



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

Av. Dr. Manuel Nava No. 6, Edificio M-101. Tel: 8-26-23-00 ext. 6591  
San Luis Potosí, S.L.P., México.



BACTERIOLOGÍA CLÍNICA

MANUAL DE



LABORATORIO

Alumno(a): \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

Maestro(a): \_\_\_\_\_

2018 - 2019

*Aprobado por el H. Consejo Técnico Consultivo. 20 de septiembre de 2013*

**MANUAL ELABORADO POR:**

*ME. Juana Tovar Oviedo*

*Dr. Fidel Martínez Gutiérrez*

**COLABORADORES:**

*Dra. María Eugenia Torre Bouscoulet*

*QFB. Gloria Alejandra Martínez Tovar*

*QFB. Andrés Flores Santos*

*2018 - 2019*



## PRÁCTICA 3

### EXUDADO FARINGEO

#### REQUISITOS TEÓRICOS

El alumno debe conocer:

1. Biota normal y patógena de orofarínge.
2. Toma, manejo y transporte del exudado faríngeo.
3. Generalidades, patogenia y clasificación de los estreptococos.
4. Fundamentos de las pruebas de identificación (Catalasa y oxidasa, bacitracina, optoquina, y CAMP).

#### OBJETIVOS GENERALES

- Que el alumno sea capaz de tomar y cultivar un exudado faríngeo.
- Que el alumno a través del cultivo logre identificar las colonias sugestivas de *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A y otros estreptococos de Lancefield.

#### OBJETIVOS PARTICULARES

- El alumno comprobará con la tinción de Gram la forma y disposición de los estreptococos, así mismo conocerá la biota normal de orofarínge.
- Desarrollará la capacidad para aplicar pruebas de identificación de los estreptococos con base al tipo de hemólisis que presente la colonia.

#### INTRODUCCIÓN

Las molestias en la garganta son uno de los problemas más frecuentes de la práctica médica. De acuerdo a la IDSA las fuentes de infección de las vías respiratorias altas suelen ser de origen odontogénico, orofaríngeo o exógeno. Por lo que, el principal problema en el diagnóstico de la faringitis es determinar la presencia o ausencia en el cultivo de orofarínge de estreptococos del grupo A de Lancefield, que causan fiebre superior a 38.4 °C. En el caso de un cultivo negativo para alguno de estos agentes, el diagnóstico diferencial es una faringitis de origen no estreptocócico que generalmente se supone vírico (más del 80% de las faringoamigdalitis son de origen viral).

La faringitis aguda generalmente se describe como la aparición de dolor a nivel de la garganta, fiebre e inflamación de la faringe caracterizado por eritema y edema, aunque también pueden existir exudados, vesículas o úlceras.

La mayoría de los casos de faringitis aguda están causados por infecciones víricas frecuentes y son procesos autolimitados benignos. Reconocer correctamente a los

pacientes con infecciones más complicadas que requieren pruebas diagnósticas y tratamiento es uno de los desafíos de la medicina primaria.

*Streptococcus pyogenes*, estreptococo beta hemolítico del grupo A, es la etiología bacteriana más importante en los casos de faringitis aguda debido a la asociación entre este agente y la fiebre reumática aguda, así como de laringitis y faringoamigdalitis. El inicio suele ser súbito, con fiebre, odinofagia, cefalea, malestar general y dolor abdominal. La porción posterior de la faringe suele estar inflamada y tumefacta, y se puede presentar un exudado blanco grisáceo sobre las amígdalas. Los ganglios linfáticos cervicales anteriores habitualmente son dolorosos a la palpación y están tumefactos.

El *Streptococcus pyogenes* es responsable de alrededor del 10-15% de los casos de faringitis en los adultos y del 15-30% de los casos en los niños; y su prevalencia está influenciada por la edad del paciente y el entorno en el que se realiza la consulta.

Además de la faringitis, los estreptococos beta hemolíticos del grupo A causan distintas infecciones cutáneas superficiales, entre ellas impétigo, erisipela, celulitis, sepsis puerperal e infecciones posparto.

Considerando al *Streptococcus pyogenes* beta hemolítico del grupo "A" como el principal agente etiológico de la laringitis y faringoamigdalitis bacteriana nos enfocaremos en las características de agrupamiento mediante la morfología a través de tinción de Gram, así como su fisiología y la clasificación con base al tipo de hemólisis que presente en cultivos de agar sangre de carnero al 5% y a sus propiedades bioquímicas, que se muestran en el diagrama 1. Identificación para estreptococos.

