



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY”



BACTERIOLOGÍA CLÍNICA

CARRERA: “TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO”

Programa 2021



Elaborado por:

M. en E. Alejandra Fragoso Camacho

Agosto 2026



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
"DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY"



INSTRUCTIVO DE PRÁCTICAS
LABORATORIO DE

BACTERIOLOGÍA CLÍNICA

PROFESOR TITULAR: _____

PROFESOR DE LABORATORIO: _____

PROFESOR DE LABORATORIO: _____

NOMBRE DEL ESTUDIANTE: _____

No. DE BOLETA: _____ GRUPO: _____ No. DE EQUIPO: _____

CICLO ESCOLAR: _____

ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:	AUTORIZADO POR:
M. en E. Alejandra Fragoso Camacho	M. en E. Gil Moisés López Iñiguez.	M. en B. Arquímedes Ramos Palma	Lic. Lilia Acosta Ramírez
Docente	Presidente de Academia	Jefe de Área Académica	Subdirector Académico



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY “
ACADEMIA DE: TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO
LABORATORIO DE: BACTERIOLOGÍA CLÍNICA



Clave: BC-LT	Revisión: 18 /08/2026	Fecha de emisión: 25/08/26	Página
--------------	-----------------------	----------------------------	--------

Propósito general de la unidad de aprendizaje

Esta unidad de aprendizaje tiene como propósito que el estudiante desarrolle las competencias teórico-prácticas fundamentales para el aislamiento, identificación y caracterización de bacterias de importancia clínica, aplicando métodos aprendidos durante el curso de microbiología. Asimismo, busca que el estudiante comprenda la relevancia epidemiológica, diagnóstica y terapéutica de los principales grupos bacterianos, fomentando el pensamiento crítico, la interpretación responsable de resultados y la integración del conocimiento microbiológico con la práctica clínica y de laboratorio. De esta manera, se pretende que el estudiante adquiera una visión integral del papel de la bacteriología clínica en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, la prevención de complicaciones y el apoyo al tratamiento médico, contribuyendo a la mejora de la salud individual y colectiva.

Justificación

Este curso se sustenta en actividades prácticas de laboratorio que integran conceptos, técnicas y procedimientos microbiológicos fundamentales, constituyendo un apoyo esencial en la formación del Técnico Laboratorista Clínico. A su vez, el material sirve como recurso para el docente, ya que facilita la planificación, sistematización y formalización de los contenidos, asegurando que los estudiantes reciban una instrucción homogénea y de calidad.

La bacteriología clínica se encuentra en constante evolución gracias a los avances tecnológicos y a la incorporación de métodos derivados de la biología molecular, que han transformado el diagnóstico microbiológico. Por ello, este curso busca desarrollar en el estudiante una mentalidad crítica y reflexiva, capaz de reconocer las ventajas, limitaciones y aplicaciones tanto de las técnicas clásicas como de las modernas, lo que le permitirá tomar decisiones fundamentadas en beneficio de los pacientes.

Si bien este manual no aborda en detalle las técnicas de última generación, se promueve la autonomía académica y profesional del estudiante al motivarlo a consultar fuentes especializadas y mantenerse actualizado frente al progreso científico.

En suma, la presente unidad de aprendizaje contribuye a la formación de personal de laboratorio competente, ético y preparado para enfrentar los retos del diagnóstico bacteriológico clínico, fortaleciendo el papel del laboratorio en la atención integral de la salud humana.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY “
ACADEMIA DE: TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO
LABORATORIO DE: BACTERIOLOGÍA CLÍNICA



Clave: BC-IND

Revisión: 18 /08/2026

Fecha de emisión: 25/08/26

Página: de

ÍNDICE

Lineamientos de trabajo.....	1
Práctica 1. Identificación de morfología microscópica y colonial de la microbiota oral.....	5
Práctica 2. Obtención y procesamiento de exudado nasal.....	9
Práctica 3. Obtención y procesamiento de exudado faríngeo.....	13
Práctica 4 Determinación de la sensibilidad bacteriana.....	18
Práctica 5. Proceso de muestra de esputo para detección de Tuberculosis Pulmonar.....	22
Práctica 6. Análisis de coprocultivo y Urocultivo.. ..	31
Práctica 7. Análisis de coprocultivo y urocultivo. Resiembra.....	38
Práctica 8. Análisis de coprocultivo y urocultivo. Identificación.....	49
Práctica 9. Análisis de coprocultivo y urocultivo. Interpretación de resultados.....	55
Práctica 10. Infecciones de piel y heridas.....	60
Práctica 11. Correlación de procesos infecciosos, signos, síntomas y agentes etiológicos.....	63
Práctica 12. Exudado ocular. Preparación de medio de cultivo.....	66
Práctica 13. Exudado ocular. Siembra y aislamiento.....	69
ANEXOS.....	74



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY “
ACADEMIA DE: TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO
LABORATORIO DE: BACTERIOLOGÍA CLÍNICA



Clave: BC-LT

Revisión: 18 /08/2026

Fecha de emisión: 25/08/26

1 página: de 76

**LINEAMIENTOS DE TRABAJO PARA LOS LABORATORIOS DE LAS UNIDADES DE
APRENDIZAJE DE LA CARRERA DE TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO (TLC).**

Lineamientos de trabajo

1. Podrán realizar las prácticas los estudiantes que estén inscritos oficialmente o con la autorización del profesor titular, **(Reglamento Interno del IPN; Título Tercero, Capítulo 1, Art. 77 y Reglamento General de estudios; Art. 36 apartado I)**
2. Se impartirá una sesión por semana a cada grupo, tomándose la asistencia al inicio de cada una de ellas con un margen de tolerancia de cinco minutos después de la hora señalada para ingresar al laboratorio, **(Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado1 y Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI).**
3. Es obligación de las alumnas y alumnos asistir con puntualidad y constancia a sus clases, la academia acuerda que la asistencia se registrara al inicio de cada sesión, dando como tolerancia de ingreso lo enunciado en el punto 2 de estos lineamientos, **(Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI).**
4. Cuando todo el grupo deje de asistir a alguna práctica y no exista causa justificada oficialmente, esta se dará por vista registrándose como No Presentada y podrá ser tema de cualquier evaluación, **(Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado1 y Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI)**
5. Solo podrán ser justificadas las inasistencias mediante el justificante oficial emitido por la Institución, practica no realizada se calificará con cero, ya que, si no se realiza una práctica, no se puede evaluar, **(Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI).**
6. Para garantizar espacios confiables y seguros, la entrada al laboratorio será con bata blanca de manga larga, vestida correcta y perfectamente abotonada; la cual se deberán quitar al salir de laboratorio, **(Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS y NOM-017-STPS-2008).**
7. Para salvaguardar la integridad física de alumnas, alumnos, profesoras y profesores se requiere que ingresen con zapatos cerrados, cabello recogido, uñas cortadas y sin esmalte, **(Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS y NOM-017-STPS-2008).**
8. Entre las buenas prácticas de laboratorio se indican: no comer, beber, fumar y aplicar cosméticos dentro del laboratorio, **(Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS, Capítulo 3; apartado de Código de Prácticas y Protección Personal).**

9. Cada alumno deberá trabajar durante todo el curso en el equipo y mesa de trabajo asignado al inicio de este, salvo que los profesores lo cambien para mejorar su atención, **(Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado1)**.
10. Es necesario que los alumnos guarden orden, disciplina y atención durante la estancia en el laboratorio para prevenir accidentes y daños al equipo, **(Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado1 y Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Tercero, Capítulo VI)**.
11. Para evitar retraso durante el desarrollo de la práctica a realizar, los alumnos y alumnas deberán estudiarla cuidadosamente antes de ingresar al laboratorio, de esta forma se promueve la adquisición de conocimientos y se resolverán las actividades previas indicadas por los y las profesoras, **(Código de Ética del IPN, Capítulo IV.2 apartado1)**.
12. De acuerdo con las necesidades del trabajo desarrollado en el laboratorio, los profesores darán las indicaciones en el uso de aparatos electrónicos, **(Código de Ética del IPN, Capítulo IV.1 apartado2 y Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Cuarto, Capítulo I)**.
13. Con base a lo establecido en la **NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002**, los RPBI generados (no anatómicos, punzocortantes, cultivos y cepas.) durante el desarrollo de la practicas deberán separarse y depositarse en las bolsas rojas y contenedores indicados.
14. Los residuos sólidos urbanos deberán separarse y depositarse en los botes colocado en la entrada del laboratorio y no en las tarjas cónicas de las mismas ni en los contenedores indicados para RPBI, **(NADF-024-AMBT-2013)**.
15. El material que se utiliza en la práctica deberá quedar en el lugar que se indique y perfectamente limpio y seco. **(Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS)**.
16. La entrega del informe practico se hará el mismo día de la práctica después de la fecha indicada no se recibirá, **(Código de Ética del IPN, Capítulo IV.1 apartado2 y Reglamento Interno del IPN, Sección Séptima, Título Cuarto, Capítulo I)**.
17. Para tener derecho a presentar el examen ordinario "C", será requisito indispensable tener mínimo el 80% de asistencias y prácticas realizadas, (si no se justifican las inasistencias); si se tiene menos del porcentaje indicado para poder acreditar el curso, se deberá presentar una evaluación extraordinaria o ETS, los cuales serán teórico-prácticos, los cuales incluirán los contenidos del programa de estudio correspondiente, **(Reglamento general de estudios del IPN, capítulo sexto, artículos 45 y 48)**.
18. El programa de estudios de la carrera de **Técnico Laboratorista Clínico** está conformado por Unidades de Aprendizaje Teórico – Prácticas, por tal motivo del **100 %** de la evaluación el **40 %**
19. comprende la parte teórica y un **50%** la parte práctica, así mismo se incluye la evaluación del Proyecto Aula, al cual se le asigna un **10 %** en los parciales A y B, en el parcial C la ponderación del proyecto aula será del **20 %**, realizando los ajustes correspondientes a la parte práctica, **(Reglamento de Academias del IPN, Capítulo I, Art. 3 y Capítulo II Art. 7)**.

PORCENTAJES DE EVALUACIÓN TEÓRICO – PRACTICO

PARCIAL “A Y B”

TEORIA: 50 %

EVALUACIÓN ESCRITA 30 %

TAREAS 10%

PROYECTO AULA 10%

LABORATORIO 50 %

EVALUACIÓN ESCRITA 30 %

EVALUACIÓN PREVIA 10%

INFORME PRÁCTICO 10 %

DESEMPEÑO EN EL LAB. 0.0 %

PARCIAL “C”

TEORIA: 60 %

EVALUACIÓN ESCRITA 30 %

TAREAS 10 %

PROYECTO AULA 20%

LABORATORIO 40 %

EVALUACIÓN ESCRITA 20 %

EVALUACIÓN PREVIA 10%

INFORME PRÁCTICO 10 %

DESEMPEÑO EN EL LAB. 0.0 %

Evaluación escrita

Evaluación relacionada con el contenido de las prácticas realizadas durante el parcial correspondiente y se aplicará al término de cada uno de estos.

Evaluación previa

Esta consistirá 5 preguntas escritas relacionadas con el contenido de la práctica que se resolverán de manera individual, lo que significa que será responsabilidad de cada estudiante leerla previamente.

Informe práctico

- Instructivo: se les compartirá de forma electrónica NO es necesario imprimirlo.
- Informe: para la elaboración del reporte se les proporcionará un formato el cual debe estar engrapado y dentro de un folder.
- Folder: este debe ser del color indicado por los profesores, forrado con plástico, identificarlo con una portada la cual debe contener los escudos del IPN y la escuela, nombre de la unidad de aprendizaje, grupo, número de equipo y los nombres de cada integrante del equipo ordenados de forma alfabética, comenzando por el apellido paterno, materno y nombre(s). SOLO SE RECIBIRAN LOS FOLDERS QUE CUMPLAN CON LAS ESPECIFICACIONES ANTERIORES.
- Entrega del informe: el informe práctico debe ser entregado a los 8 días de haber realizado la práctica, escrito a mano, con letra legible, se tomará en cuenta para su evaluación la presentación, limpieza, ortografía y redacción. Su entrega y evaluación es individual, la estructura es la siguiente:

Número y título de la práctica



No tienen valor, sin embargo,
son requisitos para la evaluación

Aprendizaje Esperado

Introducción (Organizador gráfico) 1P

Diagrama de flujo 1P.

Resultados 2P.

Análisis de Resultados 2P.

Conclusiones 2P.

Cuestionario/Referencias bibliográficas 2P.

Mínimo dos, con base en los criterios de Vancouver y son requisito para la evaluación del cuestionario

Desempeño en el laboratorio

No tendrá un valor dentro de la escala de evaluación, sin embargo, es obligación de cada estudiante considerar durante el desarrollo de la práctica los siguientes aspectos a fin de evitar cualquier accidente, utilizar de forma correcta los materiales proporcionados y optimizar su aprendizaje en cada sesión:

- Presentación personal bata limpia y abotonada, cabello recogido, uñas cortas y limpias, sin maquillaje, sin joyería).
- Respeto a normas de bioseguridad: uso correcto de materiales, no ingerir alimentos, desecho adecuado de residuos.
- Actitud en el trabajo: respeto a compañeros, concentración, evitar distracciones.
- Orden y limpieza: dejar el área de trabajo en condiciones adecuadas.
- Habilidad para el desarrollo de las actividades prácticas.

IMPORTANTE:

La Asistencia y puntualidad (sin valor para calificación). Se requiere contar con una asistencia mínima de 80% para ser evaluado.

Para la realización de las prácticas los estudiantes deben traer los siguientes materiales:

MATERIAL POR EQUIPO

Un marcador indeleble
Encendedor
Esponja (dentro de un estuche)
Una franela
Jabón para manos

MATERIAL POR GRUPO

½ Kg. de bolsa tipo camiseta
1 kg. de papel estraza
1 Masking tape 18 mm de ancho



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY “
ACADEMIA DE: TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO
LABORATORIO DE: BACTERIOLOGÍA CLÍNICA



Clave: BC-P1

Revisión: 18 /08/2026

Fecha de emisión: 25/08/26

Página: 5 de 76

PRÁCTICA No. 1 IDENTIFICACIÓN DE MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA Y COLONIAL DE LA MICROBIOTA ORAL

APRENDIZAJE ESPERADO

Emplea las características macroscópicas y microscópicas de la microbiota (residente, transitoria y patógena) para la diferenciación de la diversidad morfológica de agentes microbianos en la cavidad oral.

INTRODUCCIÓN

El feto humano vive en un entorno protegido prácticamente estéril, sin embargo, esta situación cambia rápidamente en el momento de nacer, que es cuando el lactante queda expuesto a arqueas, bacterias, hongos y virus procedentes de la madre, de otros contactos próximos y del ambiente. En los años siguientes en él se formarán comunidades de microorganismos en la superficie de su piel, fosas nasales, la cavidad bucal, los intestinos y el aparato genitourinario, conocidas como microbiota.

Antes de continuar es preciso diferenciar dos conceptos microbiota y microbioma, a veces se usan indistintamente, sin embargo, si hay una diferencia fundamental la *microbiota* se define como la comunidad de microorganismos (bacterias, hongos, arqueas, virus y parásitos) que vive en el interior y el exterior del individuo la cual varía mucho dependiendo del entorno y nichos del huésped en estados de salud y enfermedad, en tanto que el microbioma se refiere al conjunto de genes o la composición genética de los microorganismos que alberga el cuerpo humano, es decir, de la microbiota.

Los microorganismos que componen la microbiota son muy abundantes, (alrededor de cien trillones), su número supera unas diez veces al de células de nuestro propio organismo. Son seres vivos que conviven en nuestro cuerpo a lo largo de la evolución y son fundamentales para la vida y la salud humana.

Las personas sanas conviven en armonía con la microbiota en una relación simbiótica con nuestro organismo de tal manera que el ser humano proporciona un hábitat y condiciones adecuadas a cambio de ayudar en la digestión, síntesis de vitaminas (K, B₁₂ y folato), el metabolismo de las sales biliares,

modulación de algunos fármacos y la protección contra la colonización de otros microorganismos patógenos estos últimos definidos como aquellos microorganismos capaces de causar enfermedad.

