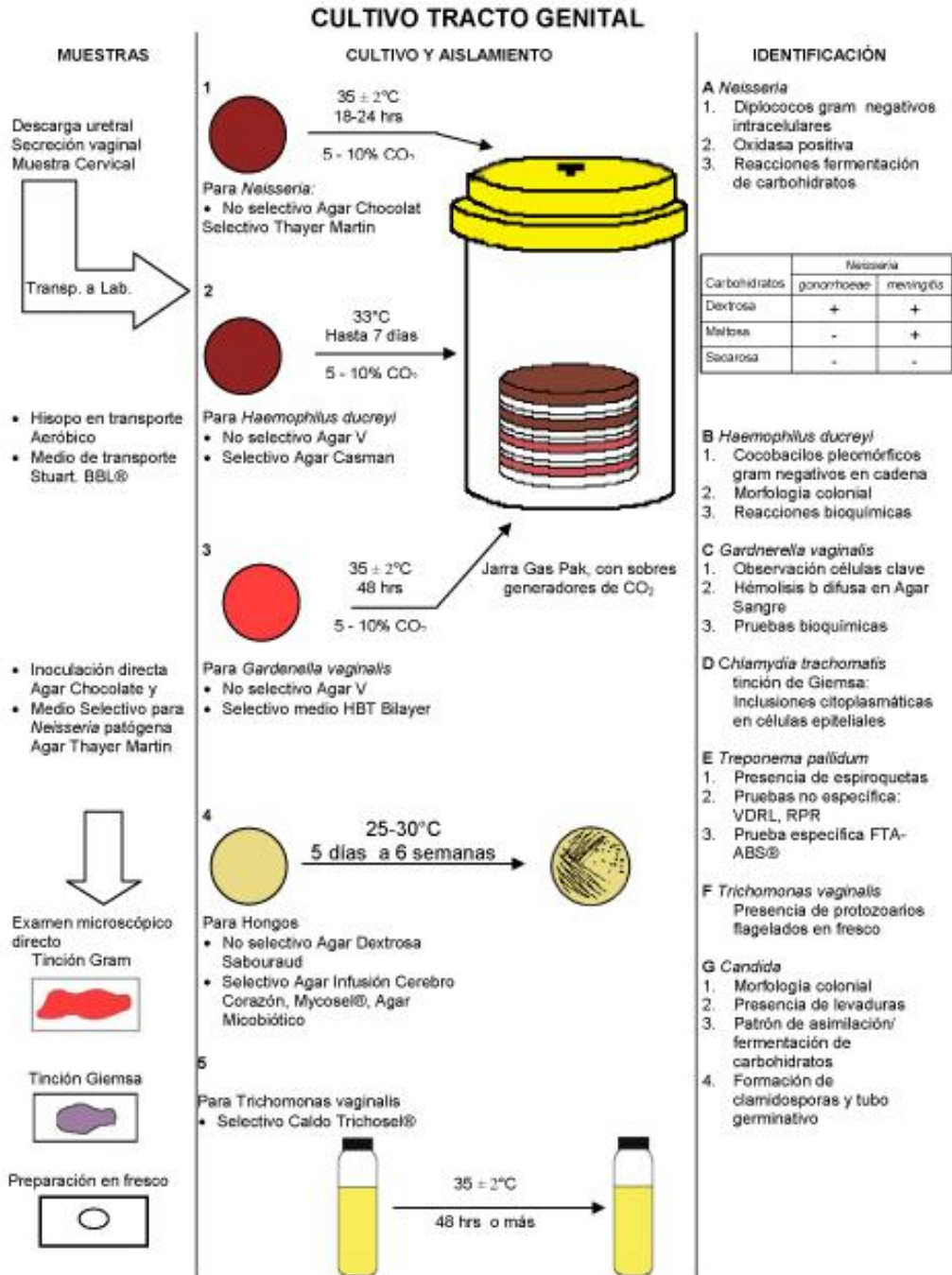
MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>298 / 320</b>