Los estreptococos del grupo "A" de Lancefield pertenecen a la familia *Streptococaceae*, son aerobios y anaerobios facultativos; catalasa negativa, oxidasa negativa y el crecimiento de ciertas variedades de estreptococos se acentúa al aumentar la tensión de CO<sub>2</sub> del 8 -10%. Algunos estreptococos forman cápsula, que está formada por ácido hialurónico como es el caso del *Streptococcus pyogenes*.

Al ser observados con el microscopio, en preparados con tinción de Gram, aparecen como cocos, Gram positivos dispuestos en cadenas largas, son células esféricas su diámetro oscila entre 0.8 -1.0 µm. En cultivo realizado en agar sangre de carnero al 5% (ASC), muestran un crecimiento óptimo a las 24 horas de incubación observándose colonias blancas o grises de 1-2 mm rodeadas de una zona de β-hemólisis completa, con bordes delimitados y levemente granulares.

El diagnóstico de las infecciones agudas de vías respiratorias en el laboratorio puede variar desde el uso de cultivo bacteriológico hasta el uso de técnicas de inmunoensayo, incluyendo ELISA, radioinmunoensayo, coaglutinación, etc.

Material: hisopos estériles y abatelenguas.

Reactivo: peróxido de hidrógeno: al 3%.  
Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.  
Sensidiscos de: Bacitracina 0.04 UI y SXT (Trimetoprim/Sulfametoxazol).  
Medios de cultivo: Agar sangre al 5%.

## DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

### 1ª. SESIÓN

#### Toma de Muestra.

#### CUIDADOS Y RECOMENDACIONES PREVIOS A LA TOMA DE MUESTRA:

1.- El paciente no debe asearse la boca y no debe ingerir alimentos.

#### TOMA DE MUESTRA DE EXUDADO FARÍNGEO:

- ❖ Explicar al paciente el procedimiento de la toma de muestra, indicándole las posibles molestias que puede llegar a sentir.
- ❖ Se deberá enfocar una luz brillante hacia la cavidad bucal del paciente, por encima del hombro del analista que recolectará la muestra.
- ❖ Pedirle al paciente que incline ligeramente la cabeza hacia atrás, que respire profundo y pronuncie de forma prolongada 'ah'.
- ❖ Presionar la lengua suavemente hacia abajo, con ayuda del abatelenguas; y visualizar las fosas amigdalinas, la faringe posterior y las áreas de inflamación y exudado.
- ❖ Introducir el hisopo estéril en la cavidad bucal hacia las zonas previamente mencionadas (tener cuidado de no tocar dientes, lengua y úvula).
- ❖ Rotar con firmeza el hisopo sobre las áreas localizadas.
- ❖ Retirar el hisopo e inocular de forma inmediata el exudado en una porción de una placa de agar sangre de carnero al 5%; o bien colocarlo en algún medio de transporte adecuado.

#### CULTIVO DE MUESTRA:

- ❖ Una vez inoculado el medio de cultivo (y en área estéril), con ayuda del asa estéril realice la siembra por medio de técnica de agotamiento.

- ❖ Finalmente, en el agar sangre de carnero al 5%, realice dos picaduras, una en la última y una penúltima estría; con la finalidad de observar la hemólisis bajo la superficie del agar.
- ❖ Incube las placas inoculadas a una temperatura de 35 a 37°C durante 18 a 24 horas.
- ❖ El mismo procedimiento, a excepción de las picaduras se sigue para la siembra en agar manitol el cual nos permite la identificación de *Staphylococcus aureus*.

El paciente en esta práctica será su compañero(a) de equipo, al cual deberá manejar con las indicaciones anteriormente citadas.

A continuación se presentan las figuras 1 y 2 que nos muestran la posición en que debemos obtener el espécimen y como observar el aspecto de la orofarínge, anotando en las líneas sí presenta enrojecimiento, inflamación, placas blancas o si los pilares amigdalinos se encuentran atrofiados o hipertróficos.

