



CORPORACIÓN UNIVERSITARIA  
**RAFAEL NÚÑEZ**

PARA QUE TU DESARROLLO CONTINÚE SU MARCHA

---

**GUÍA DE LABORATORIO  
MICROBIOLOGÍA II  
III Semestre**

**INGRIS VERGARA DE ARCO**

Bacterióloga, Especialista en Microbiología Clínica

**JAIME A. LORDUY GÓMEZ.**

Bacteriólogo, Especialista en Microbiología Clínica

Msc. Epidemiología

---

**Facultad de Ciencias de la Salud**

**Programa de Enfermería e Instrumentación Quirúrgica**





© **Corporación Universitaria Rafael Núñez**  
Institución Universitaria | Vigilada Mineducación  
2019  
Hecho en Colombia

**Rector**

Miguel Ángel Henríquez López

**Vicerrector General**

Miguel Henríquez Emiliani

**Vicerrectora Académica**

Patricia De Moya Carazo

**Vicerrector Administrativo y Financiero**

Nicolás Arrázola Merlano

**Directora Institucional de la Calidad**

Rosario López Guerrero

**Directora de Investigación**

Judith Herrera Hernández

**Director Programa de Enfermería**

Martha Zabaleta Torres

**Director Programa de Instrumentación Quirúrgica**

Ruby Muñoz Baldiris

**Director de Biblioteca Miguel Henríquez Castañeda-Cartagena**

Luis Fernando Rodríguez L.

**Revisión técnica disciplinar**

Alberto Cuello Sierra

**Revisión y corrección de estilo**

Edmundo Altamiranda Baldiris

**Autor**



Ingris Vergara De Arco  
Jaime Lorduy Gómez

## TABLA DE CONTENIDO

Presentación.....	4
Normas generales de Bioseguridad en el Laboratorio .....	5
Plan de Trabajo del estudiante.....	6
Materiales para todas las clases.....	7
Práctica N° 1: Toma de muestras para el diagnóstico de las principales infecciones en microbiología .....	8
Práctica N° 2: Diagnóstico de las principales infecciones de transmisión sexual .....	15
Práctica N° 3: Diagnóstico inmunológico de las principales infecciones en microbiología.....	19
Bibliografía.....	24



## PRESENTACIÓN

La historia de la Microbiología inicia realmente desde la aparición del microscopio, la observación de seres diminutos fue fundamental en la definición de los postulados de Koch; en los cuales se comprobó que los microorganismos eran los causantes de las enfermedades infecciosas y el aporte de dicha definición cambió la historia de la microbiología para siempre.

Es fácil imaginarse la emoción que sintió en 1674 el biólogo holandés Antón Van Leeuwenhoek cuando examinó con sus lentes de microscopio, cuidadosamente pulimentados, una gota de agua y descubrió un mundo formado por millones de diminutos «animálculos». Casi 100 años después el biólogo danés Otto Müller amplió los estudios de Van Leeuwenhoek y, siguiendo los métodos de clasificación de Carlos Linneo, organizó las bacterias en géneros y especies. Se trataba del inicio de la clasificación taxonómica de los microorganismos. En 1840 el anatomopatólogo alemán Friedrich Henle propuso unos criterios para demostrar que los microorganismos eran responsables de la aparición de enfermedades en el ser humano (la denominada «teoría de los gérmenes» de las enfermedades). En las décadas de 1870 y 1880 Robert Koch y Louis Pasteur confirmaron esta teoría mediante una serie de elegantes experimentos en los que demostraron que los microorganismos eran responsables de la aparición del carbunco, la rabia, la peste, el cólera y la tuberculosis. Más adelante, otros brillantes científicos confirmaron que una amplia variedad de microorganismos producían otras enfermedades humanas (1).

Para finales del siglo XIX el trabajo a nivel de laboratorios clínicos ya tenía un auge importante y no permaneció ajeno al impetuoso desarrollo que experimentaron las ciencias médicas en la segunda mitad del siglo XX. Durante ese tiempo se ha acumulado un vasto caudal de experiencia en el estudio de las alteraciones humorales, que tienen lugar durante la evolución de una enfermedad o como consecuencia de un tratamiento. Esto conllevó a una demanda creciente de pruebas para el diagnóstico, que tuvo que ser enfrentada por los profesionales del laboratorio (2)

Aunque los profesionales de Enfermería e Instrumentación Quirúrgica no tendrán como escenario principal, un laboratorio clínico para el desarrollo de pruebas diagnósticas desde



su quehacer profesional, si le darán un mayor acercamiento a diferentes problemas relacionados con los eventos infecciosos más representativos de la ciencia médica actual y promoverá el aprendizaje significativo de los conceptos vistos en esta asignatura desde la teoría.

## **NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO**

Es importante que para trabajar en el laboratorio se manejen normas básicas de bioseguridad. En muchas ocasiones el manejo de muestras clínicas potencialmente contaminadas con patógenos microbianos y de cultivos de microorganismos obtenidos a partir de dichas muestras clínicas; puede traer un riesgo para la salud del trabajador y de la comunidad. La exposición a este riesgo debe ser minimizada y controlada mediante un plan de bioseguridad definido previamente por medio de prácticas estandarizadas e instrumentos de bioseguridad (3).