La microbiota está formada principalmente por bacterias y hongos, e incluye a la microbiota residente normal, que está presente siempre y se reestablece rápidamente si se produce una alteración, y la microbiota transitoria capaz de colonizar al huésped durante horas a semanas, pero que no se establece de manera permanente. En ocasiones, los microorganismos que forman parte de la microbiota normal pueden causar enfermedades, especialmente cuando se alteran los mecanismos de defensa (microbiota oportunista).

Existen ciertos órganos en una persona sana que están libres de microorganismos como el cerebro y la sangre, en cambio la piel, las mucosas que están en contacto permanente con microorganismos del medio ambiente son fácilmente colonizados. Se ha encontrado que los microbios son diferentes en los diversos nichos como: boca, intestino, piel, vías urinarias, vagina, etc.

El tropismo o la atracción por determinados tejidos determina qué partes del cuerpo colonizan los microorganismos. La microbiota está influida por el tropismo y por muchos otros factores (p. ej., la dieta, la higiene, las condiciones sanitarias, la contaminación del aire). Por ejemplo, los lactobacilos son frecuentes en el intestino de las personas que ingieren muchos productos lácteos; el *Haemophilus influenzae* coloniza el árbol traqueobronquial de los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Como consecuencia los diferentes hábitats corporales contienen numerosas comunidades microbianas, formando microbiomas que difieren en composición y función microbiana. Se ha encontrado que los microbios son diferentes en los diversos nichos como: boca, intestino, piel, vías urinarias, vagina.

Microbiota de la boca

La cavidad bucal está compuesta de muchas superficies, cada una de ellas recubierta por una gran cantidad de bacterias, se han identificado más de 700 especies de bacterias que pueden encontrarse dentro de la boca, según señala un estudio del Journal of Bacteriology, formando la biopelícula bacteriana. Algunas de estas bacterias han sido implicadas en enfermedades bucales como la caries y la periodontitis, que están entre las infecciones bacterianas más comunes en los seres humanos.

Entender el microbioma bucal es una tarea compleja, debido a la gran variedad de hábitats dentro de la cavidad bucal y esto depende de las concentraciones de oxígeno, la disponibilidad de nutrientes, la temperatura, la exposición a factores inmunológicos y las características anatómicas. Las especies del género *Streptococcus pyogenes*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *S. sanguis* y *S. viridans* se encuentran en una alta proporción en tejidos blandos, saliva y en la lengua. Las especies del género *Actinomyces* se encuentran a nivel supragingival e infragingival, en saliva y en fisuras de la lengua. Otras bacterias

como *Veillonella parvula* y *Neisseria* pueden ser aisladas en todos los hábitats orales. En los labios podemos aislar *Staphylococcus epidermidis* y por especies de los géneros *Kocuria* y *Micrococcus*; también puede existir colonización intracelular en células epiteliales de la cavidad bucal por complejos bacterianos constituidos por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, y *Tannerella forsythia*.

En cuanto a los dientes los principales factores que contribuyen a la aparición de enfermedades dentales son dos especies de bacterias: *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) y *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*). Además, los lactobacilos están relacionados con la caries radicular. La revista PloS One señala que *S. mutans* utiliza azúcares de la dieta para producir un ácido que provoca la desmineralización asociada a la caries dental. *S. mutans* también produce polisacáridos extracelulares al principio del proceso de formación de la biopelícula, que forman un verdadero “pegamento” para la biopelícula. Se cree que *P. gingivalis* es el principal microorganismo implicado en la periodontitis crónica, según *Frontiers in Microbiology*.

Cabe mencionar que las bacterias no son los únicos microorganismos presentes en la cavidad bucal, pues también se han descrito miembros del dominio *Archaea* como *Methanobrevibacter oralis*, *Desulfovibrio* y *Desulfubulbus* específicamente en la bolsa periodontal y en el biofilm subgingival.

Estudios recientes han demostrado que la mayoría de los microorganismos orales son cultivables; que el microbioma oral es mucho más diverso de lo que se pensaba; y que las infecciones bucales son de naturaleza polimicrobiana.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material	Equipo
2 hisopos de dacrón o alginato de calcio estériles	Microscopio
1 abatelenguas estéril	Refrigerador
1 portaobjetos	Estufa bacteriológica
1 mechero Fisher	Balanza analítica
1 Puente de tinción	Reactivos
1 asa bacteriológica	Kit para tinción de Gram
2 matraces Erlenmeyer de 500	1 tubo con solución salina estéril
1 probeta	0.85% Medios de cultivo
1 espátula	Una placa de:
Papel estraza, algodón gasa	Agar sangre
Cinta testigo	Agar sal manitol
Cajas de Petri estériles	

DESARROLLO

1. Humedecer dos hisopos con solución salina al 0.85%.
2. Tomar con ambos hisopos una muestra de las diferentes áreas de la cavidad oral (dientes, lengua, encías).
3. Elaborar un frotis utilizando uno de los hisopos, haciendo un extendido fino de la muestra sobre la superficie de un portaobjetos limpio para teñir por Gram.
4. Descargar la muestra contenida en el otro hisopo rotándolo en un sexto de las cajas de los medios de agar gelosa sangre y agar sal y manitol.
5. Sembrar la superficie de los medios de cultivo por estría cruzada con el objetivo de obtener colonias aisladas. En el agar sangre de carnero al 5%, realiza dos picaduras, una en la última y una penúltima estría; con la finalidad de observar la hemólisis bajo la superficie del agar.
6. Incubar a 35-37°C de 18-24 hrs.
7. Sacar las placas de la incubadora al término del tiempo de incubación.
8. Observar las colonias desarrolladas en los diferentes medios.
9. Seleccionar una colonia aislada en cada uno de los cultivos para la descripción de su morfología colonial y tinción de Gram.

RESULTADOS

- a) A partir del frotis realizado, elabora un esquema de las bacterias vistas en el microscopio e indica su forma, agrupación y Gram.
- b) Transcurrido el tiempo de incubación, saca los cultivos de la incubadora y en condiciones asépticas observa las colonias desarrolladas. Elige una colonia de los cultivos obtenidos en las cajas de agar sangre y agar sal manitol y describe su morfología colonial. y microscópica.
- c) Realiza un frotis a partir de la colonia descrita y elabora un esquema de las bacterias vistas en el microscopio e indica su forma, agrupación y Gram.

CUESTIONARIO

1. ¿Por qué se considera importante conocer la microbiota habitual del organismo en el momento de realizar estudios microbiológicos?
2. ¿Qué microorganismos no patógenos podemos encontrar en la cavidad oral?
3. ¿Cuál es la finalidad de realizar un frotis y tinción de Gram al inicio de la toma de muestra?
4. ¿Qué condiciones pueden ocasionar que la microbiota habitual se convierte en patógena? Explica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY “
ACADEMICA DE: TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO
LABORATORIO DE: BACTERIOLOGÍA CLÍNICA



Clave: BC-P2

Revisión: 18 /08/2026

Fecha de emisión: 25/08/26

Página: 9 de 76

PRÁCTICA No. 2 OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE EXUDADO NASAL

APRENDIZAJE ESPERADO

Utiliza la técnica microbiológica adecuada en el procesamiento de la muestra obtenida del exudado nasal para aislar a los patógenos implicado en procesos infecciosos de las fosas nasales.

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus coloniza normalmente piel; sin embargo, es un importante patógeno humano causante de enfermedades hospitalarias y de la comunidad, debido a su distribución cada vez más amplia y frecuente. Causa habitualmente serias infecciones crónicas, las cuales pueden ser refractarias al tratamiento antimicrobiano.

El principal nicho ecológico de *S. aureus* en humanos lo constituyen las fosas nasales anteriores, las cuales son fuentes potenciales de infección y un factor de riesgo elevado para subsiguientes infecciones invasivas. Se ha registrado que muchas de ellas ocurren en personas que están colonizadas con esta bacteria y ha sido demostrado que *S. aureus*, en algunas ocasiones, puede tener una estrategia eficaz para evadir la respuesta inmune del hospedador y de esta forma sobrevivir en los tejidos, eludiendo la acción antibiótica y estableciendo así la infección crónica.

Esta bacteria tiene forma de coco, agrupada en racimos, Gram positivos, capaz de colonizar a un individuo formando parte de la flora normal durante meses o años y no es detectado a menos que provoque una infección sintomática. Esta situación de portación prolongada hace difícil de establecer en qué momento ocurrió la colonización.

Existen diversos factores de riesgos epidemiológicos asociados con la portación y diseminación de *S. aureus* tales como uso de antibióticos, hospitalización prolongada, lesiones en la piel, entre otros.

La toma de muestra en la vigilancia epidemiológica de *S. aureus* va encaminada a detectar paciente o personal sanitario colonizados por este microorganismo, siendo el exudado nasal la muestra más adecuada si se elige para el cultivo de vigilancia y con una mayor sensibilidad.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material 2 hisopos alginato de calcio estériles 1 abatelenguas estéril 2 portaobjetos 1 mechero Fisher 1 Puente de tinción 1 asa bacteriológica 2 pipetas Pasteur con bulbo 2 matraces Erlenmeyer de 500 1 probeta 1 espátula Papel estraza, algodón gasa Cinta testigo Cajas de Petri estériles Equipo Microscopio Refrigerador Estufa bacteriológica Balanza analítica	Medios de cultivo Una placa de: Agar sangre Agar sal manitol Agar Biggy Reactivos Kit para tinción de Gram 1 tubo con solución salina estéril 0.85% Agua oxigenada al 30% Suero
---	---

DESARROLLO

1. Solicitar al paciente que incline la cabeza hacia atrás y con el dedo pulgar de una mano levante la punta de la nariz.
2. Humedecer el hisopo, previamente en solución salina 0.85% estéril para tomar la muestra de **ambas fosas nasales**.
3. Insertar cuidadosamente el hisopo al menos un centímetro dentro de la fosa nasal.
4. Tomar la muestra firmemente dentro de la fosa nasal, rotando el hisopo y dejándolo en un mismo lugar por 10 a 15 segundos.
5. Retirar el hisopo con cuidado a fin de evitar la contaminación del mismo con las bacterias de la piel.
6. Realizar un extendido fino de la muestra sobre la superficie de un portaobjetos limpio para teñir por Gram.

7. Proceder de igual forma con un segundo hisopo para la siembra en medios de cultivo.
8. Descargar el hisopo sobre un sexto de las placas de agar gelosa sangre, agar sal y manitol y agar Biggy rotando el mismo, para que toda la superficie del hisopo entre en contacto con el agar.
9. Esterilizar el asa bacteriológica y sembrar la superficie de los medios de cultivo por estría cruzada con el objetivo de obtener colonias aisladas.
10. Efectuar con el asa estéril picaduras oblicuas al agar ya que esto permite el crecimiento de las bacterias debajo de la superficie del mismo en condiciones anaeróbicas.
11. Incubar las placas durante 24 horas a 37°C, en condiciones de aerobiosis.
12. Sacar las placas una vez transcurrido el tiempo de incubación en busca de colonias sugestivas de *S. aureus*.

Precauciones:

Para la obtención de la muestra, se sugiere utilizar hisopos flexibles de alginato de calcio. No debe usarse la fuerza, si se encuentra alguna obstrucción el cultivo nasofaríngeo no debe tomarse de ese lado. En niños no introducir el hisopo profundamente.

Conservación y transporte: En caso de no poder inocularse directamente en el medio de cultivo indicado, entonces se deberá inocular en medio de transporte adecuado (Amies-Stuart).

Esta muestra es útil para la detección de portadores de patógenos como: *N. meningitidis*, *C. diphtheriae* y *B. pertussis*, *S. aureus* o en el diagnóstico etiológico de impétigo. No es útil para el diagnóstico etiológico en caso de rinitis o rinosinusitis.

Prueba de catalasa

1. Depositar en un portaobjetos una o dos gotas de agua oxigenada al 30% .
2. Recoger con el asa de siembra una colonia pura de 18-24 horas y mezclarla con las gotas de agua oxigenada colocadas previamente en el portaobjetos.
3. Observar la formación inmediata de una efervescencia rápida con desprendimiento de burbujas (resultado positivo).
4. Desechar el portaobjetos en un recipiente con desinfectante.

Nota: Si se utilizan para esta prueba cultivos procedentes de agar sangre, se debe tener la precaución de no retirar algo de agar con el asa junto con la colonia ya que los eritrocitos del medio contienen catalasa y su presencia dará un falso resultado positivo.

Prueba de coagulasa

1. Tomar con el asa un inóculo con el microorganismo obtenido en el medio de agar sal y manitol y mezclarlo con 0.5 mL de plasma de conejo, contenido en un tubo de Khan.
2. Incubar en baño de agua a 37°C y examinar periódicamente.

Considera la prueba positiva si el plasma es coagulado en 3 a 4 horas, aunque algunas cepas con escasa producción de coagulasa, coagulan el plasma después de 24 horas de incubación.

RESULTADOS

- a) A partir del frotis realizado, elabora un esquema de las bacterias vistas en el microscopio e indica su forma, agrupación y Gram, también anota si hay presencia de células inflamatorias principalmente neutrófilos (4xc escaso; 5-10xc moderado; >10xc abundantes).
- b) Transcurrido el tiempo de incubación, saca los cultivos de la incubadora y en condiciones asépticas observa las colonias desarrolladas. Elige una colonia de los cultivos obtenidos en las cajas de agar sangre y agar sal manitol y describe su morfología colonial y microscópica.
- c) A partir del frotis realizado elabora un esquema de las bacterias vistas en el microscopio e indica su forma, agrupación y Gram.
- d) Anota los resultados de catalasa y coagulasa de las colonias seleccionadas.

CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la principal aplicación clínica del cultivo de exudado nasal y cuál es su importancia?
2. Define que es hemólisis y anota los diferentes tipos de esta.
3. Anota el fundamento de los diferentes tipos de hemólisis.
4. Escribe el fundamento de las pruebas de catalasa y coagulasa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



PRÁCTICA No. 3 OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE EXUDADO FARÍNGEO

APRENDIZAJE ESPERADO

Utiliza la técnica microbiológica adecuada en el procesamiento de la muestra obtenida del exudado faríngeo para aislar a los patógenos implicado en procesos infecciosos de las vías respiratorias altas.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto respiratorio superior son las más frecuentes en el ser humano. La faringoamigdalitis aguda es un proceso agudo febril, de origen generalmente infeccioso, que cursa con inflamación de la mucosa del área faringoamigdal, con presencia de eritema, edema, exudados, úlceras o vesículas. La faringoamigdalitis es una de las causas más frecuentes de consulta en pediatría, afectando principalmente a niños en edad escolar. Entre las causas bacterianas, *Streptococcus pyogenes* es el más frecuente aunque otros *Streptococcus* β hemolíticos no grupo A (grupos C y G) también pueden ser causa de faringoamigdalitis. El interés principal del diagnóstico es identificar aquellas faringoamigdalitis causadas por el estreptococo β -hemolítico del grupo A, por el riesgo de complicaciones supurativas y no supurativas, y para optimizar el uso de antibióticos.

El cultivo faríngeo es el mejor procedimiento para hacer el diagnóstico de infección por EBHGA pero no es exacto, hay varios factores que pueden modificar los resultados del cultivo faríngeo como: la recogida de la muestra, la atmósfera de incubación o la lectura de las placas y su principal inconveniente es la demora en el resultado.

El diagnóstico de laboratorio correcto y oportuno depende del cuidado con que se realice la toma y manejo de la muestra siguiendo a detalle las instrucciones al respecto. La interpretación del resultado del laboratorio debe estar apoyado por un buen diagnóstico clínico y los antecedentes

epidemiológicos del caso.

La muestra para aislamiento de agentes infecciosos debe ser tomada ANTES de instaurar la terapia con antimicrobianos. Una vez tomada la muestra ésta debe identificarse incluyendo todos los datos relevantes del paciente como son: nombre completo o clave, diagnóstico presuntivo, fecha de toma y tipo de muestra.