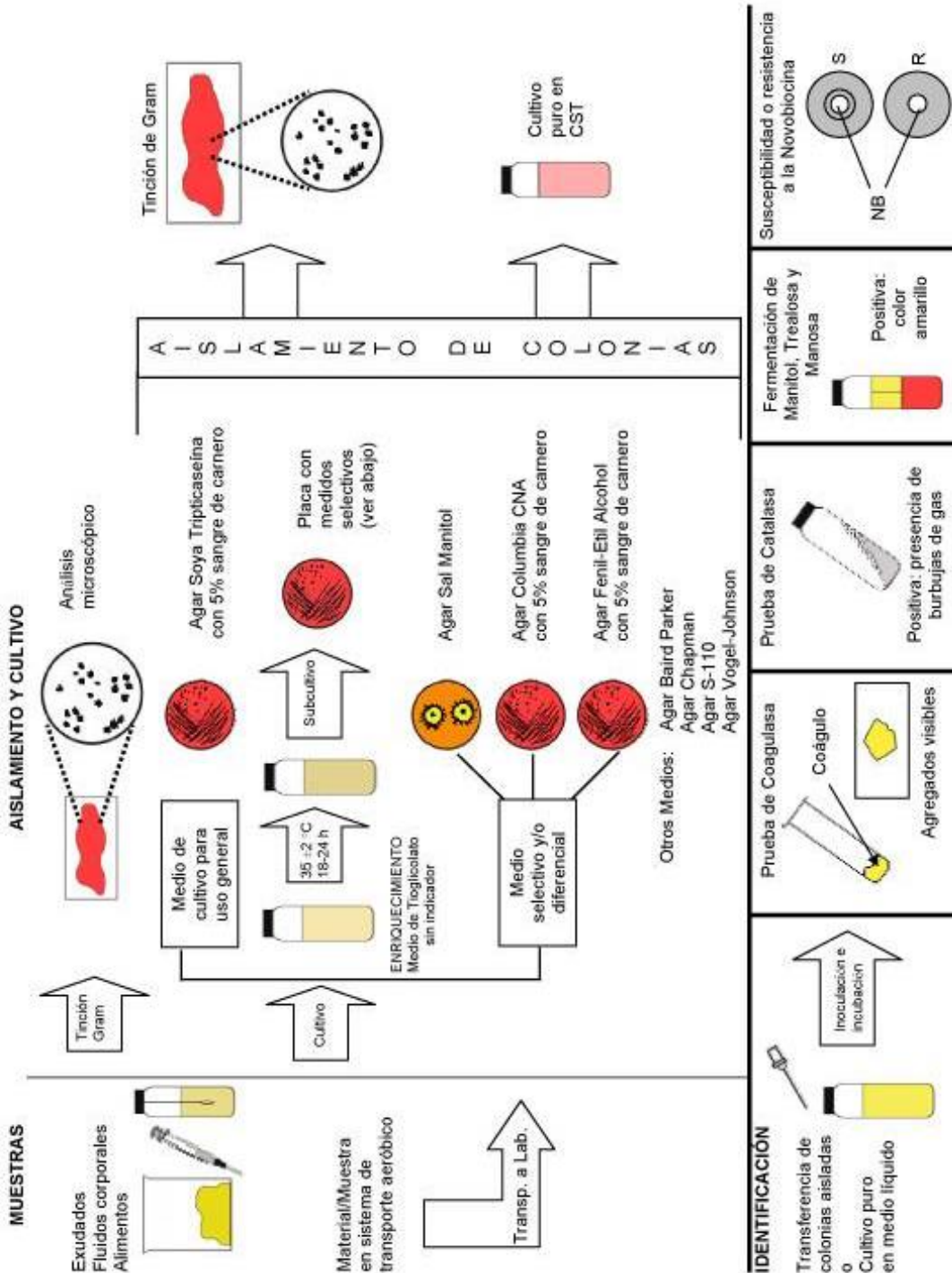
Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	299 / 320





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	300 / 320

**DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL Estafilococo**





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	301 / 320

### HEMOCULTIVO

#### COLECCIÓN DE MUESTRA Y TRANSPORTE

La muestra se toma con un sistema cerrado de colección de sangre, previa asepsia con alcohol isopropílico al 70% o con solución Povidone-Iodine al 10%, dejar secar. La muestra se deposita en medios para hemocultivo aerobio y anaerobio