Cuando se habla de bioseguridad en el laboratorio de microbiología se deben tener en cuenta tres elementos importantes: El agente con el que se va a trabajar (microorganismo), El trabajador potencialmente expuesto y los ambientes tanto interno como externo del laboratorio. Estos elementos determinan estrategias cuya práctica evita infecciones al trabajador y contaminación al ambiente.

## **PRÁCTICAS ESTANDARIZADAS DE MICROBIOLOGÍA**

1. El acceso al laboratorio es limitado o restringido, ya que se trabaja con cultivos y se procesan muestras.
2. Las personas se deben lavar las manos después del trabajo, al retirarse los guantes y antes de dejar el laboratorio.
3. Está prohibido comer, beber, fumar, cambiarse los lentes de contacto, aplicarse cosméticos y guardar comida en áreas de trabajo. Las personas que usan lentes de contacto deben usar gafas protectoras o protector facial.
4. Está prohibido pipetear con la boca, solo usar instrumentos mecánicos o automáticos.
5. Deben existir y ser cumplidas políticas claras sobre el manejo y descarte de los objetos corto punzantes.



6. Todos los procedimientos se deben realizar cuidadosamente para evitar producción de aerosoles y derrames.
7. Las superficies de trabajo se deben descontaminar luego de cualquier derrame visible y de material viable.
8. Todos los cultivos o materiales (guantes, tapabocas, gorros) considerados de riesgo para la comunidad, se deben descontaminar antes de su desecho final por un método adecuado como la autoclave. El material que se va a
9. descontaminar fuera del laboratorio se debe empacar en bolsas rojas a prueba de golpes.

**NIVELES DE BIOSEGURIDAD:** Se describen cuatro niveles de bioseguridad: la combinación de técnicas; prácticas de laboratorio; el equipo de seguridad; y el diseño del laboratorio. Todos ellos influenciados por los microorganismos con los cuales se va a trabajar. Estos niveles se designan en orden ascendente de acuerdo con el grado de protección requerido para el trabajador, para el ambiente y para la comunidad.

### PLAN DE TRABAJO

1. Previamente a la práctica, lea los procedimientos que se van a realizar y prepare todos los aspectos teóricos correspondientes, y los materiales y/o muestras necesarios para la ejecución de la misma.
2. Anote cuidadosamente sus resultados: el examen de la práctica, no sólo se limitará a la información proporcionada por el manual o el docente, sino también de sus propias observaciones, investigación y deducciones.
3. Asegúrese que la superficie del mesón esté limpia y seca antes de comenzar la práctica.
4. En la mesa de trabajo sólo debe estar el material necesario para la realización de la práctica. Debe estar limpio y ordenado.
5. Asegúrese de marcar adecuadamente las láminas y las muestras a usar.
6. Tome todas las precauciones necesarias (evite contacto con ojos, boca y el resto del cuerpo).
7. Practique varias veces el procedimiento y en caso de dudas preguntar a su docente.
8. Anote y/o dibuje todo los fenómenos observados y los resultados obtenidos para una mejor realización de la práctica.



9. Al terminar limpie la zona de trabajo descartando el material que no necesite. Descarte los materiales usados en los sitios destinados para esto. No deje material contaminado en las mesas de trabajo al finalizar la práctica.
10. Limpie el microscopio antes y al final de la práctica. Recuerde que este equipo es fundamental para su trabajo. **¡¡¡¡¡Cúidelo!!!**
11. Siempre tenga en cuenta las normas de bioseguridad.

### **MATERIALES PARA TODAS LAS CLASES INDISPENSABLES EN TODOS LOS LABORATORIOS**

1. Lápiz de Cera o marcador cristalográfico.
2. Colores.
3. Guantes desechables.
4. Mascarilla o tapabocas.
5. Gafas de protección.
6. Toalla pequeña.
7. Muestra solicitada.
8. Portaobjetos.
9. Papel absorbente.
10. Guías de laboratorio previamente estudiadas.
11. Folder. Tema y # de la práctica a desarrollar, objetivos, materiales, procedimiento, resultados (Dibujos), conclusión personal y desarrollo de talleres.
12. Lápiz, borrador, sacapuntas, calculadora.



## **PRÁCTICA NUMERO 1**

### **TOMA DE MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS PRINCIPALES INFECCIONES EN MICROBIOLOGÍA**

#### **I. INTRODUCCIÓN**

##### **A. IMPORTANCIA DE LA RECOLECCIÓN Y TOMA DE MUESTRAS**

En términos de la efectividad en el trabajo que se realiza en el laboratorio de microbiología, nada es más importante que la apropiada selección, recolección y el transporte de una muestra clínica. Cuando la recolección y el manejo de las muestras clínicas no son prioridades, el aporte que puede realizar el laboratorio, al diagnóstico y al bienestar general del paciente, es verdaderamente pobre. Por consiguiente, tanto el personal del laboratorio así como el personal médico involucrados en el manejo de las muestras clínicas, deben entender la importancia de mantener la calidad de la muestra a través de todo su procesamiento, incluyendo la recolección inicial. En este proceso, sin embargo, es responsabilidad de la dirección del laboratorio establecer los lineamientos para la selección, la recolección, el transporte y el almacenamiento de muestras clínicas, además de poner a disposición esta información a todo el personal médico, el cual debe incluir criterios específicos con respecto a normas de bioseguridad, selección y recolección, transporte, almacenamiento y recepción en el laboratorio, rotulación y aceptabilidad de las muestras clínicas (3).