Es importante mencionar que además del cultivo bacteriano hay otras pruebas rápidas como las de detección de antígeno de hidrato de carbono estreptocócico que permiten un diagnóstico en minutos; de ahí que se haya generalizado el uso de estas técnicas antigénicas rápidas (TAR) en atención primaria.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material	Reactivos
3 hisopos de alginato de calcio estériles 1 abatelenguas estéril 2 portaobjetos 1 mechero Fisher 1 Puente de tinción 1 asa bacteriológica 1 pinzas de dientes ratón	Kit para tinción de Gram 1 tubo con solución salina estéril 0.85% Peróxido de hidrógeno 30% Equipo para determinación de grupo de estreptococos basado en una aglutinación de partículas de látex Discos de Optoquina Discos de bacitracina 0.04 U
Equipo	Medios de cultivo:
Microscopio Refrigerador Estufa bacteriológica	2 placas de agar gelosa sangre 1 placa de agar sal manitol 1 placa de agar Biggy

DESARROLLO

1. Ubicar al paciente en una posición cómoda y con buena iluminación, deprimir la lengua con el abatelenguas.
2. Visualizar la fosa amigdalina y faringe en busca de exudado posterior, presencia de pseudomembrana o placas.
3. Indicar al paciente que abra la boca y que pronuncie un largo “ah”, lo cual sirve para elevar la úvula y evitar las náuseas.
4. Introducir dos hisopos y frotar enérgicamente ambas tonsilas palatinas y la pared posterior de la faringe con movimientos de barrido.

5. Retirar los hisopos cuidando de no tocar las paredes laterales de la orofaringe, úvula, lengua, encías y dientes.
6. Realizar con uno de los hisopos un extendido fino de la muestra sobre la superficie de un portaobjetos limpio para teñir por Gram.
7. Descargar el otro hisopo sobre un sexto de las placas de agar gelosa sangre, agar sal y manitol y agar Biggy rotando el mismo, para que toda la superficie del hisopo entre en contacto con el agar.
8. Esterilizar el asa bacteriológica y sembrar la superficie de los medios de cultivo por estría cruzada con el objetivo de obtener colonias aisladas.
9. Efectuar con el asa estéril picaduras oblicuas al agar de gelosa sangre ya que esto permite la detección de hemolisinas estreptocócicas e incubarlo a 37°C, en condiciones de 5-7% CO₂, por 24-72 horas.
10. Incubar los medios de agar sal manitol y agar Biggy durante 24 horas a 37°C, en condiciones de aerobiosis.
11. Revisar los cultivos una vez transcurrido el tiempo de incubación para analizar las colonias de interés y realizarles tinción de Gram, pruebas de catalasa, coagulasa, pruebas serológicas y de sensibilidad a la bacitracina y optoquina con la intención diferenciar al estreptococo beta hemolítico del grupo A de otros estreptococos y microorganismos como el *Arcanobacterium haemolyticum* beta hemolíticos y al *Streptococcus pneumoniae* de otras especies de estreptococos alfa hemolíticos como *Streptococcus* grupo *viridans*, respectivamente.

Nota: las pruebas de catalasa y coagulasa se realizan conforme a la técnica descrita en la práctica anterior.

Prueba de sensibilidad a la bacitracina y optoquina

1. Inocular por estría masiva una placa de agar gelosa sangre de carnero con el cultivo puro del microorganismo en estudio, utilizando un hisopo estéril.
2. Dividir la placa a la mitad trazando una línea en la base.
3. Coloca en una mitad sobre la superficie del agar un disco de bacitracina y en la otra un disco de optoquina.
4. Incubar en atmósfera 5-10% de CO₂, a 35-37 °C durante 18 - 24 horas.
5. Mide el diámetro de la zona de inhibición alrededor de los discos de antibiótico una vez transcurrido el tiempo de incubación.

Interpretación de resultados

a. Bacitracina

Sensible: Si observa la presencia de un halo de inhibición de desarrollo microbiano alrededor del disco (independientemente del diámetro). Informar: estreptococo beta hemolítico presuntivamente del grupo A por la prueba de bacitracina.

Resistente: ausencia del halo de inhibición de desarrollo microbiano alrededor del disco.

b. Optoquina.

Sensible: Si observa la presencia de un halo de inhibición de desarrollo microbiano de diámetro mayor o igual a 14 mm, informar: presuntivo para *Streptococcus pneumoniae*. Las zonas de inhibición inferiores a 14 mm de diámetro son cuestionables para *Streptococcus pneumoniae* y deben ser confirmadas por pruebas adicionales, como la prueba de solubilidad en bilis.

Resistente: crecimiento no inhibido alrededor del disco o menor a 14 mm.

Pruebas serológicas

Realiza las pruebas conforme al procedimiento del equipo para determinación de grupo de estreptococos basado en una aglutinación de partículas de látex.

RESULTADOS

- a) A partir del frotis realizado, elabora un esquema de las bacterias vistas en el microscopio e indica su forma, agrupación y Gram, también anota si hay presencia de células inflamatorias principalmente neutrófilos (4xc escaso; 5-10xc moderado; >10xc abundantes).
- b) Transcurrido el tiempo de incubación, saca los cultivos de la incubadora y en condiciones asépticas observa las colonias desarrolladas. Elige una colonia de los cultivos obtenidos en las cajas de agar sangre, agar sal manitol y describe su morfología colonial y microscópica.
- c) A partir del frotis realizado elabora un esquema de las bacterias vistas en el microscopio e indica su forma, agrupación y Gram.
- d) Anota los resultados de catalasa y coagulasa de las colonias seleccionadas.

e) Reporta el resultado de las pruebas de sensibilidad y pruebas serológicas.

CUESTIONARIO

1. ¿En qué se basa la clasificación de Lancefield?
2. ¿En qué tipo de reacción se basa la determinación de grupos de Lancefield?
3. ¿Cuáles son los grupos de Lancefield que causan infección en el humano?
4. ¿Cuáles son los tres principales grupos de clasificación de los estreptococos?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY”
ACADEMIA DE: TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO
LABORATORIO DE: BACTERIOLOGÍA CLÍNICA



Clave: BC-P4

Revisión: 18 /08/2026

Fecha de emisión: 25/08/26

Página:18 de 76

PRÁCTICA No.4 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD BACTERIANA

APRENDIZAJE ESPERADO

Aplica la técnica de sensibilidad bacteriana de las colonias aisladas a partir del exudado faríngeo para determinar susceptibilidad a antimicrobianos de acuerdo con estándares internacionales, como parte esencial de apoyo en el diagnóstico y tratamiento de patologías en vías respiratorias altas.

INTRODUCCIÓN

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos es una de las funciones más importantes de los laboratorios de bacteriología clínica. Su realización se desarrolla mediante las pruebas de sensibilidad o antibiograma, cuyo principal objetivo es evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, traduciendo, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica. El antibiograma define la actividad in vitro de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana.

El antibiograma disco-placa basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por

métodos de dilución. Sin embargo, los métodos disco-placa no permiten una lectura directa del valor de la CMI por lo que hay que convertir el diámetro del área de inhibición alrededor del disco a las categorías de sensible, intermedio o resistente (S, I, o R) de acuerdo con la tabla publicada por los organismos encargados del control de tales métodos, por ejemplo, el Comité Nacional de Estándar de Laboratorios Clínicos de los estados unidos de Norteamérica (National Committee for Clinical Laboratories Standards).

El método utilizado con mayor frecuencia para evaluar la sensibilidad de las bacterias a los agentes antimicrobianos es el denominado prueba de difusión del disco. Esta técnica fue estandarizada por Kirby y Bauer en 1966, de allí que dicho método también se le conozca con el nombre de “prueba de Kirby-Bauer”. Es un método sencillo y fácil de realizar en los laboratorios de rutina que sólo brinda información cualitativa o semicuantitativa sobre la sensibilidad de un microorganismo a un antibiótico determinado. Sin embargo, los resultados obtenidos son de gran valor clínico para iniciar, mantener o modificar una antibioticoterapia

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material	Reactivos
2 hisopos de alginato de calcio estériles 1 mechero Fisher 1 asa bacteriológica 1 pinzas de dientes ratón	1 tubo con solución salina estéril 0.85% Sensidiscos para Gram positivos Sensidiscos para Gram negativos Estándar 0.5 del nefelómetro de Mac Farland (1×10^{-8} UFC/mL)
Equipo	Medios de cultivo:
Microscopio Refrigerador Estufa bacteriológica	2 placas de agar Müller-Hinton

DESARROLLO

Método de Kirby-Bauer

1. Prepara previamente suficientes cajas de Petri con medio agar de Müller-Hinton, es importante que el medio tenga un grosor de 4mm y sea uniforme Para lo cual adicionar 20 ml del medio.
2. Selecciona las colonias de interés y con el asa tocar de 4 a 5 colonias de morfología semejante e inocular en un tubo que tiene 1 ml de solución salina 0.85%.de tal forma que la turbiedad observada en ese tubo sea comparable con el tubo No. 0.5 del estándar del nefelómetro de McFarland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente 1×10^{-8} UFC/mL

Bacterias/mL.

3. Retira el contenedor de discos del refrigerador. Antes de abrir el contenedor, permita que los discos se equilibren a la temperatura ambiente durante una a dos horas para minimizar la condensación y reducir la posibilidad de que la humedad afecte la concentración de los agentes antimicrobianos.
4. Coloca las placas con el agar Müller-Hinton dentro de la incubadora de 10 a 15 minutos con la finalidad de que estas se calienten a la temperatura ambiente y favorecer la absorción del exceso de humedad dentro del medio.
5. Sumerge un hisopo estéril en la suspensión bacteriana, y antes de retirarlo eliminar el exceso de líquido haciendo girar el hisopo contra la pared interna del tubo.
6. Inocula en toda la superficie del medio, en por lo menos en tres direcciones (estría masiva), dando rotación a la placa.
7. Seca el inóculo incubando la placa 15 minutos a 35°C.
8. Saca la placa de la incubadora y con ayuda de una pinza previamente esterilizada por flameado colocar los discos con los agentes antimicrobianos sobre la superficie del medio de Müller-Hinton. Los sensidiscos deben presionarse suavemente contra la superficie con la misma pinza para asegurar un contacto firme con el medio. Evitar mover los discos una vez colocados.
9. Incuba las cajas de Petri a 35°C durante 18 horas en posición invertida.
10. Mide los halos de inhibición con una regla marcada en milímetros por la parte posterior de la caja. La lectura se reporta en milímetros.

RESULTADO

Resultados del antibiograma

Nombre del antibiótico	Siglas	Concentración	Diámetro del halo De inhibición (mm)	S	I	R

CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la finalidad de la prueba de susceptibilidad?
2. ¿Qué significan las categorías de sensible, intermedio y resistente cuando se interpreta un antibiograma?
3. Menciona mínimo 6 variables que deben ser controladas al realizar las pruebas de difusión por disco.
4. ¿Qué otros métodos a parte del visto en la práctica existen para determinar la sensibilidad microbiana?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



PRÁCTICA No. 5 PROCESO DE MUESTRA DE ESPUTO PARA DETECCIÓN DE TUBERCULOSIS PULMONAR

APRENDIZAJE ESPERADO

Aplica la técnica de lectura de la baciloscopia que se realiza para la búsqueda de BAAR y diferencia los tipos, métodos de obtención de muestra y medios de cultivo para el aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis*, basados en la guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento de casos nuevos de Tuberculosis Pulmonar.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la tuberculosis es considerada una de las enfermedades reemergentes más importantes en el mundo como problema de salud pública, agravada por la epidemia de VIH y por el aumento de la farmacoresistencia. En nuestro país, ocupa el primer lugar como causa de muerte por enfermedades infecciosas debidas a un sólo agente etiológico.

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis*, una bacteria que casi siempre afecta a los pulmones, pero también pueden atacar otras partes del cuerpo, como los riñones, la columna vertebral y el cerebro. Se transmite de persona a persona a través del aire. *Mycobacterium tuberculosis* (causante de la tuberculosis humana) pertenece a la familia *Mycobacteriaceae* lo mismo que *M. bovis* (tuberculosis bovina), el bacilo de Calmette-Guérin (variante de *M. bovis* usada como vacuna), *M. africanum* (tuberculosis humana en África) y *M. microti* (tuberculosis murina).

M. tuberculosis es un bacilo irregularmente Gram positivo cuya pared celular es rica en lípidos, con una capa característica de ácidos micólicos, que le confiere ácido-alcohol resistencia, tiene un tamaño entre 0,2-0,7 x 1-10 micras (μm), ligeramente curvo, inmóvil, no forma esporas ni presenta cápsula, de crecimiento lento, pues se divide, cada 18-20h, en comparación a los 20min de la mayoría de bacterias también es aerobio estricto, con preferencia por tejidos bien oxigenados, Es

un patógeno intracelular obligado y desencadena respuesta de la inmunidad celular. *M. tuberculosis* es el agente causal de la tuberculosis humana más frecuente.

El diagnóstico de certeza de la tuberculosis es microbiológico, establece la etiología y la confirmación de la enfermedad y se basa en la microscopia con tinciones específicas, el cultivo de micobacterias, sobre todo en medios líquidos, y la amplificación génica cuando el grado de sospecha es moderado-alto.

Las secreciones respiratorias como el esputo o expectoración, aspirado transtraqueal, muestras obtenidas por broncofibroscopia, lavado bronquial, cepillado bronquial, lavado broncoalveolar y biopsia pulmonar son las muestras que se reciben con mayor frecuencia en el laboratorio de bacteriología y su cultivo es una de las principales herramientas con las que cuenta para establecer el agente causal de la infección. La muestra a seleccionar juega un papel importante en el éxito esperado, ya que toda información diagnóstica que el laboratorio pueda proporcionar, depende de la calidad de la muestra recibida.

Ante la presencia de un caso clínico sospechoso de tuberculosis pulmonar, el material que más frecuentemente se puede analizar es la muestra de secreciones respiratorias (esputo). La presencia de *M. tuberculosis* en cultivo representa el gold standard del diagnóstico, con una sensibilidad de 80-85% pero un tiempo de incubación prolongado (hasta 8 semanas). Como alternativa, la presencia de bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) en la evaluación directa de esputo es una herramienta importante para el diagnóstico e inicio de tratamiento temprano, pero la sensibilidad del método es muy variable (30-70%), sin embargo, su especificidad, es elevada (98-99%). De tal forma que, en la práctica diaria, la baciloscopía de esputo es el recurso de elección para certificar el diagnóstico, mientras que el cultivo no es indicado en todos los casos, reservándose para aquellas situaciones en las que la probabilidad de resistencia a los antibióticos antituberculosos aumenta.

Las muestras que recibe el laboratorio para su análisis deben ser representativas de la localización. En las formas pulmonares las secreciones respiratorias son las más recomendadas, siendo el esputo la muestra más habitual y epidemiológicamente la más importante y para asegurar la calidad de muestra, el paciente debe ser instruido para su obtención.

Toma y manejo de la muestra

1. En la siguiente imagen se indican las características que debe reunir el envase adecuado para la toma de muestra:



Fig. 1

2. Características de la muestra.

Para que el laboratorio pueda obtener un resultado confiable y útil, es preciso ejecutar las técnicas en forma correcta y contar con una muestra biológica adecuada cuyas características son:

- a) Provenir del sitio de la lesión a investigar.
- b) Ser en cantidad suficiente (3-5 ml).
- c) Estar colocada en envase adecuado y limpio.
- d) Estar bien identificadas.
- e) Haber sido conservada y transportada correctamente.

3. Tipo de muestra.

- a) Expectoración natural
- b) Expectoración inducida
- c) Otras muestras.

4. Número de muestras.

Debido a que la eliminación de bacilos no es continua, es imprescindible analizar tres muestras de cada tosedor, obtenidas de acuerdo a las siguientes indicaciones.

A. Para diagnóstico se requieren tres muestras.

- a) La primera cuando se identifique al tosedor.
- b) La segunda al despertar a la mañana siguiente a la toma de la primera muestra.
- c) La tercera al entregar la segunda en la unidad de salud.