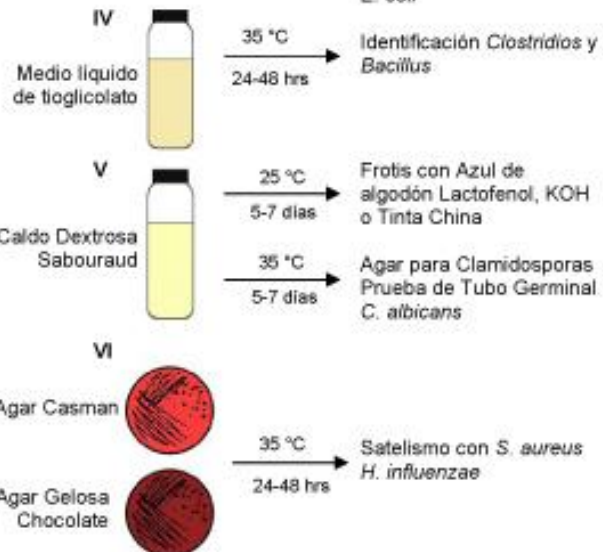
#### CULTIVO Y AISLAMIENTO



#### IDENTIFICACIÓN



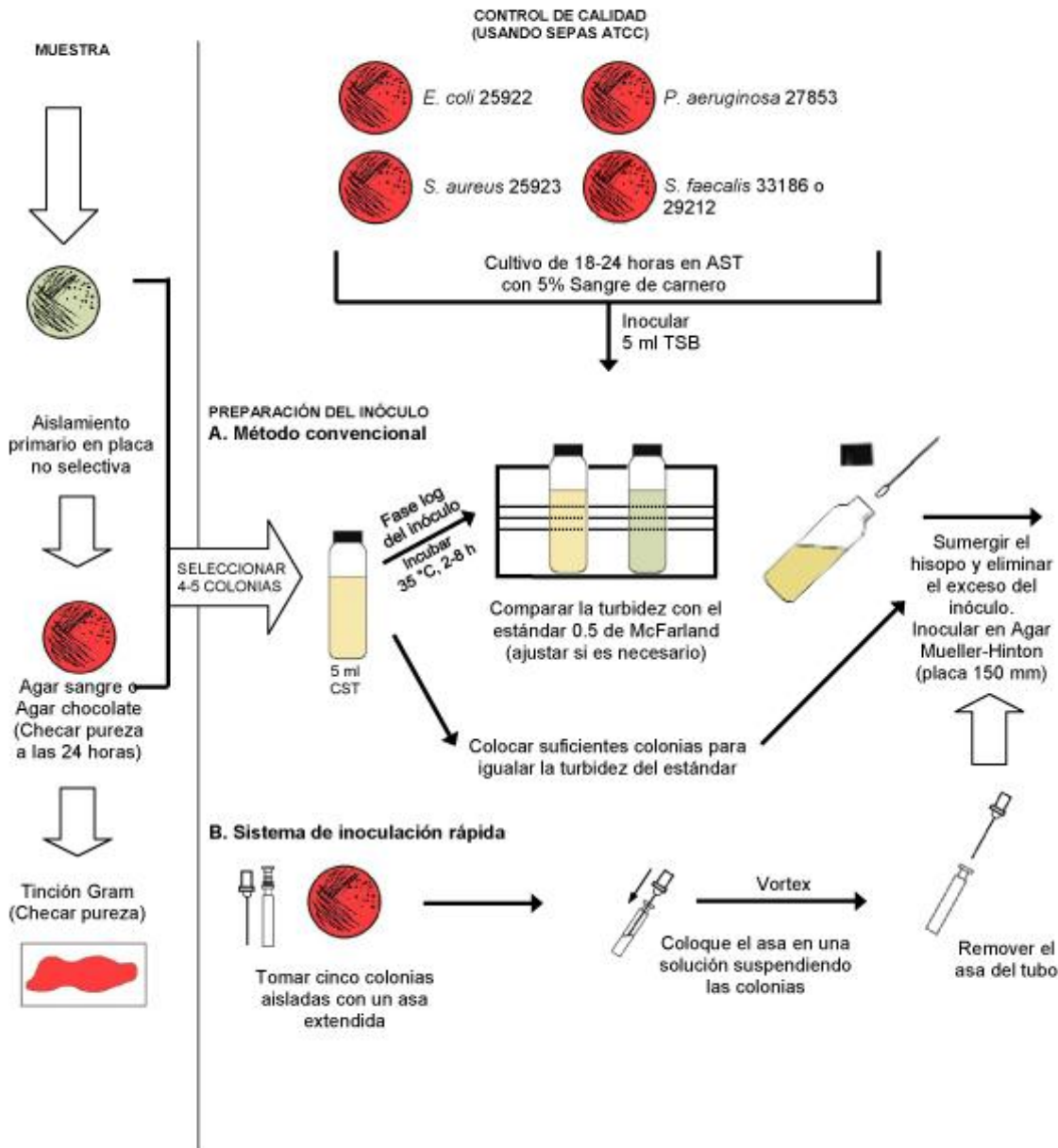
(seguir esquema de identificación de Enterobacterias)