##### **B. SITIOS Y TIPOS DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS**

###### **Cavidad oro faríngea**

- El paciente debe abstenerse de cepillarse los dientes o usar bactericidas.
- Visualizar correctamente el área de la toma de muestras (utilizar linterna o lámpara) usando baja lenguas para evitar contaminación con saliva.
- En caso de muestras tomadas de la cavidad oral pasar varias veces y vigorosamente el escobillón por las paredes orales o de cualquier zona





ulcerativa, exudativa o encapsulada que se observe. La muestra se coloca en medio de transporte (Stuart o Cary Blair) hasta ser procesada.

- Tomar dos escobillones con muestras para siembras en medios de cultivo y guardar otro escobillón en tubo con solución salina 0.85% estéril.
- Disponer de la muestra tomada con los escobillones para exámenes directos (frotis y extendidos en láminas para coloración de gram).
- Se recomienda identificar y marcar todo.

### **Cavidad nasal**

- Debe recolectarse siempre material de ambas fosas nasales (con escobillones diferentes) por separado a menos que el médico desee estudiar una fosa nasal específica y, antes de introducir, colocar un poco de solución salina estéril en el escobillón.
- Seguir las recomendaciones que para la cavidad oral y faríngea se proponen.

### **Oído**

- Si se trata de secreción (otorrea), recolectar con escobillones estériles la muestra. Si existe perforación de la membrana timpánica, el médico especialista utilizará catéter para su recolección.
- Seguir las mismas recomendaciones proporcionadas para muestras oro nasofaríngeas.
- Para muestras de hongos humedecer el escobillón en agua destilada o solución salina estéril, introducir el escobillón en el conducto auditivo externo frotando siempre la región afectada, exprimir delicadamente la punta del escobillón sobre una lámina de vidrio estéril y procesar antes de dos horas.

### **Ojo**

- Los procesos infecciosos en ojos incluyen la mayoría de los casos de conjuntivitis, blefaritis, úlceras de córnea y orzuelos.
- Si la muestra es escasa, no use escobillón, sino asa bacteriológica estéril.
- En casos de úlceras de córnea, el oftalmólogo tomará la muestra ya que el procedimiento correcto es un raspado de córnea con bisturí.
- Colocar la muestra en tubo de vidrio estéril con tapa que contenga solución salina.
- Realizar extendidos en portaobjetos para ser coloreados.
- Realizar las siembras inmediatamente en medios de cultivo seccionados y en caso de remisión valerse de medios de transporte.
- Procesar antes de dos horas.

### **Sangre (Hemocultivos)**

- Interrogar al paciente si se encuentra bajo tratamiento antibiótico (consignar esa información).



- Seleccionar la zona que será puncionada para extracción de sangre (vena palpable).
- Desinfectar alrededor de la zona seleccionada con agua y jabón, remover el desinfectante.
- Aplicar con gasa o algodón, una solución de yodo sobre la piel durante 3 a 5 minutos y remover completamente la solución de yodo con gasa o algodones estériles impregnados con alcohol de 70°.
  
- Realizar este procedimiento en forma concéntrica y descartar el algodón una vez se llega a la periferia (Repetir por 5 veces).
- No tocar la piel con la mano una vez desinfectada.
- Una vez concluida la toma de muestra, reemplazar la aguja con la que se hizo la punción, por una aguja nueva estéril, con la cual se inyectará la muestra de sangre obtenida en los recipientes, colocando la cantidad necesaria, previa limpieza y desinfección, en la zona de punción de la tapa de este.
- Mezclar cuidadosamente, no agitar bruscamente, procurando que la muestra impregne todas las superficies internas del recipiente.

### **Orina (Urocultivo)**

- Limpiar la región periuretral (extremidad del pene, labios y vulva) por medio de dos lavados sucesivos con agua y jabón o un detergente liviano, enjuagando muy bien con agua esterilizada mientras se mantiene retraído el prepucio o los pliegues de la vagina.
- Limpiar la uretra dejando pasar la primera parte de la micción, lo cual se desecha, recoger directamente en un frasco estéril la orina que se emite a continuación. (Guardar en la nevera si no va a ser procesada inmediatamente por un tiempo no mayor de 6 horas).
- La muestra se usa para parcial de orina y cultivo de microorganismos.
- En niños se usa el recolector pediátrico estéril, si no es posible recolectar orina en los siguientes 45 minutos colocar una nueva.
- La toma de muestra también se hace por punción suprapúbica de la vejiga, a través de la pared abdominal con aguja y jeringa estériles (asegurarse que la vejiga esté llena).
- El uso de catéteres (sonda de Foley) también es otra forma para la obtención de la muestra.
- El bacilo de Koch se investiga también en orina (BK de orina), se utiliza frasco estéril de boca ancha y tapa, recolectando 3 muestras seriadas de la primera orina de la mañana, recolectando la primera parte de la micción hasta llenar el frasco. No procesar después de 12-24 horas.

