



Universidad de Buenos Aires,
Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología, Parasitología
e Inmunología

Cátedra 1
Microbiología II

Teórico
Diagnóstico Bacteriológico

Cristina Cerquetti
ccerquetti@yahoo.com.ar

OBJETIVOS

- Reconocer el esquema del diagnóstico bacteriológico.
- Reconocer diferentes técnicas del diagnóstico bacteriológico.

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

?



SIGNOS Y SÍNTOMAS

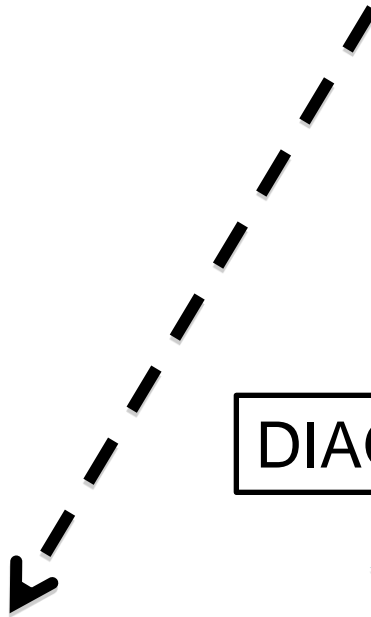
Epidemiología

DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO

Procedimientos de laboratorio

DIAGNÓSTICO DE CERTEZA

TRATAMIENTO



DIAGNÓSTICO DE CERTEZA

– DIRECTO

- Observación microscópica
- Cultivo
- Detección de componentes bacterianos o antígenos
- Detección de secuencias de ADN bacterianas específicas

– INDIRECTO

- Detección de anticuerpos séricos específicos

ETAPAS DEL DIAGNÓSTICO DIRECTO

- Elección de la muestra
- Transporte y conservación
- Procesamiento
- Identificación del patógeno
- Patrón de sensibilidad antibiótica

TIPO DE MUESTRAS

- Respiratorias (altas y bajas)
- Urinarias
- SNC
- Gastrointestinales
- Genitales
- De heridas
- Etc.

TOMA DE MUESTRAS

- RESPIRATORIAS (las más frecuentes)
 - Hisopado de fauces
 - Aspirado nasofaríngeo
 - Esputo
 - Lavado bronquioalveolar
 - Cepillado bronquioalveolar

Sangre (entera; suero) puede ser usada para el diagnóstico de infecciones respiratorias.

TOMA DE MUESTRAS

- URINARIAS

- Micción espontánea
- Al acecho
- Punción de sonda vesical
- Punción suprapúbica

TOMA DE MUESTRAS

- GASTROINTESTINALES

- Emisión espontánea
- Hisopado rectal

TOMA DE MUESTRAS

- Sistema Nervioso Central
 - LCR
 - Sangre
- Infecciones sistémicas
 - Sangre

TOMA DE MUESTRAS

- GENITALES

- Hisopado uretral
- Hisopado vaginal
- Hisopado cervical (cuello útero)
- Improntas de úlceras

CARÁCTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS

OBTENIDAS POR PUNCIÓN

(Sin flora normal acompañante)



Microscopía y cultivo muy significativos

Ejemplos:

LCR, punción suprapúbica, punción pleural, sangre, etc.

CARÁCTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS

HISOPADOS / EMISIÓN ESPONTÁNEA

(Contiene flora acompañante)

- Disminuir la carga de flora acompañante
- Diferenciar patógeno / flora
- Cultivos cuantitativos o semicuantitativos

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

¿Por qué es importante el transporte y la conservación de la muestra?

La mayoría de las muestras son vulnerables a:

- Cambios de temperatura
- Falta de humedad durante el transporte
- El sobredesarrollo de la flora normal incluida en la muestra

TRANSPORTE



HISOPADOS Medio de Stuart,
Cary Blair o Amies



Medios para
aeróbicas y
anaeróbicas

SANGRE para hemocultivo



HECES
Medio de Cary Blair



LIQUIDOS DE PUNCIÓN
Tubos estériles



ORINA, ESPUTO, BIOPSIAS, Etc.
Frasco estéril

CONSERVACION DE LAS MUESTRAS

TIPO DE MUESTRA	TEMPERATURA AMBIENTE	HELADERA (4°C)
SANGRE (hemocultivo)	X	
ORINA		X
EXUDADOS FARINGEOS	X	
ESPUTO		X
LCR	X	
EXUDADOS GENITALES	X	
EXUDADOS PIEL Y TEJ. BLANDOS	X	
EXUDADOS OCULARES	X	
MUESTRAS PARA ANAEROBIOS	X	
HECES (coprocultivo)		X