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	302 / 320

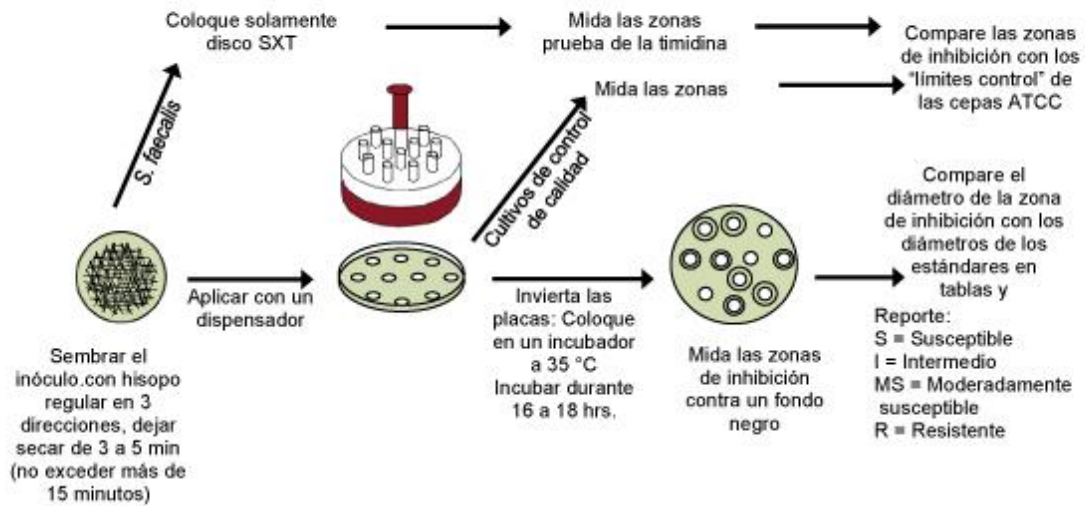
### PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA PARA BACTERIAS AEROBIAS





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	303 / 320

**PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA PARA BACTERIAS AEROBIAS**  
(Continuación)





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	304 / 320

# ANEXO H

# FORMATOS

# DE

# REPORTE





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	305 / 320

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza"

Carrera: Química Farmacéutico Biológica  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA  
REPORTE DE BACTERIOLOGÍA

Título de la Práctica: \_\_\_\_\_ EQUIPO: \_\_\_\_\_

TINCIÓN DE GRAM

Clave cepa	Forma individual	Agrupación	Tipo de Gram

MORFOLOGÍA COLONIAL

Clave Cepa				
Medio de Cultivo				
Tamaño				
Forma				
Borde				
Color				
Superficie				
Elevación				
Luz Reflejada				
Luz Transmitida				
Consistencia				
OTRAS <sup>1</sup>				

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



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	306 / 320

TINCIONES ESPECIALES

Clave Cepa			
Nombre tinción			
Estructura bacteriana			
Presencia y abundancia			

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 <sub>2</sub> 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 <sub>3</sub> a NO <sub>2</sub>						
Sorbitol							de NO <sub>2</sub> a N <sub>2</sub>						
Trehalosa							Leche Tornasol <sup>3</sup>						
O/F Glucosa <sup>2</sup>							O/F Manitol <sup>2</sup>						
RM / VP							O/F Maltosa <sup>2</sup>						
TSI (sup/fondo)							Red. del Azul de Metileno						