### **Líquido cefalorraquídeo**



- Procedimiento que realiza exclusivamente el personal de medicina con experiencia suficiente.
- Recolectarse en condiciones de total asepsia
- Se requieren de 5 a 10 mililitros, los cuales deberán colocarse en frascos de vidrio estériles por duplicado (Uno para estudios microbiológicos y otro para estudios Citoquímico)
- No se debe refrigerar, ya que se procesa inmediatamente.

### **Espuito**

- Hacer gárgaras con agua destilada estéril o solución salina estéril.
- Expectorar y depositar la muestra en un recipiente estéril de boca ancha. Si no fuera posible obtener una verdadera expectoración entonces: colocar sobre la cama 2 almohadas y recostarse colocando el abdomen sobre ellas con la cabeza colgada, aspirar aire suficiente, levantar el tronco lo más que se pueda y regresar bruscamente a la posición anterior.
- Depositar en recipiente estéril la expectoración y ojalá sea la primera de la mañana para evitar partículas de alimentos.
- Para la búsqueda de Bacilos ácido-alcohol resistentes puede usarse el contenido de jugo gástrico o duodenal, la muestra se recoge por sonda nasogástrica en condiciones estériles, depositando el material obtenido en recipientes estériles.

### **Biopsias**

- El material de biopsias será proporcionado por el médico especialista.
- La muestra debe conservarse en solución salina estéril (nunca en formol) y enviada a laboratorio en recipiente de vidrio estéril con tapa, o caja de Petri estéril.
- Los cortes deben hacerse con cuidadosa atención sobre todo aquellos usados para coloraciones valiéndose de las técnicas asépticas.
- Procesar antes de dos horas.

### **Abscesos**

- Puncionar el absceso con aguja y jeringa estériles.
- Si se ha reventado previamente, recolectar el material purulento valiéndose de espátula o asa bacteriológica.
- Colocar el material en recipiente de vidrio estéril con tapa o dejarlo en la jeringa y colocar un tapón de caucho en la aguja para evitar la entrada de aire o contaminación en caso de remisión.
- Realizar los extendidos para las coloraciones.
- Procesar antes de dos horas.



Entidad Clínica	Tipo(s) de Muestra	Condiciones principales de la toma de muestra	Exámenes que se solicitan	Interpretación
Bronquitis aguda, Bronquiolitis y neumonía	Espuito, LBA y Muestras con cepillo protegido	La muestra se toma por Inducción o espontanea  Se toma esputo (menos de 10 cel. epiteliales y más de 25 Leucocitos por campo)	Gram de Espuito  BAAR: Micobacterias  Cultivo  Panel respiratorio	Gram Espuito: Bacterias Microbiota  Cultivo esputo: Microorganismo predominante  Cultivo LBA: 10.000 UFC  Cultivo muestra con cepillo protegido:1000 UFC
Infección del tracto Urinario (ITU)	Orina tomada por: Chorro medio, sonda vesical y aspiración suprapuvica	Lavado de genitales, mismo día menos de 4 horas, refrigeración no más de 24 horas, sucias o contaminadas con materia fecal.	Parcial de Orina  Cultivo y antibiograma	Urianálisis: Píocitos, Leucocitos, bacterias, proteínas y sangre.  Urocultivo: 100.000 UFC para gram negativos (Enterobacterias)  < 100.000 UFC para gram (+) y hongos  50.000 UFC muestras sonda  Punción suprapubica: cualquier cantidad
Bacteriemia	Sangre para Hemocultivos	Antisepsia de la piel  Flebotomía  Número de hemocultivos  Momento toma muestras: una hora antes y después del pico febril.	Hemocultivo	Resultados positivos: Más de un hemocultivo positivo, mismo patógeno en 2 sitios diferentes  Caso <i>S. epidermidis</i> : Hemocultivos



		<p>Tiempo incubación: No más de 7 días (Equipos no más de 5 días, para Micobacterias 4 semanas)</p> <p>Procesar de inmediato o no más de 2 horas.</p> <p>Rechazo: Poca cantidad muestra o un solo hemocultivo.</p>		<p>múltiples, catéter, prótesis o inmunosuprimidos.</p>
Meningitis Bacteriana	Líquido cefalorraquídeo	<p>Examen fondo de ojo, descartar hipertensión intracraneana.</p> <p>5-10 ml dos frascos seco estéril, no más de 30min, no refrigeración.</p>	<p>Citoquímico de LCR, Gram de LCR, Cultivo y Antibiograma de LCR, Antígenos bacterianos, VDRL en LCR</p>	<p>Citoquímico de LCR: GB, Proteínas y glucosa</p> <p>Gram de LCR: Cocobacilos gram(-) o cocos (+)</p> <p>Cultivo y Antibiograma de LCR</p> <p>Antígenos bacterianos LCR: Indicado en coloración de gram negativa y paciente con antibioticoterapia</p> <p>Hemocultivos en aerobios: Negativo 4-6 días y confirma diseminación hematógena.</p> <p>VDRL en LCR: Neurosífilis</p>

## II. OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL.

- ✓ Identificar cuáles son las zonas del cuerpo donde existe flora normal y reconocer la importancia de la toma de muestras para el diagnóstico de las infecciones en Microbiología.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar el cultivo tomando muestras de diferentes lugares, sembrando en Agar sangre y verificando su crecimiento a las 24 horas.