B. En enfermos en control de tratamiento se debe examinar una muestra mensual durante el tiempo de duración del tratamiento.

5. Toma de muestra.

Se recomienda que la recolección de la muestra se haga en un sitio alejado de las demás personas, en un lugar privado con buena ventilación o preferentemente al aire libre. Si el personal de laboratorio es el encargado de tomar la muestra debe protegerse utilizando una mascarilla adecuada. Para la toma de la muestra se procede de la siguiente manera:

A. Colocar en la pared del envase una etiqueta con los siguientes datos:

- a) El nombre del paciente.
- b) El nombre de la unidad de salud donde se recolectó la muestra.
- c) La fecha de recolección.
- d) Indicar si la muestra es para diagnóstico o para control de tratamiento.
- e) El número de muestra.

B. Indicar al paciente que se enjuague la boca con agua para eliminar residuos de comida.

C. Instruir al paciente con toda claridad para que produzca esputo bronquial de las «profundidades del pecho»: respirando profundamente, reteniendo el aire para luego lanzarlo violentamente.

D. Indicarle que debe repetir esta operación tres veces, recogiendo los esputos obtenidos en el frasco, cuidando que no se derrame en sus manos o en las paredes del recipiente. La explicación debe ser sencilla, utilizando una terminología simple y clara que asegure que el paciente haya entendido el tipo de muestra que debe proporcionar.

E. Una vez obtenida la expectoración asegúrese que sea mucopurulenta. Si la muestra es principalmente saliva o secreción nasal, no desecharla, procesarla, pero solicitar una muestra de mejor calidad.

F. El volumen de la muestra debe ser de 3 a 5 ml aproximadamente.

G. Entregar al paciente un frasco o recipiente identificado para que recoja la segunda muestra, que será tomada en su casa a la mañana siguiente, al despertar y en ayunas. Insistir en la importancia de su entrega tan pronto le sea posible. Al entregar la segunda muestra en el laboratorio, se tomará la tercera.

6. Conservación y transporte de la muestra

A. Tiempo de entrega.

Mientras más rápido llegue la muestra al laboratorio, mayor será la posibilidad de encontrar micobacterias. Es conveniente que la muestra se procese el mismo día de la recolección pero si no es posible, debe ser conservada en refrigeración (4-8°C) o en un lugar fresco, protegido de la luz y no por más de cinco días.

7. Transporte.

Es conveniente disponer de cajas de madera o metálicas con divisiones interiores para el envío de las muestras. Además, asegurar la tapa de cada frasco, colocarlo dentro de una bolsa de plástico y cerrarla con una liga. Enviar las muestras en cajas de cartón grueso o de unicel y si es posible con refrigerante. Durante el transporte es indispensable evitar:

- a) La exposición al calor excesivo.
- b) La exposición a la luz solar directa.
- c) El derrame del contenido del envase.

Cada muestra debe ir acompañada de la forma correspondiente: "Solicitud e Informe del Resultado del Examen Bacteriológico" o el "Formato para el envío de muestras" debidamente llenados. Durante el transporte, estos documentos deben ir separados de los envases que contienen las muestras. Debe elegirse el medio de transporte que garantice mayor rapidez y confianza de entrega.

8. Procedimiento de recepción.

El laboratorio receptor de las muestras debe valorarlas y proceder de acuerdo a lo siguiente:

- a) Comprobar que las muestras estén bien rotuladas.
- b) Limpiar el envase con fenol al 5% si existe un pequeño derrame del contenido. Si el derrame es masivo desechar la muestra por incineración o esterilización en autoclave.
- c) Evaluar la calidad y cantidad de la muestra, capturar dicha información en la libreta de laboratorio y en la sección apropiada de la solicitud de baciloscopía.
- d) Notificar a la unidad de salud que envía las muestras si hubo deficiencias en su identificación, calidad, cantidad o forma de envío. Si este es el caso, solicitar una nueva muestra.

9. Procedimiento de registro.

El registro interno del laboratorio tiene por objeto dejar constancia de la recepción y procesamiento de la muestra, así, como del resultado de la baciloscopía y la entrega del mismo

al médico tratante. Es necesario que el laboratorio tenga una libreta para registrar la recepción de muestras, los datos importantes del paciente y los resultados obtenidos.

EXÁMEN MICROSCÓPICO DIRECTO BACILOSCOPIA

Fundamento.

El examen microscópico directo o baciloscopia es la técnica fundamental en toda investigación bacteriológica en tuberculosis, tanto para el diagnóstico como para el control del tratamiento. El procedimiento se basa en la composición lipídica de la pared micobacteriana que le permite retener los colorantes de tinción, resistiendo la acción decolorante de una mezcla de etanol y ácido clorhídrico (8:2). La ácido-alcohol resistencia diferencia específicamente a las micobacterias (bacilos ácido-alcohol resistentes [BAAR]) del resto de bacterias. La tinción más utilizada es la descrita por Ziehl y Neelsen, que tiñe las micobacterias de rojo sobre fondo azul, en contraposición a las demás bacterias, que se tiñen de azul.

La baciloscopia en el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar permite identificar con una sensibilidad del 90% y una especificidad del 98% a los enfermos bacilíferos ya que expectoran una cantidad suficientemente grande de bacilos (se considera que una caverna de 1 cm² tiene una población bacilar de 10⁸).

Sensibilidad de la baciloscopia

No. de bacilos observados	Calculo de la concentración de bacilos por mL de muestra	Probabilidad de un resultado positivo
0 en 100 o más campos	Menos de 1,000	Menos de 10%
1-2 en 300 campos	5,000-10,000	50 %
1-9 en 100 campos	unos 30,000	80 %
1-9 en 10 campos	unos 50,000	90 %
1-9 por campo	unos 100,000	96.2 %
10 o más por campo	unos 500,000	99.95 %

* Tomada de David, HL

La baciloscopia es una técnica rápida, económica, que permite lograr una amplia cobertura de la población, por lo cual constituye un aporte importante para los programas de control de la tuberculosis, sin embargo, la visualización de BAAR en esputo no es afirmativa de *M. tuberculosis* porque otras micobacterias pueden también causar enfermedad pulmonar, así como especies del

género *Nocardia* que también pueden ser ácido alcohol resistentes. Sin embargo, una baciloscopia positiva en conjunción con la clínica y hallazgos radiológicos puede utilizarse para un diagnóstico presuntivo de micobacteriosis.

La lectura de la baciloscopia debe ser hecha de manera sistemática, leyendo de izquierda a derecha el extendido, tomando en cuenta sólo los campos microscópicos útiles que son aquellos en los que se observan elementos celulares de origen bronquial (leucocitos, fibras mucosas y células ciliadas); en aquellos campos en que no aparezcan dichos elementos.

MATERIAL, EQUIPO, REACTIVOS

Material	Equipo
1 preparación para baciloscopia	Microscopio
	Reactivos
	Aceite de inmersión

DESARROLLO

Observación microscópica.

Para lograr un examen microscópico de excelente calidad es preciso contar con un buen microscopio y un área de observación apropiada. La lectura de los frotis debe ser de manera sistemática para asegurar que un área determinada se lea una sola vez, se recomienda el siguiente procedimiento:

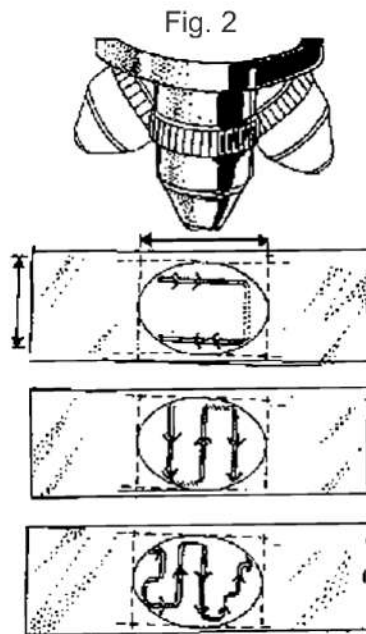
1. Coloca una gota de aceite de inmersión en el extremo izquierdo del frotis teñido.
2. Enfoca el portaobjetos con el lente objetivo de 40x antes de usar el de 100x
3. Después de encontrar el área adecuada, cambiar a la lente objetivo de 100x.
4. No dejar que la lente objetivo toque el portaobjetos, esto podría dañarla, romper la laminilla, o levantar fragmentos del frotis y transferirlos a la siguiente laminilla que se examine, produciendo como resultado falsos positivos.
5. Examina sistemáticamente 100 campos útiles. Para ello, realizar una serie de barridas a lo largo del frotis.

6.Después de observar un campo microscópico, desplazar el portaobjetos longitudinalmente para poder examinar el campo contiguo. Fig. 2

La experiencia con los microscopistas nos dice que se necesitan 5 minutos para examinar cada frotis. Si se examina un frotis por un período de tiempo menor o no se hace cuidadosamente, se pueden ignorar los bacilos presentes en el frotis y reportarlo como negativo cuando es evidentemente positivo (examina cada frotis como si fuera de uno de los miembros de tu familia). Para que un microscopista pueda mantener su habilidad en la lectura debe examinar al menos 2 o 3 frotis por día. Cada frotis debe observarse en superficie.

y en profundidad, para lo cual se utilizará constantemente el tornillo micrométrico. Se aconseja utilizar un cuadriculado con 100 cuadros para registrar en cada uno de ellos los hallazgos correspondientes a cada uno de los 100 campos microscópicos útiles.

Los resultados de cada campo deben anotarse inmediatamente después de su inspección.



El docente proporciona al estudiante una preparación teñida por Ziehl-Neelsen para que realice su lectura.

El estudiante realiza la lectura de la preparación proporcionada



PRÁCTICA No. 6 ANÁLISIS DE UROCULTIVO Y COPROCULTIVO

PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

APRENDIZAJE ESPERADO

Aplica el procedimiento para la preparación de medios de cultivo y pruebas bioquímicas empleados en el análisis microbiológico de las muestras de orina y materia fecal solicitadas en el apoyo diagnóstico microbiológico de infecciones del tracto urinario y gastrointestinal.

INTRODUCCIÓN

El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica a través del anuario de morbilidad 1984-2022 reporta Veinte principales causas de enfermedad Nacional, por grupos de edad; en esta lista, las Infecciones de vías urinarias e Infecciones intestinales ocupan el segundo y tercer lugar respectivamente. De ahí el papel fundamental del laboratorio de bacteriología clínica en la detección oportuna de los agentes causales de infección, para la selección del tratamiento antimicrobiano y determinación del éxito terapéutico, en la vigilancia epidemiológica incluso en el estudio y contención de brotes o epidemias, contribuyendo a preservar y mejorar la salud y bienestar de las personas.

Partiendo de esto el TLC que se desempeña en el laboratorio de bacteriología clínica debe de describir al paciente las condiciones adecuadas para la toma y transporte de las muestras de orina o materia fecal, analizar correctamente las muestras hasta reportar los resultados de forma inequívoca siguiendo las normas de taxonomía y de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son una de las infecciones más frecuentes, después de las respiratorias. Se pueden presentar en cualquier etapa de la vida, desde recién nacido a adulto mayor. Su adecuado diagnóstico y manejo es fundamental, tanto para la atención ambulatoria como para pacientes hospitalizados. La infección del tracto urinario indica la presencia de microorganismos en cualquier sitio normalmente estéril, ocasionando

usualmente una respuesta inflamatoria aguda y sintomática. Las ITU son causadas principalmente por enterobacterias, siendo *Escherichia coli* el agente etiológico más frecuente. La muestra de orina para urocultivo es la más frecuentemente recibida y procesada en los laboratorios de microbiología.

La obtención de la muestra se considera una etapa crucial en el procesamiento de los urocultivos ya que la posibilidad de contaminación con bacterias de la flora comensal de piel, periné y uretra distal, es muy alta e induce a la generación de resultados falsamente positivos. En la Figura 1 se describen 5 métodos y su clasificación para la obtención de la muestra de orina a cultivar.

Fig. 1



Para cada uno de los métodos mencionados anteriormente existen recomendaciones específicas para la obtención de la muestra de orina. A continuación se mencionan los métodos de obtención solicitados de forma rutinaria en el laboratorio:

Orina de segundo chorro: es la muestra más frecuentemente procesada para urocultivo, en especial por su fácil obtención; sin embargo, se puede contaminar frecuentemente con flora de la piel, uretra, y vagina en mujeres, por ello se recomienda el lavado de los genitales con agua y jabón, y separar los labios externos en la mujer. En hombres no circuncidados se recomienda retraer el prepucio. La primera porción de la orina debe descartarse y se recoge a partir del chorro medio en un frasco estéril de boca ancha de cierre hermético.

Orina obtenida mediante recolector: se utiliza en niños sin control de esfínteres. Se recomienda lavado de genitales externos con agua y jabón, el retiro inmediato de la bolsa al terminar la micción o el cambio de recolector cada 30 minutos hasta obtener la muestra de orina.

Es muy importante indicar al paciente que una vez obtenida la muestra esta debe ser entregada al laboratorio para su análisis en un lapso de tiempo no mayor a 2 horas. La orina

es un buen medio de cultivo que permite la multiplicación de los microorganismos incrementando el recuento bacteriano, por lo Si ello no es factible, las muestras deben refrigerarse a 4°C por un máximo de 24 horas.

En relación a las infecciones gastrointestinales en países subdesarrollados como el nuestro suelen ser la causa más frecuente de muerte y desnutrición en pacientes principalmente en edad pediátrica y ancianos.

Las manifestaciones clínicas más destacadas de las gastroenteritis son fiebre, vómito, dolor abdominal y diarrea moderada a intensa. La diarrea es un dato central y su presencia y naturaleza son la base para la clasificación de las infecciones gastrointestinales en 2 síndromes: diarrea acuosa o secretora y diarrea invasiva o disentería.

Ante la sospecha de un cuadro de gastroenteritis el médico debe hacer una detallada historia clínica para orientar a un correcto estudio microbiológico. Los antecedentes epidemiológicos, la existencia de factores predisponentes (inmunosupresión), la clínica (fiebre, dolor abdominal, náuseas y vómitos) y el tipo de diarrea (acuosa o invasiva) pueden orientar acerca del microorganismo implicado. No obstante, el diagnóstico definitivo sólo se puede obtener mediante pruebas de laboratorio. Es muy importante que el médico establezca la etiología de la infección gastrointestinal ya que estas pueden ser causada por un virus, parásitos o bien bacterias y en función de esto el laboratorio clínico tendrá que utilizar la técnica de análisis adecuada para apoyar el diagnóstico.

Cuando la gastroenteritis tiene un origen bacteriano el coprocultivo es el método de elección para su diagnóstico. No hay que perder de vista que también hay infecciones que se pueden diagnosticar mediante la detección de las toxinas en las heces o por reacción en cadena de la polimerasa.

La muestra de elección para conocer el agente bacteriano productor de una gastroenteritis aguda es una porción de heces diarreicas, nunca heces formadas. Existen dos formas de obtener la muestra, la primera es a partir de una evacuación espontánea en cuyo caso se le indica al paciente recolectar un volumen entre 5 a 10 mL de muestra en un frasco estéril, transparente, de boca ancha y cierre hermético, en la toma de muestra se debe evitar contaminarla con agua del inodoro, orina y/o papel higiénico. La segunda es a partir del hisopado rectal el cual se recomienda en neonatos o adultos debilitados. Para realizar la toma se introduce el hisopo sobrepasando el esfínter anal, se rota para y se mantiene ahí por unos 30 segundos para que se absorba la materia fecal y en ella las bacterias. Una vez realizado se introduce en un medio de transporte.