<sup>2</sup> O = Oxidativo

F = Fermentativo

N = No utiliza el carbohidrato

<sup>3</sup> A = Ácido

C = Coágulo

F = Fermentativo G = Gas P = Peptonización

K = Alcalino

R = Reducción



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>307 / 320</b>

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							C A M P						
Coagulasa							Solubilidad en Bilis						
Oxidasa							Crecimiento: 4 °C						
Sens. a: Bacitracina							42 °C						
Kanamicina							pH = 6						
Optoquina							pH = 9						
Prod. de: Píocianina							NaCl %						
Fluoresceína							Telurito 0.2 %						



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	308 / 320

Diámetro del halo de inhibición en mm

Antibiótico	Concentración	R (< o =)	I	MS	S (> o =)
Amikacina	30 µg	14	15 - 16		17
Ampicilina	10 µg				
<i>Enterobacteriaceae</i>		11	12 - 13		14
<i>Staphylococcus sp</i>		28			29
Enterococos		16		(> o =)	
Otros estreptococos		21		22 - 29	30
Carbenicilina	100 µg				
<i>Enterobacteriaceae</i>		17	18 - 22		23
<i>Pseudomonas sp</i>		13	14 - 16		17
Cefalotina	30 µg	14	15 - 17		18
Cefotaxima	30 µg	14		15 - 23	23
Ceftazidima	30 µg	14	15 - 17		18
Ceftriaxona	30 µg	13		14 - 20	21
Cefuroxima	30 µg	14	15 - 17		18
Cloranfenicol	30 µg	12	13- 17		18
Dicloxacilina	1 µg				
<i>Staphylococcus sp</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 sp</i>		28			29
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		19			20
Enterococos		14		(> o =)15	
Otros estreptococos		19		20 - 27	28
Tetraciclina	30 µg	14	15 - 18		19
Trimetoprim-sulfametoxazol	25 µg	10	11 - 15		16

Se debe reportar la categoría MS para indicar un nivel de sensibilidad que requiere la máxima dosis permitida para la terapia; las cepas que pertenecen a esta clasificación son sensibles y no deben considerarse como intermedia.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	309 / 320

## ANTIBIOGRAMA

CLAVE CEPA	_____	R, I, MS, 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	_____

Las siglas anteriores son las MUNDIALMENTE aceptadas.





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA



MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>311 / 320</b>

REFERENCIAS

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

ANEXOS

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>312 / 320</b>

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza"

Carrera: Química Farmacéutico Biológica  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

REPORTE DE MICOLOGÍA

Contenido:

1. Datos generales: nombre de los integrantes del equipo, título y fecha de realización de la práctica.
2. Microorganismo(s) utilizado(s) -género y especie-.
3. Condiciones de cultivo (medio de cultivo; temperatura y tiempo de incubación).
4. Descripción de la morfología macroscópica.
5. Descripción de la morfología microscópica con ilustraciones de los resultados obtenidos en el laboratorio; si no se observan adecuadamente en el laboratorio, consultar la bibliografía.
6. Descripción del cuadro clínico.
7. Descripción de la observación directa (microscópica) del agente patógeno en la lesión, ilustrada.
8. Descripción del tratamiento.
9. Mecanismo de acción de los agentes utilizados en el tratamiento.
10. Referencias.

NOTA: Sólo se ilustran 5 y 7; evita que el archivo sea demasiado grande o "pesado" utilizando estas ilustraciones en un formato adecuado.





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	<b>1</b>	<b>313 / 320</b>

# ANEXO I

# LISTA DE COTEJO





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	315 / 320

ACCIONES A EVALUAR EN LA LISTA DE COTEJO

Acción a evaluar	1 Uso correcto de bata, cubrebocas y guantes.	2 Realiza la limpieza de su área antes y después del trabajo en el laboratorio.	3 Realiza su trabajo en el laboratorio con medidas de seguridad adecuadas y con la normatividad aplicable.	4 Utiliza de manera óptima el equipo de laboratorio (Microscopio autoclave, refrigerador, etc.)	5 Etiqueta adecuadamente su material (cajas de Petri, tubos, portaobjetos, colorantes, etc)	6 Utiliza de manera óptima los medios de cultivo, pruebas bioquímicas y colorantes en el laboratorio.	7 Realiza el aislamiento e identificación de microorganismos en el laboratorio.	8 Elabora de manera limpia y ordenada los informes de laboratorio, así como la entrega de los mismos en el tiempo programado para ello	9 Demuestra trabajo cooperativo y colaborativo con los compañeros de su equipo.	10 Demuestra iniciativa para el trabajo en el laboratorio.
Alumno/ fecha										