### **III. MATERIALES Y EQUIPOS**

Solución salina estéril 0.85%, Escobillones estériles, Agar sangre, Agar manitol, Asas bacteriológicas, Mecheros, Baja lenguas.

### **IV. MUESTRAS**

Muestras de estudiantes de garganta, cavidad nasal, oído.

### **V. PROCEDIMIENTOS GENERALES**

- Seguir los procedimientos para la toma de muestras según el sitio acordado.
- Encender el mechero.
- Abrir los medios de cultivo y colocar la muestra en una parte del Agar sangre y manitol.
- Sembrar respectivamente en Agar sangre y manitol por estriación.
- Marcar los medios de cultivo con nombre del paciente, lugar de toma de muestra, fecha de siembra y hora.
- Incubar por 24 hr a 37°C.
- Revisar los diferentes tipos de hemolisis que se evidencian en el Agar sangre.

### **VI. TALLER DE LABORATORIO:**

- ¿Cuáles son las áreas de flora normal en el ser humano y por qué considera importante tenerlas en cuenta en la toma de muestras?
- Con base en las indicaciones dadas para la toma de muestras en los sitios anteriormente estudiados. Enumere los principales errores que se cometen al tomarlas.
- ¿Cuáles son los criterios de rechazo para las muestras microbiológicas?

### **VII. INFORME DE LABORATORIO PARA ENTREGAR AL DOCENTE**

- Evidencie con fotografías los medios de cultivo sólido en los que hubo crecimiento y en cuáles no.
- Debajo de cada fotografía explique por qué hubo crecimiento o no, considerando dos aspectos importantes: las características de esterilidad del área donde se toma la muestra, los tipos de hemolisis que se evidencian en el Agar sangre, y explique cuál es la interpretación que tiene esto, lo mismo que las características de selección y diferenciación de los medios usados.
- Nota: El informe sólo llevará las imágenes, su respectivo análisis.
- Debe ser entregado al Docente.



## PRÁCTICA NÚMERO 2

### DIAGNÓSTICO DE LAS PRINCIPALES INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL (ITS)

#### I. INTRODUCCIÓN

Se han visto en la actualidad importantes logros en la tarea de mejorar la respuesta a las ITS, aunque es una realidad que desde sus inicios no había una respuesta inmunológica importante por lo que se presentaban muchas recurrencias. Por ejemplo, se observa una disminución apreciable de la incidencia de *Haemophilus ducreyi* (chancroide) en las tasas de sífilis de la población en general y en algunas secuelas de estas infecciones, entre ellas la conjuntivitis neonatal. El aumento del número de embarazadas a las que se ha realizado la prueba de detección de la sífilis y de la infección por VIH, junto con un mayor acceso a los tratamientos adecuados, ha ayudado a reforzar la viabilidad de la doble eliminación de la transmisión de madre a hijo de la infección por el VIH y de la sífilis. Asimismo, ya se ha demostrado que un mayor acceso a la vacunación contra el virus del papiloma humano reduce las lesiones precancerosas del cuello uterino y las verrugas genitales. La aceleración de la respuesta mundial contribuirá a mantener y consolidar estos logros, al tiempo que generará nuevos resultados satisfactorios en la gestión y reducción de las ITS (4).

#### A. RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS

##### EXUDADO VAGINAL

La paciente no debe tomar antibióticos, ni utilizar soluciones antisépticas vaginales, óvulos ni pomadas en los días previos a la recolección de la muestra. No debe mantener relaciones sexuales 48 horas antes de la toma de muestra.

- Con la paciente en posición ginecológica se introducirá un espéculo “sin lubricante” (si fuera necesario lubricar, utilizar solo agua tibia)
- Recoger la muestra, bajo visión directa, con un hisopo del fondo del saco vaginal posterior.
- Repetir la operación con un segundo hisopo.



- Recoger con la pipeta una muestra de fondo de saco y descargar en el tubo con suero fisiológico.
- Se obtendrán dos hisopos, uno destinado al estudio microscópico y otro al cultivo.
- La muestra en Solución salina 0.85% se destinará al examen en fresco para investigación de *Trichomonas vaginalis*.

### **EXUDADO URETRAL**

Se utiliza para el diagnóstico etiológico en casos de síndrome uretral aguda en la mujer, después que se han descartado otras causas. Las etiologías a investigar son *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*.

- Limpiar cuidadosamente la mucosa circundante con gasas estériles.
- Introducir el hisopo suavemente con un movimiento de rotación hasta penetrar unos 2 cm dentro de la uretra (3-4 cm para la investigación de *Chlamydia trachomatis*) Repetir operación con un segundo hisopo.
- Realizar frotis para el examen directo.
- Cuando no haya suficiente exudado, puede estimularse mediante un masaje suave de la uretra contra la sínfisis del pubis, a través de la vagina.
- Deberán enviarse dos hisopos, uno para el examen directo y otro para el cultivo.
- Se procesarán siempre que se pueda antes de las 3 horas, y como máximo en un plazo de 6-12 horas.
- La muestra ha de recogerse preferentemente antes de la primera micción de la mañana, si no es posible, se deberá esperar al menos una hora tras la última micción para recogerla.