Ahora bien, cuando las muestras para uro o copro cultivo son recibidas en el laboratorio el TLC debe verificar que la solicitud de análisis contenga la siguiente información, fundamental para el procesamiento e interpretación de los resultados:

- nombre, edad y sexo del paciente
- si es mujer, indicar la presencia de embarazo.
- sospecha de patología de la vía urinaria
- método empleado en la recolección de la muestra (si aplica)
- diagnóstico clínico
- uso previo de antibióticos
- hora de obtención de la muestra

El propósito del análisis microbiológico de una muestra de orina es en primer lugar determinar si existe una infección y, si existe, identificar el microorganismo que la produce, asimismo el objetivo del coprocultivo es similar, detectar la presencia de bacterias patógenas que causan enfermedades y ayudar a diagnosticar una infección del sistema digestivo. Por lo tanto, en ambos casos se debe disponer de medios de cultivo que permitan el aislamiento de los agentes causales y su identificación bioquímica para determinar su género y especie.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material	Equipo
Algodón Papel estraza Gasa Cinta testigo 1 gradilla 1 espátula 1 matraz Erlenmeyer 500 mL 1 mechero Fisher 1 pipeta de 10 mL 1 piseta 1 propipeta 13 tubos de 13X100 1 tubo de 15x100 mm	Autoclave Balanza analítica Incubadora Refrigerador Reactivos Cloruro de sodio. Medios de cultivo: Agar Biggy, Agar EMB, Agar Mac Conkey, Agar Sal y manitol, Agar Salmonella y Shigella, Agar sulfito de bismuto, Caldo tetracionato. Placas preparadas de agar gelosa sangre Pruebas bioquímicas: TSI, MIO, LIA, Citrato de Simmons, Fenilalanina, Caldo urea, Caldo rojo de metilo.

DESARROLLO

1. Prepara los medios de cultivo y pruebas bioquímicas a utilizar en el análisis de orina y copro de acuerdo con lo indicado en la tabla siguiente.

Equipo	Medio de Cultivo	Cantidad
1	Agar Biggy	10 placas con 25 mL c/u
2	Agar Sal y manitol	10 placas con 25 mL c/u
3	Agar EMB	10 placas con 25 mL c/u
4	Agar Mac Conkey	10 placas con 25 mL c/u
5	Agar SS / Caldo TT	10 placas / 10 tubos 9mL c/u
6	Agar Sulfito de bismuto	10 placas con 25 mL c/u
7	TSI / Citrato de Simmons	20 / 20 tubos 4 mL c/u
8	MIO/LIA	20 tubos 4 mL c/u
9	Rojo de Metilo	40 tubos 4 mL c/u
10	Fenilalanina / Caldo urea NaCl 0.85%	20 tubos / 10 tubos 4 mL c/u

RESULTADOS

a) Escribe el fundamento de los medios de cultivo: agar gelosa sangre, agar Biggy, agar sal y manitol, agar EMB, agar Mac Conkey, agar Salmonella y Shigella , Agar sulfito de bismuto.

b) Anota lo que se te solicita en las tablas siguientes:

Tabla No.1

PRUEBA BIOQUIMICA	TÉCNICA DE SIEMBRA	INDICADOR DE PH	REACTIVO REVELADOR
TSI			
MIO			
LIA			
CITRATO DE SIMONS			
FENILALANINA			
CALDO UREA			
CALDO ROJO DE METILO			
VOGES-PROSKAWER			

Tabla No. 2

PRUEBA BIOQUIMICA	FUNDAMENTO	PRUEBA SIN INOCULAR	RESULTADOS	
			POSITIVO (IMAGEN)	NEGATIVO (IMAGEN)
TSI				
MIO				
LIA				
CITRATO DE SIMONS				
FENILALANINA				
CALDO UREA				
CALDO ROJO DE METILO				
VOGES- PROSKAWER				

CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la utilidad del agar sangre empleado para el urocultivo?
2. Si la muestra tomada para realizar el coprocultivo no pudieras analizarla en las siguientes 2 horas después de su toma, que tipo de medio emplearías y cuál es su nombre.
3. ¿Cuál es la función del caldo tetratonato y con base ello como se clasifica este medio?

4. ¿Por qué los agares McConkey, EMB y sal y manitol se consideran unos medios selectivos y diferenciales?. Explica tu respuesta.

REFERENCIAS BLIOGRÁFICAS



PRÁCTICA No. 7 ANÁLISIS DE COPROCULTIVO Y UROCULTIVO

SIEMBRA

APRENDIZAJE ESPERADO

Utiliza los medios de cultivo y técnicas de siembra apropiadas para el aislamiento de posibles agentes causales de infecciones del tracto urinario y gastrointestinal para entender la importancia de la microbiota residente y patógena involucrada en el desarrollo de procesos infecciosos.

INTRODUCCIÓN

El análisis de orina, es necesario en la evaluación de trastornos renales y de las vías urinarias generalmente se recoge una muestra de orina, mediante el método de micción espontánea. El análisis de la orina implica el examen físico, químico, microscópico y microbiológico.

Análisis físico

Dentro de los diferentes aspectos físicos de la orina, el laboratorio clínico debe evaluar el volumen (cuando se analiza orina de 24 horas), el aspecto, el color y el olor (antiguamente se evaluaba también el sabor probando la orina).

Aspecto

El aspecto normal de la orina es transparente o límpido. Existe turbidez por presencia de células, cristales, cilindros, detritus, proteínas, grasas y moco en las muestras de orina. En ciertas circunstancias el aspecto de la orina puede indicar la presencia de enfermedades, como sucede en el síndrome nefrótico que se caracteriza por orinas espumosas y lechosas debido a la presencia de proteínas y de colesterol respectivamente.

El aspecto turbio de la orina también puede estar relacionado con piuria, en infecciones masivas bacterianas o por hongos (recuento microbiano $>10^7$ /mL).

NOTA: Se define **piuria** como la presencia de más de 10 leucocitos/ μ L o más de 6 leucocitos alterados por campo de 40x. La presencia de piuria indica inflamación del tracto urogenital. Cuando existe infección, bacterias y neutrófilos se ven juntos formando placas de pus, las que son de utilidad en la orientación de infección urinaria pero inespecíficas.

Color

La orina normal tiene un color ámbar (amarillo claro) característico. El color de la orina depende de los urocromos, que normalmente se encuentran allí presentes, como porfirinas, bilirrubina y uroeritrina. Es importante aclarar que un color diferente al normal no necesariamente indica enfermedad pues esta situación puede presentarse por algunas drogas o alimentos. A continuación se describen algunos colores en la orina con sus probables diagnósticos:

Rojo: en hematuria no glomerular, hemoglobinuria, mioglobinuria, uso rifampicina e infecciones por *Serratia marcescens*.

Café oscuro: en melanuria, hemorragia antigua y hematuria glomerular.

Amarillo verdoso: en síndrome icterico y hepatitis.

Verde azulado: en infección por *Pseudomonas aeruginosa*.

Blanco lechoso: en síndrome nefrótico.

Vino tinto: en porfiria.

Olor

El olor normal de la orina es "sui generis" su olor es débilmente aromatizado debido a la presencia de ácidos orgánicos volátiles y amoniacal por descomposición de la urea. Sus características varían según la dieta, la patología presente y la concentración de solutos. Algunas enfermedades pueden presentar un olor característico como a continuación se describe:

Fruta dulce: diabetes mellitus.

Azúcar quemada: leucinosis.

Ratón: fenilcetonuria.

Pescado: hipermetionemia.

Sudor de pies: aciduria por ácido butírico o hexanoico.

Análisis químico

El análisis químico de orina, se basa en el uso de tiras reactivas que generan resultados en segundos; estas, al tener contacto con las sustancias de la orina, producen reacciones químicas que son reflejadas en cambios en el color proporcionales a la concentración de las sustancias y expresadas en resultados cualitativos y semi-cuantitativos. Con la tira reactiva se evalúan básicamente dos parámetros la detección de nitritos y la esterasa leucocitaria.

Nitritos: su valor en orina debe ser cero. Es un método indirecto para determinar la presencia de bacterias en la orina. Las enterobacterias como la *E. coli* tienen la particularidad de reducir los nitratos a nitritos. Un resultado positivo en la tira reactiva puede ser indicativo de bacteriuria, un resultado negativo no debe interpretarse como indicador de ausencia de infección urinaria, ya que existen bacterias que no forman nitritos.

Esterasa leucocitaria: esta prueba se considera una medida indirecta para indicar la presencia en la orina de leucocitos, principalmente granulocitos — neutrófilos y eosinófilos—. Estas células blancas intactas o lisadas son las únicas que contienen en su citoplasma una enzima llamada esterasa, la cual hidroliza el reactivo de la tira reactiva haciéndola cambiar de color; de esta forma se determina la presencia de los leucocitos.

La presencia de leucocitos mediante la detección de su enzima: leucocito esterasa. Detecta leucociturias > 10 leucocitos / μ l con una sensibilidad entre 53 y 95%.

Examen Microscópico

El examen microscópico es una parte indispensable del uroanálisis, la identificación de células, cilindros de células, leucocitos, eritrocitos (examen de sedimento urinario) y de microorganismos (tinción de Gram directa de la muestra) ayuda a dirigir el diagnóstico en una variedad de condiciones.

Examen del sedimento urinario

La observación microscópica del sedimento de la orina proporciona información sobre un posible trastorno renal o de las vías urinarias. En individuos sanos se excretan algunos eritrocitos, leucocitos, células y cilindros en la orina, sin embargo, en caso de una enfermedad

renal o de las vías urinarias, se desprende un mayor número de células que forman un sedimento cuando la orina se centrifuga.

Tinción de Gram

La tinción de Gram es un método rápido, económico, sensible y específico para detectar bacteriuria, la presencia de píuria y diferenciar una orina contaminada de una que presente una verdadera infección es decir se puede determinar si hubo una adecuada recolección de la muestra. Esta tinción sirve de guía para la detección de infecciones asintomáticas.

Análisis microbiológico

El cultivo de una muestra de orina continúa siendo el patrón de referencia para las otras pruebas relacionadas con el diagnóstico de la infección del tracto urinario; por lo tanto, demostrar la presencia de una cantidad significativa de bacterias en la orina (bacteriuria) identifica definitivamente esta afección.

El cultivo de orina se realiza para cuantificar el número de bacterias por mL y se expresa como unidades formadoras de colonias/mL (UFC/mL). Teóricamente, cada UFC en el cultivo representa una bacteria viable en la muestra, aunque cuando las bacterias en orina aparecen como agregados (estafilococos) o como cadenas (estreptococos), el número de UFC es inferior al número real de bacterias en la muestra.

La técnica de cultivo cuantitativo más utilizada es la siembra con asa calibrada, que permite depositar un volumen determinado de orina sobre la superficie del medio de cultivo. En general, se suelen emplear asas de 0.001 o 0.01 mL, de forma que se puede cuantificar bacteriurias entre 100-1000 UFC/mL y más de 100 000 UFC/mL. Actualmente se utilizan asas calibradas de plástico desechables que teóricamente obtienen un volumen fijo de muestra. Sin embargo, la forma en que se introduce el asa en el contenedor para obtener la muestra puede originar diferencias importantes, de hasta el 100%, en el volumen de muestra examinado.

Los medios de cultivo para orina deben permitir el crecimiento de la mayoría de los uropatógenos. Tradicionalmente se ha recomendado el empleo de 2 medios de cultivo: uno selectivo y diferencial, como agar McConkey o eosina azul de metileno (EMB), que permiten el crecimiento de enterobacterias y bacilos gramnegativos no fermentadores, y un medio de agar sangre para grampositivos y levaduras.

Ahora bien en cuanto al coprocultivo, es un estudio cuyo propósito es buscar bacterias patógenas que causan afecciones gastrointestinales.

En el tracto intestinal se encuentran bacterias formando parte de la flora normal, pero a veces se detectan bacterias patógenas, aquí es donde el laboratorio de bacteriología clínica tiene un papel importante cuando se presenta una infección intestinal bacteriana.

La mayoría de las gastroenteritis agudas aparecen como procesos auto limitados y de curso benigno, en estos casos el médico recomienda un tratamiento sintomático y observación y es precisamente en las enteritis graves en las que esté indicado un estudio microbiológico, tanto para tratar con antimicrobianos específicos contra el agente causal como para evitar o bloquear la difusión del microorganismo.

Los medios a utilizar en un estudio básico de heces varían de unos laboratorios a otros, pero es necesaria la utilización de medios selectivos, como Hectoen (dirigido a *Shigella*, *Yersinia* o *Salmonella*) y otros menos selectivos como Mc Conkey (*E. coli*, *Shigella*, *Aeromonas*, *Yersinia*), XLD (*Shigella*) o Agar *Salmonella* (*Salmonella*, *Shigella*). Cualquier crecimiento de estos enteropatógenos se valorará como positivo y se informará de la especie, así como de su antibiograma.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material	Equipo
Papel estraza	Centrífuga
Masking tape	Incubadora
Plumón indeleble	Microscopio
Hisopos estériles	Refrigerador
1 asa bacteriológica calibrada	Reactivos
1 asa bacteriológica de platino	Placas de agar gelosa sangre
1 cubreobjetos	Placas de agar sal y manitol
1 mechero Fisher	Placas de agar Biggy
1 pipeta de 10 mL	Placas de agar Mac Conkey
1 pipeta Pasteur con bulbo	Placas de Agar SS
1 pipeta	Placas de agra Sulfito de bismuto
1 propipeta	Caldo tetratonato
2 portaobjetos	Metanol
1 puente de tinción	1 gotero con aceite de inmersión
1 tubo de 15x100 mm	1 frasco gotero con metanol
	Kit para tinción de Gram
	Tubo con cintas reactivo para uroanálisis

DESARROLLO

UROCULTIVO

Análisis físico

1. Abrir el recipiente que contiene la muestra y cerca de la flama del mechero hacer las observaciones físicas y determinar: el color, aspecto y olor de la orina.

Análisis microbiológico

La técnica de cultivo cuantitativo más utilizada es la siembra con **asa calibrada**, que permite depositar un volumen determinado de orina sobre la superficie del medio de cultivo.

1. Homogenizar la muestra suavemente, abrir el recipiente y en condiciones asépticas tomar una muestra utilizando el asa calibrada estéril, colocarla en el agar sangre y proceder al aislamiento mediante la técnica de estría simple.
2. Tomar una muestra con el asa de platino y depositarla en el agar EMB y sembrar por estría cruzada.
3. Realizar el procedimiento anterior para sembrar el agar sal y manitol y agar Biggy.
4. Identificar las placas e incubarlas a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 48 hrs.
5. Realizar la lectura de morfología colonial y pruebas bioquímicas.

Análisis microscópico

Técnica sedimento urinario

1. Tomar con una pipeta 10 ml de muestra y depositarla en un tubo de 15X100.
2. Centrifugar 5 minutos a 3000 rpm.
3. Decantar el sobrenadante del tubo.
4. Resuspender el sedimento con el líquido remanente.
5. Tomar con una pipeta Pasteur una muestra del sedimento.
6. Transferir con ayuda de la pipeta Pasteur una gota a un portaobjetos limpio y nuevo de preferencia y colocar el cubreobjetos.
7. Observar a 10X y 40X.

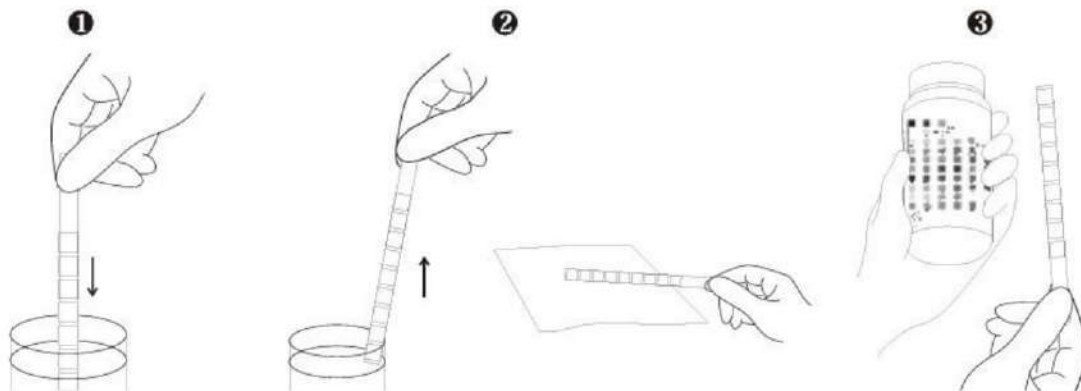
Técnica tinción de Gram

1. Con el asa de platino tomar una gota de orina del sedimento y colocarla en un portaobjetos previamente limpio (libre de grasa y polvo).
2. Secar la gota de orina a temperatura ambiente y fijar con metanol.