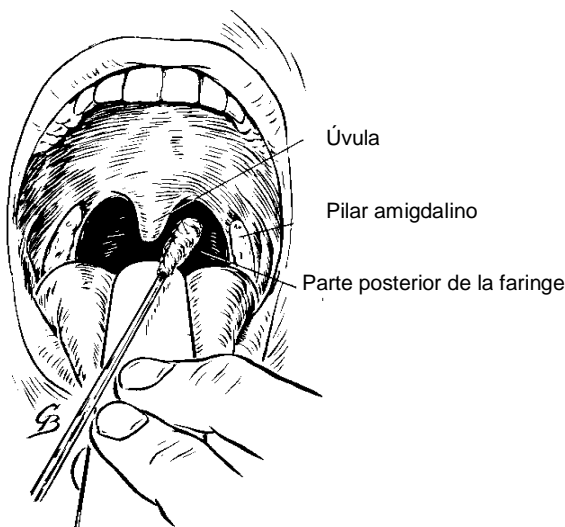


Figura 1. Técnica de la toma de muestra de exudado faríngeo.

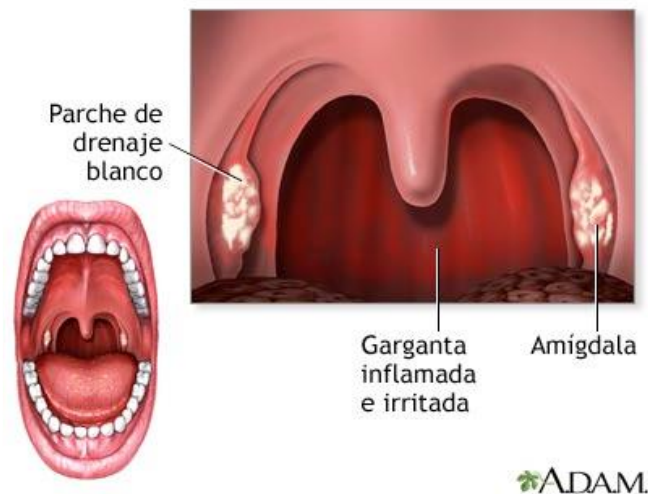


Figura 2. Ilustración de fondo de faringe. Se observa sintomatología debida a faringitis estreptocócica.

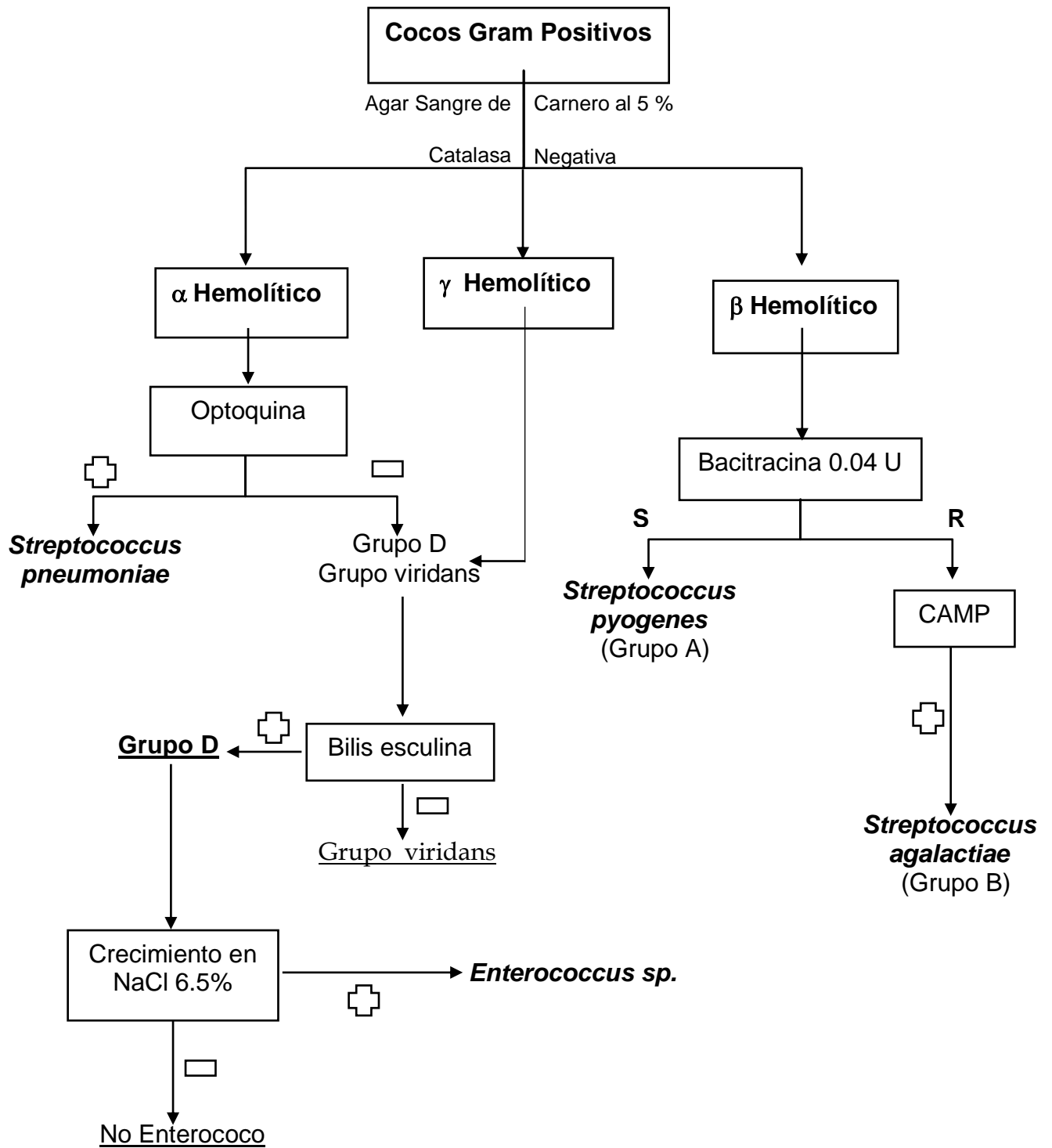
Observaciones:

---

---

---

DIAGRAMA 1. IDENTIFICACIÓN PARA ESTREPTOCOCOS



## **2ª. SESIÓN**

Revisar el desarrollo bacteriano en los diferentes medios de cultivo, observando y seleccionando aquellas colonias sugestivas de microorganismos patógenos de cada uno de los medios.

Realizar tinción de Gram a las colonias seleccionadas y determinar las pruebas de identificación a realizar tales como: catalasa, prueba de bacitracina, de optoquina ó de CAMP.

Streptococos B hemolíticos: Las colonias de la superficie del agar sangre son pequeñas, de menos de 1mm de diámetro, convexas, translúcidas grisáceas, opacas, duras y secas, rodeadas por una zona de hemólisis de 2 mm de diámetro (se observa perfectamente transparente e incolora).

En caso necesario, realizar la prueba de camp y bacitracina.

## **3ª. SESIÓN**

Realizar la Interpretación de los resultados obtenidos a partir de las pruebas de identificación y/o sensibilidad realizadas.

## **4ª. SESIÓN**

Discusión de resultados.





## BIBLIOGRAFÍA

1. Baron, E., Cassel, G., Duffy, L., 1993. **American Society for Microbiology**. Laboratory Diagnosis of Female Genital Tract Infections, CUMITECH. 17A:1-23.
2. Calderón J. 1997. **Aplicación clínica de antibióticos y quimioterápicos**. México.
3. Chusid, M., J., R.W. Perzigian, W. M. 1999. **Guía para el manejo de especímenes clínicos en microbiología**. 2ª. Edición. Ed. ASM PRESS Washington, D.C.
4. Díaz R., Gamazo C y López-Goñi I. 1995. **Manual Práctico de Microbiología**. España: Ed. Masson, S. A.
5. Dunne, W., Nolte F., Wilson M. 1997. **American Society for Mycrobiology**. Blood cultures III. CUMITECH. 1B: 1-21.
6. Jawetz., Melnick y Adelberg. 1998. **Microbiología Médica**. México: Ed. El Manual Moderno.
7. Koneman E., Allen S., Dowell V.R., Janda W., Sommers H y Winn W. 2008. 6ª. Ed. **Diagnóstico microbiológico**. México: Editorial Médica panamericana.
8. MacFadin J. 1984. **Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica**. México: Ed. Médica Panamericana. S.A.
9. Mandell G., Bennett J., Dolin R. 1997. **Enfermedades Infecciosas. Principios y práctica**. Ed. Médica Panamericana. 1214-1228.
10. Murray P., Drew W., Kobayashi G y Thompson J. 2009. **Microbiología Médica**. España: 6ª. Ed. Mosby Year Book.
11. Ponce de León S., Macías E., Molina J y Avila C. 2000. **Guía Práctica Infecciones Intra-Hospitalarias**. Ed. Especial CEFROM: 127-130, 101-114, 115-127.
12. Voet D., Voet J.G. y Pratt C. W. 2007. **Fundamentos de bioquímica, la vida a nivel molecular**. Sección 3-5 paginas 62-65.
13. NOM-007-SSA3-2011. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.
14. NOM-006-SSA2-2013, Para la prevención y control de la tuberculosis

<http://www.cdc.gov/od/ohs>

<http://www.seimc.org/protocolos/>