### **EXUDADO RECTAL**

- Introducir el hisopo suavemente a través del esfínter anal.
- Rotar contra las criptas rectales, dejar 10-30 segundos para que se absorban los microorganismos y extraer.
- Se intentará evitar el contacto con materia fecal.
- Cuando el hisopo salga manchado de heces, deberá tomarse una nueva muestra.
- Basta con un solo hisopo para cultivo, dado que la visión microscópica no es representativa.
- El envío de la muestra debe ser inmediato siempre que sea posible. Cuando la muestra no pueda procesarse antes de 15 minutos, deberán emplearse hisopos con medio de transporte, que se mantendrán en estufa a 35-37°C hasta su procesamiento.





## **B. MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO EXAMEN MICROSCÓPICO DIRECTO Y CULTIVOS**

Puede hacerse por medio de tinciones como la tinción de gram o la preparación en fresco con solución salina o KOH 10%.

- La coloración de Gram se usa para detectar especialmente la presencia de diplococos intracelulares gram negativos que indican gonorrea. La presencia de células guía o clave (células epiteliales desprendidas cubiertas por bacilos y cocobacilos gram variables) en la tinción de gram está asociada con *Gardnerella vaginalis* y es uno de los criterios importantes en el diagnóstico de vaginosis bacteriana.
- El examen en fresco de solución salina de muestras vaginales es útil en la identificación de *Trichomonas vaginalis* y puede identificar las pseudohifas de las levaduras.
- El agregado de KOH al 10% cumple dos funciones mejorar la visualización de hongos y sirve para evidenciar el olor amoniacal en el diagnóstico de vaginosis.
- El cultivo es importante teniendo en cuenta que muchas veces el diagnóstico no puede hacerse por examen microscópico directo y los agares usados son agar sangre (levaduras y streptococos), agar EMB (gérmenes gram negativos) y agar chocolate para aislamiento de *Neisserias* y *Haemophilos*.

## **II. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- ✓ Identificar cuáles son las pruebas diagnósticas más importantes para la detección de infecciones de transmisión sexual.

### **OBJETIVO ESPECÍFICO**

- ✓ Reconocer la importancia de la toma de muestra en los estudios diagnósticos para las infecciones de transmisión sexual.

## **III. MATERIALES Y EQUIPOS**



Microscopios, Tubos con solución salina 0.85%, Placas portaobjetos, Cubreobjetos, Escobillones estériles, Agitador mecánico, Cinta de pH, Reactivo KOH al 10%, Medios de cultivo, EMB, Agar sangre y Agar chocolate.

#### **IV. MUESTRAS**

Gram de secreción vaginal, y muestras en fresco de secreciones vaginales.

#### **V. PROCEDIMIENTOS GENERALES**

##### **EXAMEN MICROSCÓPICO DIRECTO**

- Observar al microscopio preparaciones de Gram de secreciones vaginales con objetivo de inmersión (100x).
- Observar al microscopio preparaciones en fresco de secreciones vaginales con objetivo de 40X.

##### **VI. TALLER DE LABORATORIO:**

- Identificar los tipos de muestras microbiológicas que se utilizan para evidenciar una infección de transmisión sexual.
- Realizar un cuadro donde identifique las condiciones que debe tener la muestra para realizar su montaje e interpretación clínica. Enumere los principales errores que se cometen al tomarlas.
- ¿Cuáles son los criterios de rechazo para las muestras microbiológicas? Mencione las condiciones de la muestra para el montaje de la técnica.

##### **VII. INFORME DE LABORATORIO PARA ENTREGAR AL DOCENTE**

- Evidencie con fotografías los pasos para la realización de una prueba Diagnóstica en una infección de Transmisión sexual.
- Identifique de acuerdo a los signos y síntomas del paciente, las consideraciones que se deben tener en cuenta para elegir a una persona en este tipo de infección.
- Nota: El informe debe ser entregado al docente con su respectivo análisis e interpretación.



## PRÁCTICA NÚMERO 3 DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO DE LAS PRINCIPALES INFECCIONES EN MICROBIOLOGÍA

### I. INTRODUCCIÓN

Las pruebas inmunológicas usan los siguientes componentes:

- **Antígeno** para detectar anticuerpos contra un patógeno en una muestra del paciente.
- **Anticuerpo** para detectar un antígeno del patógeno en una muestra del paciente.

El procesamiento de las muestras varía, pero si es necesario retrasar el análisis, deben refrigerarse o congelarse para impedir la proliferación de contaminantes bacterianos.

Dentro de las pruebas infecciosas más relevantes tenemos:

#### ➤ **Pruebas de aglutinación**

En las pruebas de aglutinación (p. ej., aglutinación con látex, coagregación), una partícula (cuenta de látex, bacteria) se acopla con un reactivo antigénico o un anticuerpo. La partícula compleja formada se mezcla con la muestra (como LCR o suero); si el anticuerpo o el antígeno buscados están presentes en la muestra, producirán el entrecruzamiento de las partículas, lo que se observa como una aglutinación.