3. Teñir la preparación mediante la técnica de Gram.
4. Observar la preparación enfocando primero a 10X y posteriormente a 100X utilizando aceite de inmersión.

Análisis químico

1. Retirar la tira del tubo cerrado y utilizarla lo antes posible.
2. Cerrar de inmediato el tubo, una vez que se haya retirado el número de tiras necesarias.
3. Sumergir por completo el área reactiva de la tira en el recipiente conteniendo la orina bien mezclada e inmediatamente sacarla del recipiente para evitar que los reactivos se disuelvan.
4. Retirar la tira y sostenerla en una posición horizontal poniendo en contacto el filo de la tira con un material absorbente (ej. toalla de papel)
5. Comparar las áreas reactivas con la correspondiente tabla de colores de la etiqueta del tubo en el tiempo especificado: 1 minuto nitritos y a los 2 minutos esterasa leucocitaria.
6. Sostener la tira cerca de la tabla de color y comparar cuidadosamente, leer los resultados.



COPROCULTIVO

Análisis físico

1. Abrir el recipiente que contiene la muestra y cerca de la flama del mechero hacer las observaciones físicas y determinar: el color, consistencia y presencia de pus, moco y/o sangre.

Análisis microscópico

Detección de leucocitos fecales

1. Colocar con un asa una pequeña cantidad de moco o de heces sobre un portaobjetos y mezclar con 2-3 gotas de azul de metileno al 1%.
2. Colocar encima de la preparación un cubreobjetos y esperar 2 a 3 minutos con la finalidad de obtener una buena coloración nuclear.
3. Observar al microscopio con los objetivos secos (10X y 40X).
4. Hacer la lectura en 10 campos.

Análisis microbiológico

El aislamiento comprende la siembra directa y la siembra previo enriquecimiento.

Técnica siembra directa

1. Impregnar un hisopo estéril con la muestra seleccionar aquellas partes que se observen con sangre o moco.
2. Descargar el inóculo sobre la superficie la placa de Agar Mac Conkey. El aislamiento de las colonias se hace por estría cruzada, utilizando un asa de platino y esterilizándola en cada sección de aislamiento de la placa y separando la estría. Incubar de 24-48 hrs. a 35 ± 2 °C.

Siembra previo enriquecimiento

1. Introducir el hisopo utilizado en el paso anterior dentro de un tubo que contenga aproximadamente 10 mL de caldo tetrationato y se llevarlo a la incubadora por 18-24 horas a 35 ± 2 °C.
2. Dejar transcurrir el tiempo de incubación, abrir el tubo y sacar el hisopo para descargar con él un inóculo sobre la superficie del medio de Agar Sulfito de Bismuto y agar Salmonella-Shigella.
3. Terminar la resiembra estría cruzada incubar de 24-48 hrs. a 35 ± 2 °C.

RESULTADOS

UROCULTIVO

a) Examen físico

Parámetro	Observación	Significado clínico
Aspecto		
Color		
Olor		

b) Examen químico

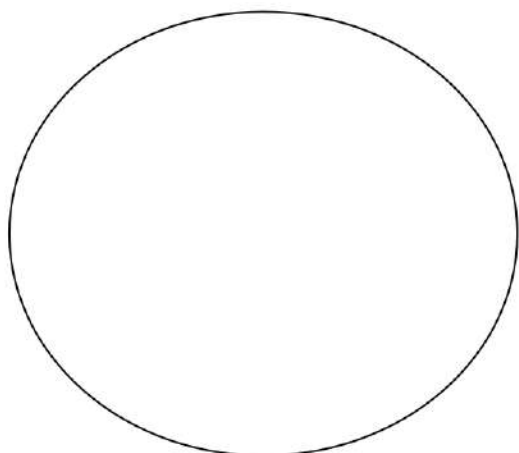
Parámetro	Resultado
Sangre	
Nitritos	
Esterasa	

c) Examen microscópico

Sedimento urinario

Elementos formes	Resultados	Valor de referencia
Eritrocitos		< 5 células/ μ l o 0-3 por campo (40X)
Leucocitos		< 10 células / μ l o 0-5 por campo (40X)
Cilindros	Hialino	Negativo o 0-2 campo cilindro hialino (10X)
	Granular	
	Céreo	
	Celular	
	Hemático	
	Leucocitario	
	Mixto	
Cristales		Negativo

- d) Anotar las observaciones del frotis y del examen en fresco.

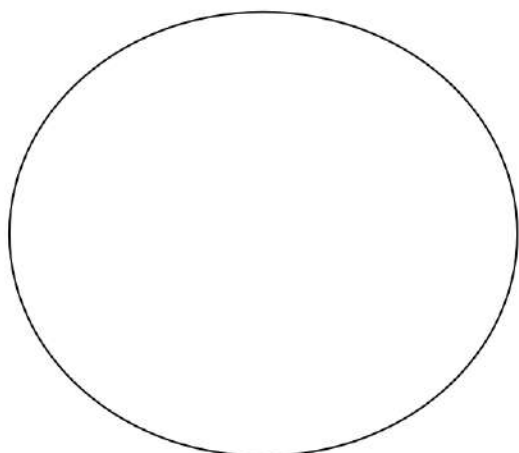


Tinción de Gram:

Forma:

Agrupación:

Nota: un microorganismo observado en una gota de orina por campo de inmersión (1.000X) se correlaciona con el cultivo de $\geq 10^5$ UFC/mL



Examen en fresco

COPROCULTIVO

- a) Examen físico

Parámetro	Observación
Color	
Consistencia	
Presencia de moco	
Presencia de sangre	

b) Examen microscópico

Presencia de leucocitos fecales:

Elementos formes	Resultados	Valor de referencia
Leucocitos		< 5 células por campo (40X)

CUESTIONARIO

1. Mencionar en orden de frecuencia las especies bacterianas productoras de una ITU
2. ¿Con base en tu respuesta anterior anota el nombre de ese microorganismo más frecuente y cuál es su morfología colonial en el agar EMB?
3. Mencionar en orden de frecuencia los microorganismos productores de EDA.
4. Mencionar la importancia del examen directo de una muestra de heces en el coprocultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



PRÁCTICA No. 8 ANÁLISIS DE UROCULTIVO Y COPROCULTIVO. IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

APRENDIZAJE ESPERADO

Identifica las colonias sospechosas de los posibles patógenos aislados de las muestras de copro y orina para la identificación del agente patógeno mediante el empleo de las pruebas primarias y bioquímicas adecuadas.

INTRODUCCIÓN

Los esquemas tradicionales de identificación fenotípica bacteriana se basan en las características “observables” de las bacterias, como su morfología, características tintoriales, desarrollo en los medios de cultivo selectivos y diferenciales, propiedades bioquímicas y metabólicas. En el proceso de identificación bacteriana tradicional, la experiencia del microbiólogo es fundamental para la elección de una prueba o una batería de pruebas de forma secuencial en función de la fiabilidad de las mismas, del género o de la especie bacteriana que se pretende identificar, del origen del aislamiento bacteriano, así como del costo de las mismas.

En el proceso de identificación bacteriana tradicional se establecen tres niveles de procesamiento:

- a) Primer nivel: todas las características fenotípicas conocidas son importantes sin embargo en un inicio deben seleccionarse las pruebas primarias que son rápidas y sencillas de realizar como la morfología en la tinción de Gram u otras tinciones, oxidasa y catalasa. Utilizando estas pocas pruebas generalmente es posible situar a las bacterias, de manera provisional, en uno de los principales grupos de importancia médica.
- b) Segundo nivel: la identidad de un microorganismo se apoya en las características del cultivo, por ejemplo: crecimiento en diferentes atmósferas de incubación, crecimiento en

varios tipos de medios de cultivo, y en pruebas primarias, con las cuales se puede determinar el género, grupo de géneros o en algún caso familia a la que pertenece un aislamiento.

- c) Tercer nivel: la conclusión debe hacerse con la identificación a nivel de especie. El empleo de ciertas pruebas bioquímicas permite identificar con un alto grado de precisión la mayoría de las bacterias clínicamente significativas. Si la identificación no pudiera hacerse usando este primer esquema, puede utilizarse una batería de pruebas más amplia como las que se encuentra en diferentes sistemas comerciales. El resultado se coteja y compara con pruebas estandarizadas o en base a perfiles numéricos de identificación. El inconveniente de este proceso es que resultados erróneos en las pruebas primarias pueden conducir a una identificación equivocada, perdiendo tiempo y recursos, y llevar también a un resultado erróneo.

En la actualidad muchas de las infecciones que sufren las personas en diversos ámbitos clínicos son causadas por especies de la familia *Enterobacteriaceae*, por lo cual es importante la correcta identificación en cada caso. Aunque existen métodos automatizados y semiautomatizados con los mayores grados de confiabilidad, aún en muchos laboratorios se siguen usando las pruebas bioquímicas tradicionales para identificar dichas bacterias.

Dentro de las pruebas bioquímicas tradicionales utilizadas la producción de lisina descarboxilasa, H₂S, ornitina descarboxilasa e indol son pruebas que se hallan entre las de mayor poder discriminador, las pruebas restantes de la serie tradicional como son: utilización de citrato y producción de fenilalanina desaminasa, ureasa y gas, movilidad y fermentación de lactosa) tienen poderes de resolución bajos.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material	Reactivos
2 asas bacteriológicas	1 gotero con aceite de inmersión
1 gradilla	Reactivo de catalasa
1 mechero Fisher	Reactivo de oxidasa
1 pinzas de dientes ratón	Kit para tinción de Gram
1 piseta	
4 portaobjetos	Pruebas bioquímicas
1 puente de tinción	TSI
1 vaso de pp. de 100 mL	LIA
	MIO

Equipo	Citrato de Simmons Fenilalanina Caldo urea Caldo rojo de metilo
Incubadora Microscopio Refrigerador	

DESARROLLO

1. Desinfectar la mesa de trabajo, enciende el mechero y coloca los cultivos provenientes del análisis del urocultivo y coprocultivo.
2. Abrir cada uno de los cultivos dentro del área aséptica proporcionada por el mechero y procede a realizar la lectura de la morfología colonial observada en cada uno de ellos.
3. Anotar tus observaciones en la tabla correspondiente.
4. Seleccionar las colonias cuya morfología colonial corresponda con el desarrollo típico en el medio de cultivo sembrado para tñirlas por Gram, hacerles la prueba de oxidasa y sembrar las pruebas bioquímicas.
5. Sembrar las colonias seleccionadas en los medios de TSI, LIA, MIO, Citrato de Simmons, Fenilalanina, Caldo urea y Caldo rojo de metilo, utiliza el asa bacteriológica correcta de acuerdo con la técnica de siembra.
6. Identificar las pruebas bioquímicas inoculadas e incuba.

RESULTADOS

a) UROCULTIVO

1. Observa el cultivo en agar gelosa sangre, si existe crecimiento hacer el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC) por mL de orina y el cálculo correspondiente. Considera que el número de colonias obtenido está relacionado con el volumen del asa calibrada que hayas empleado para hacer la siembra, por tanto, aplica una regla de tres para obtener el número de UFC/mL.

UFC/mL de orina: _____

2. Observa en los medios inoculados, si hay crecimiento y selecciona las colonias sospechosas de microorganismos patógenos en cada uno de los medios, realiza su tinción de Gram, prueba de oxidasa y describe su morfología colonial.
Anota los resultados en la tabla siguiente:

Tabla No.1

Medio de cultivo	Agar gelosa sangre	Agar EMB	Agar Sal y manitol	Agar Biggy
Tinción de Gram				
Forma				
Agrupación				
Oxidasa				
Características				
Tamaño (mm)				
Color				
Forma				
Bordes				
Elevación				
Superficie				
Aspecto				
Luz reflejada				
Luz Transmitida				
Consistencia				
Cambio de pH/ hemólisis, coloración				

b) COPROCULTIVO

1. Observa en los medios inoculados, si hay crecimiento y selecciona las colonias sospechosas de microorganismos patógenos en cada uno de los medios, realiza su tinción de Gram, prueba de oxidasa y describe su morfología colonial.

Anota los resultados en la tabla siguiente:

Tabla No.2

Medio de cultivo	Agar EMB	Agar Mac Conkey	Agar <i>Salmonella</i> - <i>Shigella</i>	Agar sulfito de bismuto
Tinción de Gram				
Forma				
Agrupación				
Oxidasa				
Características				
Tamaño (mm)				
Color				
Forma				
Bordes				
Elevación				
Superficie				
Aspecto				
Luz reflejada				
Luz Transmitida				
Consistencia				
Cambio de pH/ hemólisis, coloración				

CUESTIONARIO

1. ¿Por qué la prueba de oxidasa se realiza tomando las colonias con un aplicador de madera?
2. ¿Por qué no hacemos la prueba de la catalasa cuando tenemos un bacilo Gram negativo?
3. ¿Qué ocurre si excedemos el tiempo de incubación de las pruebas bioquímicas?
4. Menciona tres causas de falsos negativos en la prueba del urocultivo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



PRÁCTICA No.9 ANÁLISIS DE COPROCULTIVO Y UROCULTIVO **INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

APRENDIZAJE ESPERADO

Determina el género y especie de las bacterias aisladas a partir de las muestras biológicas de orina y copro mediante la Interpretación de las pruebas primarias y bioquímicas y la comparación de esos resultados con los contenidos en la tabla de identificación para enterobacterias.

INTRODUCCIÓN

Una vez que se detecta el crecimiento bacteriano en un medio de cultivo para aislamiento inicial o primario, debe determinarse la importancia real de la bacteria que se ha aislado. Luego, se continuará con el proceso de obtener cultivos puros a partir de colonias aisladas y la aplicación de pruebas diseñadas para la caracterización e identificación definitiva de la bacteria. Las pruebas exactas y la estrategia metodológica a seguir varían con los distintos grupos bacterianos, y el nivel taxonómico (género, especie o subespecie) de identificación requerido estará en relación con la utilidad o importancia clínica que se le dé a esa información.

El laboratorio de bacteriología debe disponer de personal calificado para llevar a cabo la interpretación de las pruebas fenotípicas realizadas a las bacterias aisladas a partir de las muestras clínicas analizadas con el propósito de identificar el agente etiológico responsable del proceso infeccioso, garantizando así la fiabilidad de los resultados. De esta manera el laboratorio se constituye en un pilar fundamental en la práctica médica que es la asignación de especie a un aislamiento microbiano, proporcionando al personal médico la información

precisa para conocer las implicaciones patogénicas/patológicas, la evolución clínica, y aplicar una terapia antimicrobiana eficaz.

Se le denomina *identificación* bacteriana al conjunto de actividades, técnicas y procedimientos mediante los cuales se determinan las características fenotípicas y/o genotípicas importantes de las bacterias para su asignación a un taxón según una clasificación dada y la comparación de estas características con los diferentes taxones de la clasificación considerada.

Las características a determinar y su número depende principalmente del tipo de bacteria y del fin que se persigue en la identificación.

Cowan y Steel establecieron un grupo de pruebas denominadas pruebas primarias con las que se puede determinar el género, grupo de géneros o en algún caso familia a la que pertenece un aislamiento, dichas pruebas son: tinción de Gram, tinción de Schaeffer-Fulton, tinción de Ziehl-Neelsen, metabolismo, producción de catalasa, producción de oxidasa, movilidad, aerobiosis, anaerobiosis. También son importantes las propiedades bioquímicas y degradación de macromoléculas, en la identificación bacteriana.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material	Reactivos
Gradilla	Frasco gotero con reactivo de Ehrlich Frasco gotero con FeCl_3 al 10% Frasco gotero con solución Indicadora de Rojo de Metilo 0.04% Frasco gotero con reactivo de α - naftol al 5% Frasco gotero con reactivo de KOH al 40%,

DESARROLLO

1. Desinfecta la mesa de trabajo, enciende el mechero y coloca las pruebas bioquímicas inoculadas para realizar las lecturas correspondientes.
2. Adiciona los reactivos reveladores a aquellas pruebas bioquímicas que los requieran como se indica en la tabla siguiente.

