|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO** | | | | | | | | | |
| **PERÍODO ACADÉMICO** | Noviembre 2020- abril 2020 | | | | | | | | |
| **ASIGNATURA** | **BACTERIOLOGIA** | | | **SEMESTRE: 4** | | | | | **PARALELO: B** |
| **NOMBRE DEL DOCENTE** | **ANA CAROLINA GONZÁLEZ R** | | | | | | | | |
| **FECHA** | **18/12/2020** | | | | | | | | |
| **NÚMERO DE PRÁCTICA** | **2** | | **HORA: 10:00-13:00H** | | | | | **DURACIÓN: 3H** | |
| **NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES.** | **GRUPO 1** | | | | **GRUPO 2** | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
|  | | | |  | | | | |
| **LUGAR DE LA PRÁCTICA** | AULA VIRTUAL | | | | | | | | |
| **TÍTULO DE LA UNIDAD** | BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS | | | | | | | | |
| **TEMA DE LA PRÁCTICA** | Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto respiratorio superior (Exudado faríngeo y secreción nasal) | | | | | | | | |
| **RESULTADO DE APRENDIZAJE.** | | | | | | | | | |
| Diagnostica e identifica las infecciones de bacterias Gram positivas y Gram negativas en órganos y Sistemas. Evalúa la sensibilidad y resistencia bacteriana con la ayuda del antibiograma. | | | | | | | | | |
| **OBJETIVO GENERAL** | Desarrollar la estrategia metodológica para el diagnóstico microbiológico de infecciones del tracto respiratorio superior | | | | | | | | |
| **Objetivos específicos** | 1.-Reconocer los microorganismos de la flora habitual y los principales patógenos del tracto respiratorio superior.  2.-Esquematizar los pasos para la obtención y procesamiento de muestras del tracto respiratorio superior  3.- Obtener y procesar muestras de exudado faríngeo y secreción nasal | | | | | | | | |
|  | | | | | | | | | |
| **FUNDAMENTO TEÓRICO:** | | | | | | | | | |
| El tracto respiratorio (TR) está en contacto directo con el medio ambiente y se encuentra expuesto continuamente a los microorganismos suspendidos en el aire que respiramos. El aparato respiratorio está divido anatómicamente en superior (TRS) e inferior (TRI). EL TRS comprende: la boca, fosas nasales, orofaringe, nasofaringe y senos paranasales. Otra clasificación incluye al oído medio por la comunicación estrecha que existe entre éste y la nasofaringe a través de la trompa de Eustaquio, sin embargo, los procesos infecciosos de oído medio serán considerados en un capítulo separado.  Las infecciones de vías respiratorias superiores (ITRS) afectan a la población en general, son causa frecuente de consulta médica, sobre todo en la edad pediátrica, provocando ausentismo escolar y laboral. Las ITRS involucran a la cavidad nasal, faringe y senos paranasales. El 80% de estas infecciones son de etiología viral, en segundo lugar son producidas por bacterias y un reducido número de casos son de origen micótico.  ETIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR.  El 80% de las ITRS son de etiología viral. El resfriado común es causado principalmente por el grupo de los rinovirus y coronavirus.  La faringitis aguda en su gran mayoría es causada por rinovirus, adenovirus, parainfluenza y coxsackie. La causa bacteriana más frecuente de faringoamigdalitis y, por lo tanto, susceptible de ser tratada con antimicrobianos es *Streptococcus pyogenes*, responsable de 15 a 30% de las faringitis agudas en niños y de 5 a 10% en adultos.(1)  En la tabla 7 se señalan otras bacterias causantes de faringitis, entre éstas tenemos a los Estreptococos beta-hemolíticos de los grupos C y G que se han asociado a brotes epidémicos de faringitis transmitidas por alimentos, a faringitis endémica en comunidades cerradas donde concurren jóvenes y adultos.  Otros agentes etiológicos poco frecuentes lo constituyen: *Arcanobacterium haemolyticum*, y *Neisseria gonorrhoeae*, esta última debe ser considerada entre los jóvenes y adultos como consecuencia del contacto buco-genital.(1) Existen microorganismos que forman parte de la microbiota habitual de la faringe, algunos participan en la etiología de infecciones del tracto respiratorio bajo, sin embargo, no se consideran patógenos en faringoamigdalitis aguda en pacientes inmunocompetentes; es el caso de *H. influenzae, S. pneumoniae, M. catarrhalis* y *S. aureus. H. influenzae* es un agente causal de faringitis en niños.(1)  En pacientes inmunocomprometidos, se debe informar el hallazgo de *Candida* sp, bacilos gramnegativos y S. aureus. Tanto en la sinusitis como en otitis media, entre los microorganismos etiológicos frecuentemente implicados se señala a: *S. pneumoniae, H. influenzae* y, en menor proporción *M. catarrhalis*.  La Angina de Vincent es producida por una mezcla de bacterias anaeróbicas y espiroquetas. Estos cuadros son muy raros y se producen en adultos jóvenes.  Coloración de Hansel:  ~ Fije la lámina con metanol absoluto por 3 minutos  ~ Cubrir la lámina con el colorante durante 1 minuto.  ~ Agregar agua destilada sobre el colorante por 30 segundos  ~ Lavar con agua destilada  ~ Decolorar ligeramente con metanol (dos a tres gotas)  Dejar secar y examinar el extendido con objetivos de 10X y 40X (no utilice aceite de inmersión | | | | | | | | | |
