|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO** | | | | | | |
| **PERÍODO ACADÉMICO** | 2024 – 2S | | | | | |
| **ASIGNATURA** | **BACTERIOLOGIA** | | **SEMESTRE: 8** | | | **PARALELO: A** |
| **NOMBRE DEL DOCENTE** | **ANA CAROLINA GONZÁLEZ R** | | | | | |
| **FECHA** | **03/10/2024** | | | | | |
| **NÚMERO DE PRÁCTICA** | **9** | **HORA: 09:00-12:00H** | | | **DURACIÓN: 3H** | |
| **NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES.** | **GRUPO 1** | | | **GRUPO 2** | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
|  | | |  | | |
| **LUGAR DE LA PRÁCTICA** | LAB E302 | | | | | |
| **TÍTULO DE LA UNIDAD** | Examen microbiológico del Líquido cefalorraquídeo | | | | | |
| **TEMA DE LA PRÁCTICA** | Líquido cefalorraquídeo (PRIMERA PARTE) | | | | | |
| **RESULTADO DE APRENDIZAJE.** | | | | | | |
| Analiza la relevancia del examen microbiológico del líquido cefalorraquídeo para la detección de infecciones graves, como la meningitis bacteriana, viral o fúngica, y la encefalitis. | | | | | | |
| **OBJETIVO GENERAL** | Determinar mediante el cultivo del Líquido Cefalorraquídeo (LCR) el diagnóstico microbiológico de una infección del Sistema Nervioso Central (SNC). | | | | | |
| **Objetivos específicos** | 1.Conocer los pasos a seguir en la toma adecuada de muestras de LCR para la realización de estudios microbiológicos.  2.Analizar macroscópica y microscópicamente una muestra de LCR y realizar el reporte adecuado de este estudio.  3.Aplicar las técnicas microbiológicas convencionales para el aislamiento e identificación de bacterias involucradas en las infecciones del SNC.  4.Determinar el patrón de susceptibilidad de las bacterias | | | | | |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **FUNDAMENTO TEÓRICO:** | | | | |
| El estudio del Líquido Cefalorraquídeo (LCR) en pacientes sospechosos de tener un proceso infeccioso del Sistema Nervioso Central (SNC), representa uno de los más importantes procedimientos de urgencia que debe realizar el laboratorio de microbiología clínica. Esto se debe a la urgente necesidad de instalar una terapia antimicrobiana eficaz cuando se identifica el agente infeccioso involucrado.  Las patologías infecciosas del SNC son variadas y pueden involucrar más de una estructura anatómica o tejido cerebral, es por ello que debemos realizar una revisión de algunos términos comúnmente utilizados:  Meningitis: Inflamación de las meninges, identificada por una cuantificación anormal de leucocitos en LCR y con manifestaciones clínicas dependientes de la evolución del cuadro clínico.  Encefalitis: Inflamación o infección del tejido cerebral o ambos fenómenos, con o sin edema secundario.  Meningoencefalitis: Inflamación o infección del cerebro o ambas alteraciones con afección de las meninges.  Meningitis bacteriana: Inflamación meníngea causada por una bacteria patógena presente en LCR. La infección provocada por Mycobacterium tuberculosis constituye una entidad particular denominada meningitis tuberculosa.  Meningitis aséptica: Inflamación meníngea de causa diversa, sin evidencia de un microorganismo patógeno detectable en LCR, aplicando técnicas usuales de laboratorio.  Las infecciones del SNC pueden ser causadas por bacterias, virus, hongos o parásitos que se hallan en el medio ambiente o que forman parte de la flora normal de las superficies corporales. Por lo general, en las infecciones del SNC los agentes causales son introducidos previamente en los tejidos periféricos del hospedero y se dirigen al SNC a través de la circulación sistémica como es el caso de agentes patógenos que colonizan el tracto respiratorio (ej: virus de la encefalitis equina), por las vías nerviosas (ej: virus de la rabia), o a través de la placenta (ej: virus de la rubéola). Otra forma de ingreso de los microorganismos en el SNC es por inoculación directa, ocasionado por los traumatismos craneoencefálicos.  Es importante destacar que en algunas infecciones los microorganismos están alojados en el SNC en un estado de “latencia”, tal es el caso de *Mycobacterium tuberculosis* o *Treponema pallidum.* Estos agentes producen la enfermedad activa algún tiempo después o cuando las condiciones inmunológicas del huésped así lo permitan.  