PRUEBA BIOQUÍMICA	REACTIVO REVELADOR	TIEMPO DE REACCIÓN
MIO	Agregar 5 gotas de reactivo de Ehrlich 3-5 gotas	1-3 minutos
Rojo de metilo	Agregar 4 gotas de solución Indicadora de rojo de metilo 0.04%	1-3 minutos
Voges-Proskauer	Agregar 12 gotas de α -naftol al 5% Agregar 8 gotas de KOH al 40%	10 minutos
Fenilalanina	Agregar 4-5 gotas de FeCl_3 al 10%	1-3 MINUTOS

3. Anota tus observaciones en la tabla correspondiente.
4. Utiliza las tablas que se encuentran al final de la práctica para que compares los resultados obtenidos con los de tabla y logres identificar el agente patógeno aislado a nivel de género y especie.
5. Integra toda la información obtenida y elabora el informe bacteriológico tanto para urocultivo como el coprocultivo.

RESULTADOS

1. Realiza las lecturas correspondientes, anota los resultados obtenidos y compáralos con los resultados contenidos en la tabla de identificación para enterobacterias.

a) UROCULTIVO

	AGS	AEMB	ASM	A BIGGY
Tinción de Gram				
Forma				
Agrupación				
Oxidasa				
Indol				
Rojo de metilo				
Voges-Proskauer				
Sulfuro de hidrógeno				
Urea				
Movilidad				
Lisina descarboxilasa				

Arginina descarboxilasa				
Ornitina descarboxilasa				
Fenilalanina desaminasa				
Producción de gas				
Glucosa				
Lactosa				
Sacarosa				

Agente patógeno aislado: _____

b) COPROCULTIVO

	A EMB	A Mac C	A S-S	A SB
Tinción de Gram				
Forma				
Agrupación				
Oxidasa				
Indol				
Rojo de metilo				
Voges-Proskauer				
Sulfuro de hidrógeno				
Urea				
Movilidad				
Lisina descarboxilasa				
Arginina descarboxilasa				
Ornitina descarboxilasa				
Fenilalanina desaminasa				
Producción de gas				
Glucosa				
Lactosa				
Sacarosa				

Agente patógeno aislado: _____

2. Integra la información obtenida y elabora el informe bacteriológico correspondiente tanto para el urocultivo como el coprocultivo.

CUESTIONARIO

1. Nombre de una prueba preliminar que se realiza para separar a las enterobacterias del resto de las Gram negativas:
2. Anota dos técnicas de identificación confirmativa diferentes a la utilizada en la práctica:
3. Dentro de los métodos convencionales para la identificación de los microorganismos a que se refieren las pruebas de tolerancia y menciona 5 ejemplos:
4. Anota 5 ejemplos de las capacidades metabólicas de las bacterias que nos permiten evaluar las pruebas bioquímicas:

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY”
ACADEMIA DE: TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO
LABORATORIO DE: BACTERIOLOGÍA CLÍNICA



Clave: BC-P10

Revisión: 18 /08/2026

Fecha de emisión: 25/08/26

Página: 60 de 76

PRÁCTICA No. 10 INFECCIÓN EN PIEL Y HERIDAS

APRENDIZAJE ESPERADO

Diseña el diagrama de flujo para la identificación de bacterias aerobias y anaerobias patógenas causantes de infecciones en piel y heridas a partir de diferentes muestras clínicas.

INTRODUCCIÓN

La piel es el órgano más extenso del organismo y constituye la primera línea de defensa. Aun cuando está limpia, la superficie de la piel no es estéril, puede estar colonizada por una microbiota residente y otra transitoria, las bacterias que conforman esa microbiota pueden ubicarse tanto en la capa superficial (epidermis) o capas más profundas (dermis e hipodermis) que corresponden a bacterias aeróbicas y anaeróbicas respectivamente. La microbiota normal es una barrera dinámica que ayuda a mantener a otros microorganismos (patógenos) alejados. En la mayoría de las ocasiones, estos microorganismos no causan enfermedades y no estimulan al sistema inmunológico, sin embargo, si hay una herida en la piel o si el sistema inmunitario está debilitado, si pueden causar una infección.

La microbiota cutánea residente es constante, de baja patogenicidad, en la que suele predominar organismos aerobios grampositivos como: *Staphylococcus epidermidis*, , *Corynebacterium spp.*, *Micrococcus spp.* y *Streptococcus viridans* o anaerobios Gram positivos como: *Peptostreptococcus* y *Propionibacterium*, etc.

En cuanto a la microbiota cutánea transitoria esta puede provenir del contacto de la piel con el entorno, fómites o bien a través del contacto de las manos. Por ejemplo, se ha visto que en pacientes hospitalizados, específicamente *Staphylococcus aureus*, es transmitido a través de las manos del personal de salud. El *Staphylococcus aureus* habitualmente se elimina con agua y por eso el lavado de manos tiene importancia para efectos de la prevención de infecciones intrahospitalarias. Otros colonizadores de la piel son el *Streptococcus* Grupo A, enterobacterias, el *Acinetobacter*, *Pseudomona*, entre otros.

Una infección de la piel ocurre cuando un microorganismo invade y se multiplica en ella, causando inflamación, irritación y otros síntomas. Estas infecciones pueden originarse de varias maneras, como se mencionó anteriormente puede ser por contacto con superficies contaminadas, contacto directo con personas infectadas, debilitamiento del sistema inmune o bien por heridas.

Las heridas son rupturas de la integridad de la piel y los tejidos. Puede tratarse de cortes superficiales o afectar tejidos más profundos, raspaduras, quemaduras, desgarros, rasguños o arañazos, mordeduras, perforaciones, picaduras o pueden ser el resultado de procedimientos quirúrgicos o dentales.

Las infecciones superficiales como las causadas por un arañazo o en un folículo piloso permanecen confinadas en una pequeña área y normalmente se resuelven por sí solas, sin embargo, otras pueden persistir y, si no se tratan, pueden aumentar en gravedad y diseminarse hacia otros órganos y/o hacia la sangre provocando una infección sistémica, cabe mencionar que no siempre es necesaria una lesión previa para que la piel se afecte en capas profundas o tejidos circundantes.

El diagnóstico de muchas infecciones superficiales de la piel y heridas lo puede realizar el médico basándose en la observación, el examen físico, los signos, síntomas y en su experiencia. Sin embargo, esto no aporta la información suficiente para precisar la identidad del microorganismo ni tampoco la elección del antibiótico adecuado, es por ello que se requiere de la realización de algunas pruebas de laboratorio.

Estas pruebas de laboratorio pueden incluir la tinción de Gram, el cultivo bacteriológico que abarca el aislamiento e identificación, una vez identificado el patógeno mediante el cultivo, esta prueba se utiliza para determinar la susceptibilidad de la bacteria a diversos fármacos. Esta información le será de gran utilidad al médico para tomar decisiones acerca del antibiótico a prescribir.

El resultado microbiológico que el laboratorio aporta depende en gran medida de la calidad de la muestra obtenida ya que una toma mal realizada, pobremente recogida o mal transportada determinará un posible fallo en la recuperación del agente patógeno, dando lugar a un error en el diagnóstico del laboratorio.

Es claro que la elección de la técnica de toma de muestra dependerá en gran parte del lugar donde se efectúe (hospital, consulta), la localización (piel, tejido subcutáneo) características de la lesión (exudativa, seca, descamativa). También es importante tener en cuenta que las infecciones en piel y heridas pueden ser causadas tanto por bacterias aerobias como anaerobias. Por lo tanto, además de elegir la técnica adecuada para la toma se debe utilizar material estéril apropiado para su muestreo e incluso transporte de la misma.

MATERIAL

1. Material bibliográfico (libros, artículos PUBMED) de microbiología médica.
2. Videos
3. Instructivo de laboratorio.

DESARROLLO

1. Con base en el material bibliográfico que consultes elabora los diagramas de flujo correspondientes para la identificación de bacterias aerobias y anaerobias patógenas causantes de infecciones en piel y heridas a partir de diferentes muestras clínicas.

RESULTADOS

a) Entregar los Diagramas de flujo detallados. Estos deben incluir: toma de muestra, material específico para su muestreo, transporte de la muestra, mencionar la tinción, medios de cultivo adecuados (técnica de siembra, tiempo de incubación), método de identificación recomendable (pruebas bioquímicas tradicionales, API, MALDI-TOF, biología molecular) y antibiograma.

CUESTIONARIO

1. Investiga el nombre de 4 bacterias patógenas aerobias, 2 Gram positivas y 2 Gram negativas relacionadas con infecciones en piel y/o heridas y describe brevemente las características de la enfermedad que producen.
2. Investiga el nombre del agente etiológico de la gangrena gaseosa, características tintoriales y morfológicas distintivas, así como la morfología colonial característica de su crecimiento en agar sangre y pruebas bioquímicas sencillas para su identificación confirmativa.
3. Esquematiza el sistema de "Jarra GasPak", menciona su utilidad y cómo funciona.
4. ¿Por qué el Medio Fluido de Tioglicolato (MFT) es útil como medio de transporte para bacterias anaerobias?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY “
ACADEMIA DE: TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO
LABORATORIO DE: BACTERIOLOGÍA CLÍNICA



Clave: BC-P11

Revisión: 18 /08/2026

Fecha de emisión: 25/08/26

Página:63 de 76

**PRÁCTICA No.11 RELACIÓN ENTRE LAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LAS
ENFERMEDADES INFECCIOSAS CON SU DIAGNÓSTICO EN EL LABORATORIO**

APRENDIZAJE ESPERADO

Aplica los conocimientos técnico-científicos para el diagnóstico microbiológico de las enfermedades infecciosas y lo relaciona con sus manifestaciones clínicas.

INTRODUCCIÓN

El principal objetivo del laboratorio de bacteriología clínica es apoyar el diagnóstico de enfermedades infecciosas, al permitir la identificación del agente causal y evaluar su susceptibilidad a los antimicrobianos lo que ayuda a elegir el tratamiento más efectivo y evitar su uso innecesario. Este proceso se basa en la combinación de la historia clínica del paciente, los síntomas, la exploración física y pruebas de laboratorio.

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas implica una conexión entre el médico y el laboratorio de bacteriología clínica y esa conexión se establece desde el momento en que el médico solicita al laboratorio el estudio adecuado. La elección de la muestra y la técnica de recolección varían según la enfermedad que se sospecha y el tipo de agente infeccioso que se busca.

La recolección correcta de una muestra clínica para su análisis es la etapa más importante para una identificación exitosa pues un muestreo deficiente, una muestra contaminada con la microbiota residente en el sitio de muestreo, entregada fuera de tiempo, en la cantidad incorrecta, mal identificada, en condiciones inadecuadas o deficientes de transporte etc. pueden ser motivo de error, confusión o bien impedir el aislamiento correcto del patógeno y conducir a un diagnóstico microbiológico equivocado y, en consecuencia, a la instalación de una terapia incorrecta, agravando el cuadro clínico del paciente.

MATERIAL

1. Material bibliográfico/exploradores digitales (libros, artículos PUBMED) de bacteriología médica.
2. Instructivo de laboratorio.
3. Paquetería para elaborar presentaciones digitales (Google, Canva, Genially, YouTube etc.).

DESARROLLO

1. Elaborar previamente por equipo un cuadro comparativo el cual debe contener la siguiente información: Tipo de muestra (exudado uretral, exudado prostático, espermocultivo, exudado vaginal y vulvar, exudado cervical, líquido de diálisis peritoneal, líquido pleural, líquido sinovial y mielocultivos), mantenimiento y transporte de la muestra, criterios de aceptación y rechazo de las muestras, tinción y medios de cultivo acordes a la muestra, nombre de las posibles bacterias aisladas y signos y síntomas relacionados.
2. A cada equipo se le asignará una de las muestras, para que estructure y represente un caso clínico en el laboratorio. La clave de esta actividad será construir una exposición como si estuvieran resolviendo un misterio médico paso a paso, donde cada pieza de información sea crucial para el diagnóstico. Asignar a cada estudiante un rol: uno puede ser el médico que recibe al paciente, otro el paciente uno más el microbiólogo que procesa la muestra, y otro el epidemiólogo que relaciona los síntomas con los hallazgos.
3. El equipo expositor abordará el tema en un tiempo de 10 minutos. Al término de cada exposición el docente hará una retroalimentación del tema y resolución de dudas. Esto en un lapso de 10 minutos.

RESULTADOS

1. Entregar por equipo el cuadro comparativo completo, con la información solicitada.
2. Presentación del caso clínico.
3. De cada caso clínico presentado, por equipo (incluyendo el equipo expositor), entregarán un informe clínico y de laboratorio el cual debe contener lo siguiente
 1. Descripción breve del caso: antecedentes clínicos relevantes.
 2. Selección y justificación de pruebas de laboratorio: qué análisis se solicitaron y por qué son pertinentes.

3. Presentación e interpretación de resultados: su correlación con el cuadro clínico.
4. Discusión diagnóstica: posible patología(s), diagnósticos diferenciales y limitaciones del laboratorio.
5. Propuesta de estudios complementarios: qué otras pruebas serían necesarias para confirmar o descartar diagnósticos.
6. Reflexión sobre control de calidad: factores preanalíticos, analíticos y postanalíticos que pudieron afectar los resultados.
7. Conclusión final: integración clínica-laboratorial y aprendizajes adquiridos.

CUESTIONARIO

1. ¿Por qué se considera importante conocer la microbiota habitual del organismo en el momento de realizar estudios microbiológicos?
2. ¿Qué consideraciones previas deben tomarse en cuenta al momento de realizar una toma de muestra clínica?
3. Menciona la importancia de realizar un examen directo (en fresco o tinción) al momento de procesar una muestra clínica.
4. ¿Qué factores influyen en el aislamiento de un microorganismo?
6. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas que tienen los métodos no convencionales en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS 15
“DIÓDORO ANTÚNEZ ECHEGARAY “
ACADEMIA DE: TÉCNICO LABORATORISTA CLÍNICO
LABORATORIO DE: BACTERIOLOGÍA CLÍNICA



Clave: BC-P12

Revisión: 18 /08/2026

Fecha de emisión: 25/08/26

Página: 66 de 76

PRÁCTICA No.12 EXUDADO OCULAR, PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

APRENDIZAJE ESPERADO

Aplica los conocimientos de microbiología general para la selección y preparación de medios de cultivo para el análisis de exudado conjuntival.

INTRODUCCIÓN

El laboratorio de microbiología desempeña un papel clave en el estudio de microorganismos patógenos que colonizan, infectan y causan enfermedad en el ser humano. Refiriéndonos específicamente a la patología infecciosa del ojo, el microbiólogo o técnico laboratorista clínico son quienes orientan al oftalmólogo en el diagnóstico, interpretación clínica y tratamiento antibiótico. La colaboración entre clínica y el laboratorio es esencial para que este aplique las técnicas más eficientes, de una manera correcta y rápida consiguiendo así que el tratamiento de los pacientes se realice lo más adecuadamente posible.

Una gran variedad de microorganismos como virus, hongos, protozoarios, bacterias pueden ser responsables de la infección del ojo y de las estructuras asociadas, sin embargo, nos centraremos en el proceso adecuado que nos permita el aislamiento e identificación de las bacterias.

La confiabilidad y veracidad de los resultados emitidos por el laboratorio de microbiología dependerán en gran medida de la calidad la muestra enviada. La muestra será de calidad si es la idónea según la patología, recogida adecuadamente con el material estéril apropiado (nunca tocar con él las pestañas y párpados) en cantidad suficiente y transportada rápidamente en el envase y tiempo recomendado, aunque lo ideal es que inmediato a la toma de muestra esta sea inoculada en el medio correspondiente de lo contrario se puede suponer un fracaso al no lograr el aislamiento del agente etiológico no lograr su aislamiento o bien incurrir en el aislamiento de posibles microorganismos contaminantes que pueden generar tratamientos innecesarios.