MIEMBROS DEL EQUIPO:

A:

B:

C:

D:

E:



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	316 / 320

# ANEXO J

## FUNCIONES DE INTEGRANTES DE EQUIPO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	317 / 320

## MÓDULO DE BACTERIOLOGÍA Y MICOLOGÍA MÉDICAS

### FUNCIONES DE CADA UNO DE LOS INTEGRANTES DE LOS EQUIPOS

#### Supervisor

- Será el responsable de que cada uno de los integrantes del equipo observen durante el desarrollo experimental realicen adecuadamente los procedimientos en el laboratorio.
- Coordinará a los integrantes del equipo para que trabajen cooperativamente y no de forma individual.
- De acuerdo a cada práctica y con base en la programación asignará funciones a cada uno de los integrantes del equipo.
- Coordinará las actividades del equipo con los otros equipos para programar el uso de los equipos y materiales; y programar el uso de los kits de tinciones.
- Coordinará las discusiones de los problemas que puedan presentarse durante el transcurso del desarrollo experimental.
- Vigilará y comprobará que los datos que se vayan obteniendo sean anotados en las libretas respectivas, y verificarlo al final de la sesión práctica.
- Será intermediario de la comunicación entre el profesor (asesor) y el equipo.
- Proporcionará apoyo en forma práctica a los integrantes del equipo cuando éstos lo requieran.
- Será el responsable de la recopilación de los datos y resultados experimentales obtenidos, para la elaboración del reporte de cada práctica.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	318 / 320

### **Encargado de limpieza, solicitud de materiales preparados y entrega de materiales para esterilización**

- Será el responsable de solicitar y mantener en condiciones de trabajo el material de vidrio, reactivos y mesas de trabajo. Será el responsable de realizar las diferentes tinciones que se requieren en cada una de las prácticas
- •Será el responsable de solicitar el material ( medios de cultivo, pruebas bioquímicas y medios de cultivo) para cada una de las prácticas.
- Será el responsable del etiquetar los medios de cultivo y pruebas bioquímica de acuerdo a cada una de las cepas problema.
- Será el responsable de entregar sin ninguna etiqueta el material de prácticas para su esterilización..
- Será el responsable de solicitar el equipo y tenerlo en condiciones de trabajo.

### **Encargado de siembra y lectura de medios de cultivo**

- Será el responsable de sembrar medios de cultivo, pruebas bioquímicas y pruebas especiales
- Será el responsable de incubar los medios de cultivo, pruebas bioquímicas y pruebas especiales.
- Será el responsable de realizar las lectura de resultados de los crecimientos en medios de cultivo, pruebas bioquímicas y pruebas especiales.
- Si el equipo es conformado por cuatro alumnos, 2 alumnos deberán realizar esta actividad.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML26	17/02/20	1	319 / 320

### EFFECTOS Y BENEFICIOS ESPERADOS

- Con la aplicación del presente proyecto se espera:
  - a) Responsabilizar a los alumnos en su trabajo en equipo
  - b) Distribuir el trabajo de cada práctica entre todos los integrantes de los equipos
  - c) Al rotar las diferentes funciones de los alumnos en las prácticas, los alumnos tendrán la oportunidad de ser líderes de su equipo.
  - d) Se espera fortalecer el trabajo cooperativo y colaborativo
  - e) Los alumnos entre equipo tomarán decisiones, siempre en acompañamiento de los profesores.
  - f) Se espera una mejora en la interpretación de resultados y en la entrega del informe final.
  - g) Se espera una disminución en los tiempos de ejecución de cada una de las prácticas.
  - h) Mejorar las calificaciones de los alumnos en el laboratorio de Microbiología Médica



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA



MANUAL DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y  
MICOLOGÍA MÉDICAS

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-QFB-ML26</b>	<b>17/02/20</b>	1	<b>320 / 320</b>