Aunque los abscesos del SNC son relativamente raros en comparación con otras infecciones del SNC, representan un problema microbiológico y clínico especial. Estos pueden hallarse en el interior de los tejidos del SNC o en los espacios subdural o epidural. Algunas veces son una complicación de la meningitis piógena. Más a menudo, los abscesos del SNC son producto de la embolización de bacterias u hongos desde un sitio distante infectado, como es el caso de la endocarditis bacteriana o el absceso pulmonar piógeno, extensión de un foco contiguo de infección (sinusitis o mastoiditis) o consecuencia de una complicación quirúrgica o traumatismo no quirúrgico.  Las infecciones del SNC suelen tener consecuencias graves. La meningitis bacteriana no tratada, es letal en un 70% de los casos. Sin embargo, los avances en las diversas técnicas diagnósticas, así como el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos han reducido la mortalidad por estas enfermedades en un 10%. Por otro lado, algunas infecciones del SNC ocurridas durante la infancia dejan severas secuelas neurológicas que alteran el desarrollo mental y psicomotor del individuo.  La infección aguda del SNC constituye un problema diagnóstico de gran urgencia. El examen del líquido cefalorraquídeo (LCR) es absolutamente necesario cuando se sospecha de infecciones agudas del SNC. La muestra de LCR se obtiene realizando una punción lumbar, la técnica debe ser realizada por el personal competente y bajo estrictas condiciones de asepsia, por lo tanto, todos los organismos recuperados de los cultivos son patógenos potenciales.  Los elementos de la respuesta inflamatoria en el LCR son de gran ayuda para determinar si la infección es bacteriana o viral, incluso puede sugerir la presencia de un determinado agente infeccioso.  El cultivo del LCR es la forma clásica de establecer de manera definitiva la etiología y es útil para hacer la evaluación de la susceptibilidad a los diferentes agentes antimicrobianos. Sin embargo, existen otras técnicas para detectar la presencia del microorganismos en LCR, como la detección de antígenos específicos (búsqueda inmunológica) o la detección de células bacterianas no viables (técnicas moleculares). Estas pruebas permiten realizar un diagnóstico rápido, así como la detección de bajos niveles de antígenos, células muertas o material genético específico. | | | | |
|  | | | | |
| **MATERIALES Y MÉTODOS** | | | | |
| **Equipos** | **Materiales** | | | **Reactivos** |
| Microscopios, mecheros | Muestra de LCR, Asas, placas, láminas portaobjeto, pipetas Pasteur estériles | | | Coloración de Gram |
| Estufa | Hisopos estériles, Medios de cultivo: agar Sangre, agar MacConKey | | |  |
| **PROCEDIMIENTO / TÉCNICA:** | | | | |
| A)Toma de la muestra:  Las muestras de LCR deben ser recolectadas por medio de punción lumbar antes de la terapia antimicrobiana y por el médico tratante.  B) Análisis macroscópico de la muestra, examen directo e inoculación en medios de cultivo  1.Registre los datos personales del paciente y elabore una ficha de laboratorio con los datos epidemiológicos y clínicos del paciente, según anexo 1 (consulte la historia clínica del paciente o comuníquese con el médico tratante).  2.Registre el volumen, apariencia y/o color del LCR.  3.Recuerde que de acuerdo al volumen del LCR, usted decidirá si se debe centrifugar o no muestra (volumen mayor de 1 ml centrifugar a 3.000 rpm durante 10 minutos)  4. Con una gota de la muestra obtenida en el punto 3, prepare un frotis sin extender para ser teñido con la coloración de Gram.  6.Los resultados del Gram deben comunicarse inmediatamente al médico tratante  8.Tome una o dos gotas del LCR con una pipeta Pasteur estéril e inocule los medios de cultivo sólidos (agar sangre y agar chocolate) y líquidos.  9.Si el laboratorio cuenta con pruebas para detección de antígeno, realice estas pruebas con una pequeña cantidad de la muestra de LCR, o utilice el sobrenadante del LCR obtenido en el punto 3.  10.Incube los medios de cultivo sólidos en atmósfera de microaerofilia (10% CO2 ) y los líquidos en aerobiosis a 36 ºC.  11.Revise los cultivos a las 24 horas. | | | | |
| **RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)** | | | | |
|  | | | | |
| **OBSERVACIONES** | | | | |
|  | | | | |
| **CONCLUSIONES** | | | | |
| 1.-Los estudiantes aplicaron los conocimientos sobre técnicas de toma de muestra y procesamiento adecuado para el diagnóstico de infecciones del sistema nervioso | | | | |
| **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 ROBALNO**  **DIRECTOR/A DE CARRERA** | | **ANA CAROLINA GONZÁLEZ**  **DOCENTE** | **ELIANA DE LA TORRE**  **TÉCNICO DE LABORATORIO** | |