La identificación de bacterias y hongos, comprende la realización de una tinción de Gram y/o Giemsa y sembrar directamente en los medios de cultivo rutinarios como: Agar sangre, Agar chocolate, Caldo de tioglicolato, Agar Sabouraud, Caldo de infusión cerebro-corazón. Este medio es optativo, pero es muy recomendable ante la sospecha de hongos. Se sugiere la utilización de medios suplementarios como: Agar MacConkey, Agar Löwenstein-Jensen, también medios líquidos como el Middlebrook, Medio de Tayer-Martin, y otros medios selectivos. El cultivo permite identificar el microorganismo patógeno y es la única forma para determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos.

Finalmente para su identificación se recomiendan los métodos rápidos: a) Identificación mediante espectrometría de masas (MALDI TOF), Meticilin-resistencia, Betalactamasas de espectro extendido. Detección de antígenos: Chlamydia. Serología: lúes, enfermedad de Lyme y PCR: muy limitada.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Material	Reactivos
Matraz Erlenmeyer 500 mL	Agua destilada
Espátula	Medios de cultivo
Mechero Fisher	Agar sangre
Probeta	
Algodón, gasa, cinta testigo	
Placas Petri estériles	
Equipo	
Incubadora	
Balanza granataria	
Autoclave	

DESARROLLO

1. Realizar lavado de manos y limpieza del área de trabajo.
2. Colocar material a utilizar.
3. Realizar los cálculos necesarios para preparar 250 mL de agar sangre.
4. Esterilizar el medio en autoclave durante 15 minutos a 121 °C/1.5 lb.

5. Colocar la sangre, homogenización y vaciado del medios de cultivo en placas estériles.
6. Identificar el medio de cultivo preparado de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) aplicando los criterios de control de calidad de medios de cultivo.
7. Almacenar el medio de cultivo preparado de forma adecuada.

RESULTADOS

- a) Evidencia fotográfica de los medios de cultivo preparados por cada equipo.
- b) Busca, recorta y pega una imagen de cómo se observa el crecimiento de tres patógenos Gram positivos y 3 Gram negativos que pueden aislarse en agar sangre o agar chocolate relacionados con infecciones oculares. Coloca también el nombre del patógeno correspondiente.

CUESTIONARIO

Existen diferentes medios de cultivo empleados para el diagnóstico de una queratitis infecciosa anota lo que se te solicita a continuación:

1. anota el nombre de 3 agares utilizados en el análisis de manera rutinaria y 3 suplementarios.
2. Son medios de cultivo útiles para el aislamiento de Micobacterias, Nocardia spp y Neisseria gonorrhoeae, N. meningitidis respectivamente
3. Que medios de cultivo líquidos se recomiendan para el crecimiento de microorganismos microaerófilos y anaerobios .
4. Nombre del protozoario asociado también con la queratitis infecciosa que se puede aislar utilizando el medio de agar no nutritivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



PRÁCTICA No. 13 EXUDADO OCULAR, SIEMBRA Y AISLAMIENTO

APRENDIZAJE ESPERADO

Utiliza la técnica microbiológica adecuada en el procesamiento de la muestra obtenida del exudado conjuntival para aislar a los patógenos implicado en procesos infecciosos de la conjuntiva.

INTRODUCCIÓN

La conjuntivitis es una inflamación de la conjuntiva, mucosa que cubre la parte anterior del ojo y el interior del párpado. La conjuntivitis puede ser aguda o crónica es decir de inicio rápido y duración corta o crónica, que es recurrente o persistente respectivamente. La evolución de la conjuntivitis no solo indica su duración, sino que también está ligada a su causa, ya que muchas formas agudas, si no se tratan adecuadamente, pueden volverse crónicas. En cuanto a la etiología de esta de esta afección puede ser de origen infecciosa o no infecciosa, dentro de las afecciones de origen infeccioso la más común es la conjuntivitis de origen viral seguida por la conjuntivitis bacteriana y, entre la etiología de conjuntivitis no infecciosa las más comunes que se encuentran son la conjuntivitis alérgica y la inducida por toxinas.

El 80% de los casos agudos de conjuntivitis son de origen viral siendo el Adenovirus el patógeno más común siendo responsables del 65% al 90% de los casos de conjuntivitis viral, algunos otros patógenos virales son el herpes simple, herpes zoster y enterovirus.

La conjuntivitis bacteriana es una inflamación de la conjuntiva causada por bacterias, siendo la más comunes *Staphylococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis* y menos comunmente, *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*. Los síntomas característicos de esta afecciones son normalmente unilaterales, pero a menudo se extienden al otro ojo en pocos días. La secreción típica es purulenta de color amarillo o verdoso, los ojos se observan rojos, hay irritación, lagrimeo y son altamente contagiosas. Se transmite por contacto directo con manos o superficies contaminadas, y la prevención se centra

en la higiene de manos o bien suelen ser el resultado del contacto sexual con una persona que tiene una infección genital como es el caso de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*.

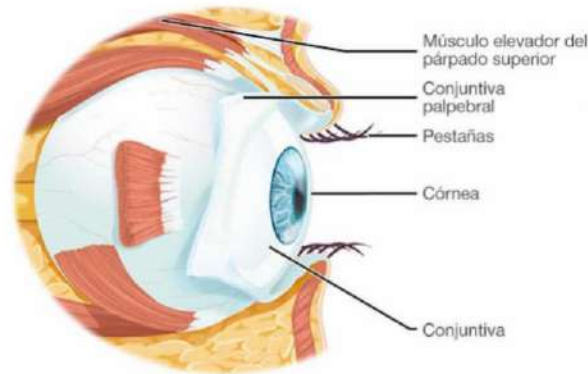


Figura 1. Anatomía del ojo.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

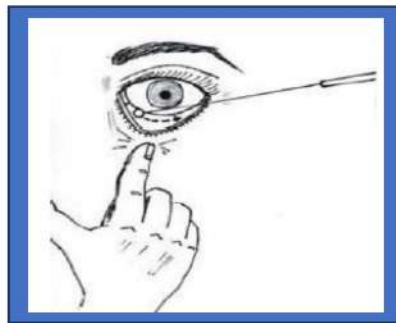
Material	Reactivos
Hisopos dacrón o rayón estériles	Reactivos para tinción de Gram
Asa bacteriológica	Solución salina estéril 0.85%
Portaobjetos	Aceite de inmersión
Puente de tinción	Metanol
Marcador indeleble	Medios de cultivo
Equipo	Placas de Agar sangre
Incubadora	
Microscopio	

DESARROLLO

1. Sentar al paciente de forma cómoda en un lugar bien iluminado y solicitarle que eleve ligeramente la cabeza y fije la mirada hacia arriba.
2. Retraer con el dedo índice el párpado inferior para exponer la conjuntiva como se indica en la figura 2.
3. Limpiar cuidadosamente la secreción ocular en caso de estar presente, con un hisopo o gasa estéril, descartando el material utilizado en contenedor adecuado de RPBI.

4. Humedecer 2 hisopos en solución salina estéril.
5. Frotar suavemente los hisopos de dacrón sobre la conjuntiva y/o el sitio donde se observe la secreción o alguna lesión, rotándolo, para que toda la superficie del hisopo quede impregnada de la muestra.
6. Realizar con uno de los hisopos un extendido fino de la muestra sobre la superficie de un portaobjetos limpio fijar con metanol y teñir por Gram.
7. Descargar el otro hisopo sobre la superficie de agar gelosa sangre, rotando el mismo, para que toda la superficie del hisopo entre en contacto con el agar. Utilizar la técnica de estría masiva.
8. Identificar la placa inoculada e incubarla en condiciones de aerobiosis a 37°C, por 24-72 horas.
9. Revisar los cultivos una vez transcurrido el tiempo de incubación para analizar las colonias de interés y realizarles tinción de Gram, pruebas de catalasa, coagulasa y oxidasa. , Nota: las pruebas de catalasa y coagulasa se realizan conforme a la técnica descrita anteriormente

Figura 2. Toma de muestra exudado conjuntival.



Nota: Previo a la toma de muestra de hisopado conjuntival se le indica al paciente las condiciones en las que se debe de presentar al laboratorio para la toma de muestra: evitar la aplicación de cremas, maquillaje, no estar en tratamiento con antibiótico al menos 15 días antes de la toma de muestra.

Precauciones

Toda recogida de muestras oculares excepto los exudados conjuntivales deben realizarla el oftalmólogo en las máximas condiciones de asepsia posible y evitando la contaminación de la microbiota comensal y ambiental.

1. En pacientes con afectación unilateral se debe especificar claramente cuál es el ojo afectado del que se recogerá la muestra.
2. Se debe de evitar el uso de torundas de algodón que puede inhibir el crecimiento de ciertos microorganismos, torundas con alginato de calcio y con palillo de madera resultan tóxicas para virus y pueden interferir en el empleo de técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
10. Identificar la muestra adecuadamente, es importante especificar a que ojo corresponde la muestra tomada; si hay afección de los dos ojos las muestras de ambos ojos se procesaran de manera independiente. Se recomienda la toma de muestras conjuntivales de ambos ojos incluso en el caso de conjuntivitis unilateral. La comparación del crecimiento microbiano del ojo no afectado con el del ojo afectado puede facilitar en algunos casos la determinación del agente etiológico.
11. Un segundo hisopo se utilizará para realizar tinción de Gram y cuando haya sospecha de infección por *Chlamydia* realizar tinción de Giemsa fijando la muestra químicamente.

RESULTADOS

- a) Registra los resultados obtenidos en la tinción de Gram realizado a partir de la toma de muestra.

Características microscópicas	Ojo izquierdo	Ojo derecho
Tinción de Gram		
Agrupación bacteriana		

- b) Registra los resultados obtenidos en la tinción de Gram realizado a partir del cultivo.

Características microscópicas	Ojo izquierdo	Ojo derecho
Tinción de Gram		
Agrupación bacteriana		

c) Anota los resultados de las pruebas adicionales.

CUESTIONARIO

1. Anota el nombre del patógeno y la enfermedad infecciosa que produce que de no tratarse a tiempo y de forma adecuada puede llevar a la ceguera. Se presenta principalmente en adultos.
2. ¿Porque para el diagnóstico de laboratorio de la enfermedad anterior es empleada la técnica de Giemsa?
3. Nombre del agente etiológico que se transmite de forma vertical y también puede ocasionar ceguera:
4. ¿Cuál es la microbiota normal en el ojo?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXO 1

TABLA DE COMPARACIÓN DE HALOS DE SENSIBILIDAD EN mm (NCCLS)					
Clave – antibiótico	Concentración	R Igual o menor	I Entre	S Igual o mayor	
(AK) Amikacina	30 mcg	14	15-16	17	
(AM) Ampicilina	10 mcg				
Enterobacteriaceae		11	12-13	14	
Staphylococcus sp.		28	----	29	
Enterococos		16	----	18	
Streptococos		21	----	30	
(CB) Carbenicilina	100 mcg				
Enterobacteriaceae		18	18-22	23	
Pseudomonas sp.		13	14-16	17	
(CF) Cefalotina	30 mcg	14	15-17	18	
(CFX) Cefotaxima	30 mcg	14	----	23	
(CTZ) Ceftazidima	30 mcg	14	15-17	18	
(CTX) Ceftriaxona	30 mcg	13	----	21	
(CXM) Cefuroxima	30 mcg	14	15-17	18	
(CPF) Ciprofloxacina	5 mcg	15	16-20	21	
(CLM) Clindamicina	30 mcg	14	15-20	21	
(CL) Cloranfenicol	30 mcg	12	13-17	18	
(DC) Dicloxacilina	1 mcg	--	----	--	
Staphylococcus sp.		10	11-12	13	
(ENX) Enoxacina	10 mcg	14	15-17	18	
(E) Eritromicina	15 mcg	13	14-17	18	
(GE) Gentamicina	10 mcg	12	13-14	15	
(NET) Netilmicina	30 mcg	12	13-14	15	
(NF) Nitrofurantoína	300 mcg	14	15-16	17	
(NOF) Norfloxacina	10 mcg	12	13-16	17	
(PE) Penicilina	10 U				
Enterococos		14	----	15	
Streptococos		19	20-27	28	
Staphylococcus sp.		28	----	29	
N. gonorrhoeae		19	----	20	
Neumococos		19	----	20	
(SXT) Sulfametoxazol Trimetoprim	25 mcg	10	11-15	16	
(TE) Tetraciclina	30 mcg	14	15-18	19	
(VA) Vancomicina	30 mcg	--	----	--	
Enterococos		14	15-16	17	
Staphylococcus aureus		--	----	15	

ANEXO 2

TABLA MODIFICADA DE COWAN'S & STEEL PARA IDENTIFICACION DE BACTERIAS HETERÓTROFAS

Tinción Gram (cultivo fresco)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Forma	coco	coco	coco	coco	bastón	bastón	bastón	bastón	bastón	bastón	bastón	bastón	coco
Agrupación	racimos	racimos	cadena	tetrad									pares
Crecimiento aerobio	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento anaerobio	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
Esporas	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Movilidad	-	-	-	-	-	+0-	+0-	+0-	+0-	+0-	+0-	+	-
Catalasa	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Oxidasa									+	+	-	+	+
Fermentación de glucosa a ácido ó a ácido+gas	-	+	+	+	+	+ (0-)	+	-	-	-	+	+	-
O/F									-	0	F	F	0
<i>Micrococcus</i>	X												
<i>Staphylococcus</i>		X											
<i>Streptococcus</i>			X										
<i>Lactococcus</i>			X										
<i>Enterococcus</i>			X										
<i>Leuconostoc</i>			X										
<i>Pediococcus</i>			X	X									
<i>Aerococcus</i>				X									
<i>Lactobacillus</i>					X								
<i>Clostridium</i>						X							
<i>Bacillus</i>							X	X					
<i>Alcaligenes</i>									X				
<i>Pseudomonas</i>										X			
<i>Enterobacterias</i>											X		
<i>Aeromonas</i>												X	
<i>Chromobacterium</i>												X	
<i>Neisseria</i>													X

ANEXO 3

TABLA DE IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>	Other <i>Shigella</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhi</i>	<i>Citrobacter</i>			<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Proteus</i>		<i>Morganella morganii</i>			
						<i>C. freundii</i>	<i>C. braakii</i>	<i>C. koseri</i> (formerly <i>diversus</i>)	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>S. odorifera</i> biotype 2	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. mirabilis</i>	
Indole	+	-	V	-	-	-	-(v)	+	-	+	-	-	-	V	+	-	+
Methyl red	+	+	+	+	+	+	+	+	V	-(v)	-	-	V	+(v)	+	+	+
Voges Proskauer	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	V	-
Simmons citrate	-	-	-	+	-	+	+(v)	+	+	+	+	+	+	+	-(v)	+(v)	-
Hydrogen Sulfide (TSI)	-	-	-	+(v)	+w	+	+(v)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Urea	-	-	-	-	-	-(v)	-(v)	+(v)	+	+	+(v)	-	-(v)	-	+	+	+
Motility	V	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	V
Lysine decarboxylase	+(v)	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
Arginine dihydrolase	-(v)	-	V	+(v)	-	+(v)	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Ornithine decarboxylase	+(v)	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+
Phenylalanine deaminase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Gas from D-glucose	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Lactose	+	-	-	-	-	+(v)	+	V	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Sucrose	V	-	-	-	-	+(v)	-	-(v)	+	+	+	+	+	-	+	-	-
D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-(v)	+	-(v)	+(v)	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-(v)	+	V	+	-	-	-
D-Sorbitol	+(v)	-	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
L-Arabinose	+	+	V	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Raffinose	V	-	V	-	-	-(v)	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
L-Rhamnose	-	+(v)	-(v)	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
KCN, growth in	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Gelatin (22°C)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-(v)	+	+	+	-
DNase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-