- Si los resultados son positivos, se realizan diluciones seriadas de la muestra y se prueban nuevamente. La aglutinación de las soluciones más diluidas
- Indica que existen mayores concentraciones del anticuerpo o del antígeno en estudio. El título se informa como la recíproca de la solución más diluida que produce aglutinación; p. ej., un título de 32 indica que la aglutinación se observa hasta la dilución 1/32 de la concentración inicial.
- Observación: Generalmente, las pruebas de aglutinación son rápidas pero menos sensibles que muchos otros métodos. También permiten determinar los serotipos de algunas bacterias.



➤ **Fijación del complemento**

- Esta prueba mide la cantidad de anticuerpos consumidores de complemento (o que lo fijan) de una muestra de suero o LCR. Se usa para el diagnóstico de algunas infecciones virales o micóticas, especialmente para la coccidioidomicosis.
- La muestra se incuba con cantidades conocidas de complemento y del antígeno que es el blanco del anticuerpo en estudio. El grado de fijación del complemento indica la cantidad relativa de anticuerpos en la muestra.

- La prueba permite medir los títulos de anticuerpos IgM e IgG, o puede modificarse para detectar determinados antígenos. Es precisa, pero tiene aplicaciones limitadas, es laboriosa y requiere muchos controles.

➤ **Enzimoimmunoensayos**

- Estas pruebas utilizan anticuerpos unidos a enzimas para detectar antígenos, y para detectar y cuantificar anticuerpos. Entre ellas se encuentran el enzimoimmunoanálisis (EIA) y el enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA).
- Como la sensibilidad de la mayoría de los inmunoensayos es elevada, suele utilizárselos con fines de rastreo o cribado. Pueden determinarse los títulos mediante la dilución seriada de las muestras, como en los ensayos de aglutinación.
- Las sensibilidades de estas pruebas, aunque suelen ser bastante elevadas, pueden variar de acuerdo con la edad del paciente, el serotipo del microorganismo o el estadio clínico de la enfermedad.

➤ **Pruebas de precipitación**

- Estas pruebas miden la cantidad de antígeno o de anticuerpo en los líquidos corporales a partir del grado de precipitación visible de complejos de antígeno-anticuerpo dentro de un gel de agarosa o en solución. Hay muchos tipos de pruebas de precipitación (p. ej., doble difusión de contrainmunolectroforesis), pero sus aplicaciones son limitadas.
- En general, una muestra de sangre se mezcla con un antígeno de prueba para detectar los anticuerpos del paciente, en general cuando se sospecha una infección micótica o una meningitis piógena. Para obtener un resultado positivo, se requiere una gran cantidad de anticuerpo o de antígeno, y por ello la sensibilidad es baja.



### ➤ Prueba de inmunotransferencia de Western

- Esta prueba detecta anticuerpos contra el microorganismo en una muestra del paciente (que puede ser suero u otro líquido corporal) mediante su reacción con antígenos blanco (p. ej., componentes virales) que se hallan inmovilizados en una membrana mediante electrotransferencia.
- La inmunotransferencia de Western suele tener una buena sensibilidad, aunque menor a la de las pruebas de cribado como el ELISA y, generalmente, su especificidad es elevada. Por ello, suele utilizársela para confirmar un resultado positivo obtenido con una prueba de cribado.

Las modificaciones técnicas del procedimiento de Western Blot son

- El inmunoensayo lineal (LIA).
- Ensayo de inmunotransferencia recombinante (RIBA), que utiliza antígenos sintéticos o recombinantes.
- Los ensayos de inmunocromatografía, que pueden evaluar rápidamente las muestras para detectar los antígenos microbianos específicos o los anticuerpos del paciente.

De los tres, el ensayo inmunocromatográfico es el más fácil de hacer, y el que se utiliza con mayor frecuencia, p. ej., para detectar los microorganismos productores de shigatoxina, el antígeno capsular de *Cryptococcus neoformans* y el virus de la influenza.

### ✓ EXAMEN DE LESIONES VESICULOSAS Y ÚLCERAS GENITALES

Generalmente las vesículas son causadas por virus y el más común de todos ellos es el herpes simple. El material de la base de la vesícula puede ser extendido en un portaobjeto y observado, buscando células gigantes multinucleadas producidas por la lesión herpética.

El diagnóstico de granuloma inguinal se realiza por la tinción de un trozo de tejido tomado del borde de la úlcera, identificando los cuerpos de donovan. (bacilos con tinción bipolar dentro de macrófagos). En general estas muestras son examinadas por citólogos o patólogos.

En otros casos las infecciones son identificadas desde la impresión clínica obtenida de la lesión

Para el caso de los chancros sifilíticos y blando, limpiar con gasa y solución salina estéril el área de la lesión; no usar jabones ni antisépticos por su acción bactericidas sobre la



espiroqueta; secar el área de la lesión; raspar cuidadosamente el interior, procurando que sangre ligeramente, con otra gasa limpiar las primeras gotas de sangre hasta que se aprecie un exudado claro, sin sangre; obtener el exudado de la parte más interna con un tubo capilar estéril; colocar el material entre lámina y laminilla para la observación en microscopio de campo oscuro. (Se recomienda en lesiones sifílicas ubicadas en membranas mucosas como boca y ano).