|  | | | | | | | | | |
| **MATERIALES Y MÉTODOS** | | | | | | | | | |
| **Equipos** | **Materiales** | | | | | | **Reactivos** | | |
| Microscopios, mecheros | Asas, placas, láminas portaobjeto | | | | | | Coloración de Gram, | | |
| Estufa | Hisopos estériles, Medios de cultivo: agar Sangre, agar manitol salado, Plasma citratado, bajalengua. | | | | | | Hansel | | |
| **PROCEDIMIENTO / TÉCNICA:** | | | | | | | | | |
| . I. Obtención y procesamiento de exudado nasal  Condiciones previas del paciente:  No debe estar recibiendo antibióticos, ni antiinflamatorios, ni antialérgicos.  Procedimiento:  1. Elevar la punta de la nariz con el dedo pulgar.  2.En caso de ausencia de secreción, humedecer la punta del hisopo en solución salina estéril e introducirlo hasta la base de la fosa nasal, donde se rota suavemente.  3.Retirar el hisopo con cuidado de evitar la contaminación del mismo con las bacterias de la piel, proceder a realizar los extendidos finos sobre láminas portaobjetos nuevas y limpias para teñir con Gram y Hansel.  4.Proceder de igual forma con un segundo hisopado para la siembra en medios de cultivo: agar sangre (AS) y agar manitol salado (AMS)  5.Incubar los medios de cultivo a 36 ºC, en condiciones de aerobiosis por 18 a 24 horas.  II. Obtención y procesamiento de exudado faríngeo  El cultivo faríngeo es el método estándar para documentar la presencia de *S. pyogenes* en la faringe, esta prueba alcanza una sensibilidad del 90 a 95%.  Condiciones previas del paciente:  El paciente no debe haber recibido antibióticos en los últimos 8 días, previos a la obtención de la muestra.  El paciente debe acudir en ayunas al laboratorio.  Debe cepillarse los dientes y no practicar gargarismo.  Procedimiento:  1.Inspección de la faringe: ubicar al paciente en una posición cómoda y con buena iluminación, deprimir la lengua con el baja lengua, visualizar la fosa amigdalina y faringe en busca de exudado posterior, presencia de pseudomembrana o placas.  2.Indicar al paciente que abra la boca y que pronuncie un largo “ah”, el cual sirve para elevar la úvula y evitar las náuseas.  3.Introducir el hisopo y frotar enérgicamente ambas amígdalas y la pared posterior de la faringe con movimientos de barrido.  4.Retirar el hisopo cuidando de no tocar las paredes laterales de orofarínge, úvula, lengua, encías y dientes.  5.Extender la muestra con suaves movimientos sobre la superficie de los portaobjetos para realizar los frotis que serán teñidos al Gram y con la técnica de Hansel.  6.Obtener un segundo hisopado de fauces para la siembra en AS de carnero, siguiendo la técnica de estriado sobre superficie, realizando siembras de profundidad con el asa para la detección de hemolisinas estreptocócicas .  7.Incubar el AS a 36ºC, en condiciones de 5-7% CO2, por 24-72 horas. | | | | | | | | | |
| **RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)** | | | | | | | | | |
| C:\DOCUME~1\Silvana\LOCALS~1\Temp\~AUT0007.bmpToma de muestra de exudado faríngeo  Resultado de imagen para toma de muestra de secreciÃ³n nasal  Toma de muestra: Secreción Nasal  Exudado faríngeo  Gram  Hansel  AS ó AS con STX  Incubar a 36 º C por 18-48 h  en microaerofilia  Colonias pequeñas β-hemolíticas  Gram  Subcultivar en AS y  caldo BHI ó TH   * Pruebas bioquímicas   Reporte  Si no se observan colonias  de interés  Negativo o  flora habitual  Exudado nasal  Gram  Hansel  Incubar a 37 º C por 18-24 h  en microaerofilia  Gram  Lectura de Pruebas bioquímicas y antibiograma   * Antibiograma   Reporte  Negativo o  flora habitual  AMS  Crecimiento bacteriano  Negativo reincubar  Pruebas bioquímicas y antibiograma | | | | | | | | | |
| AS: Agar sangre  AMS: Agar manitol salado | | | | | | | | | |
| **OBSERVACIONES** | | | | | | | | | |
|  | | | | | | | | | |
| **CONCLUSIONES** | | | | | | | | | |
| Los estudiantes aplicaron los conocimientos sobre técnicas de toma de muestra y procesamiento adecuado para el diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio superior (Exudado faríngeo y secreción nasal). | | | | | | | | | |
| **RECOMENDACIONES** | | | | | | | | | |
| Aplicar las medidas de bioseguridad en el laboratorio uso de guates, tapabocas, mandil , pelo recogido | | | | | | | | | |
| **BIBLIOGRAFÍA** | | | | | | | | | |
| Microbiologia en Práctica de Jawets, Melnick y Adelberg E. Alche Editorial Atlante s.r.l  Microbiologia Fuerst Nueva Editorial Interamericana | | | | | | | | | |
| **Ximena Robalino**  **DIRECTOR/A DE CARRERA** | | **Ana Carolina González**  **DOCENTE** | | | |  | | | |