### **PRUEBAS INMUNOLÓGICAS**

Dado que, por ejemplo, en el caso del *Treponema pallidum*, el microorganismo no puede ser cultivado en los laboratorios de rutina, el diagnóstico de sífilis debe hacerse en la identificación de la lesión (Chancro sifilítico) o en la detección de anticuerpos contra el

*Treponema*. Las pruebas serológicas clásicas miden dos tipos de anticuerpos : treponémicos y no treponémicos o reaginas.

- Los anticuerpos treponémicos están dirigidos contra los antígenos propios del microorganismo. Estas pruebas incluyen la FTA-ABS (anticuerpo treponémico fluorescente con suero absorbido).
- Los anticuerpos no treponémicos o reaginas son producidos por pacientes infectados contra componentes de su propio organismo o de otros mamíferos (lecitina, cardiolipina y colesterol). Estos anticuerpos aunque casi siempre son producidos por pacientes con sífilis también se encuentran en pacientes con lepra, tuberculosis, chancro duro, paludismo etc. Las pruebas no treponémicas incluyen VDRL (venereal disease Research Laboratories) y RPR (reagina plasmática rápida)
- La prueba de VIH y *Chlamydia trachomatis* actualmente se puede hacer con las pruebas de ELISA para detectar los anticuerpos y antígenos respectivamente.

## **II. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Identificar las pruebas inmunológicas importantes para detectar la presencia de antígenos y anticuerpos presentes en un paciente y destacar la importancia clínica.

### **OBJETIVO ESPECÍFICO**

- Conocer las pruebas inmunológicas más importantes para el diagnóstico de las principales infecciones en microbiología.

## **III. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS**



Microscopios, Tubos con solución salina 0.85%, Placas portaobjetos, Cubreobjetos, Escobillones estériles, Placas para leer VDRL, Agitador mecánico, Cinta de pH, Reactivo de VDRL. Casete para suero positivo VIH.

#### **IV. MUESTRAS**

- ✓ Gram de secreción vaginal, muestras en fresco de secreciones vaginales, suero sanguíneo positivo para sífilis. Para observar la reactividad del suero del paciente.
- ✓ Suero positivo para VIH, para la prueba.

#### **V. PROCEDIMIENTOS GENERALES**

##### **EXAMEN MICROSCÓPICO DIRECTO**

- Observar al microscopio preparaciones de Gram de secreciones vaginales con objetivo de inmersión(100x)
- Observar al microscopio preparaciones en fresco de secreciones vaginales con objetivo de 40X

##### **PRUEBAS SEROLÓGICAS**

- Colocar 50 ul de la muestra a ensayar y una gota de control en círculos separados de la lámina.
- Agregar una gota de suspensión del antígeno sobre cada uno de los sueros
- Rotar la lámina durante 4 minutos en agitador mecánico a 180 r.p.m.
- Observar en el microscopio en 10X
- Colocar 50 ul en el pozo del casete de la muestra para VIH a ensayar y esperar 5 minutos para la reacción.

#### **VI. TALLER DE LABORATORIO PARA ENTREGAR AL DOCENTE**

- Haga un cuadro en el que relacione I.T.S, agentes etiológicos y diagnóstico.
- En un cuadro relacione sensibilidad de las pruebas para el diagnóstico serológico de sífilis (VDRL, RPR, FTA-ABS) con los periodos primario, secundario y tardío de la enfermedad.
- ¿Cuáles son los criterios para el diagnóstico de vaginosis bacteriana? Explique
- Diga cómo aparece el reporte de la coloración de Gram para un paciente con Gonorrea (Hombres y mujeres).



- Defina qué es una uretritis no gonocócica y cuáles son los posibles agentes asociados a este tipo de infección

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Murray P. Microbiología Medica. Septima ed. Delgado A, editor. Barcelona: Elsevier; 2014.
2. Organización Mundial de la salud. Estrategia Mundial del Sector Salud contra las Infecciones de transmisión sexual 2016-2021. Ginebra: OMS, Salud Publica; 2016.
3. Suardíaz J, Cruz C, Colina A. Laboratorio Clínico Ferrer M, editor. La Habana: Ciencias Médicas; 2004.
4. Rojas N, Chavez E, Garcia F. Bacteriología Diagnostica. Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología; 2006.





# CORPORACIÓN UNIVERSITARIA RAFAEL NÚÑEZ

## Campus Cartagena

Centro Comercial Pasaje de la Moneda  
Cra. 8B #8-56  
Tel. 6517088 Ext 1202

## Campus Barranquilla

Cra 54 #66-54  
Tel. (5) 3602197 Ext 110

[www.curn.edu.co](http://www.curn.edu.co)

Institución Universitaria | Vigilada Mineducación  
Reconocimiento personería jurídica: Resolución 6644 del 5 de junio de 1985 Mineducación.