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- MICROSCOPIA
 - Como método de diagnóstico de certeza
 - Como técnica complementaria al diagnóstico
- CULTIVO
- DETECCIÓN DE ANTÍGENOS
- DETECCIÓN DE SECUENCIAS ADN

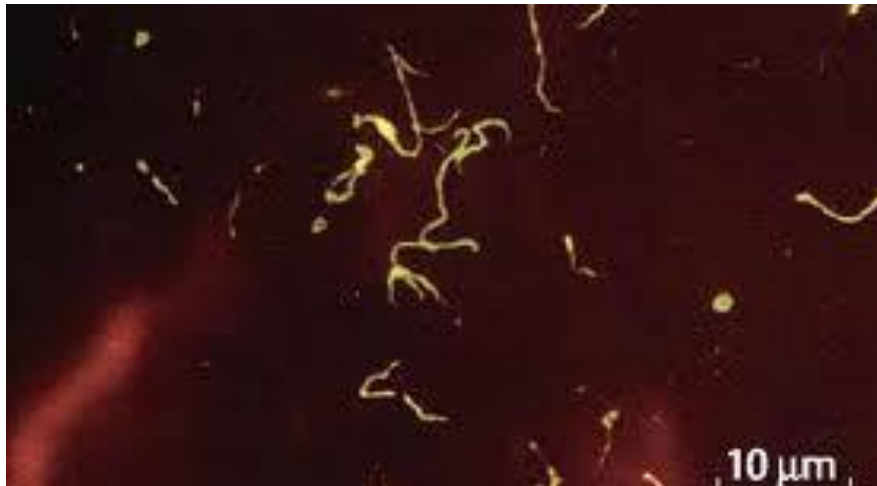
PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- MICROSCOPIA
 - Como método de diagnóstico de certeza
 - Como técnica complementaria al diagnóstico
- CULTIVO
- DETECCIÓN DE ANTÍGENOS
- DETECCIÓN DE SECUENCIAS ADN

MICROSCOPIA COMO DIAGNÓSTICO DE CERTEZA

INMUNOFLOURESCENCIA DIRECTA

Utilización de anticuerpos específicos marcados con fluoresceína



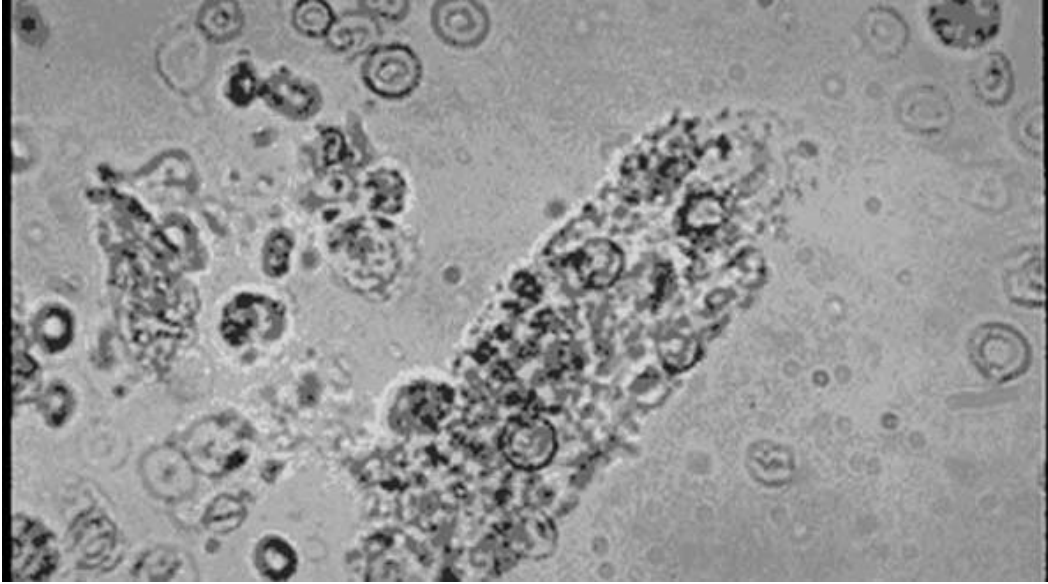
Treponema pallidum

Ejemplos: Identificación de
Treponema pallidum,
Chlamydia trachomatis
Chlamydophila pneumoniae
Leptospira interrogans

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

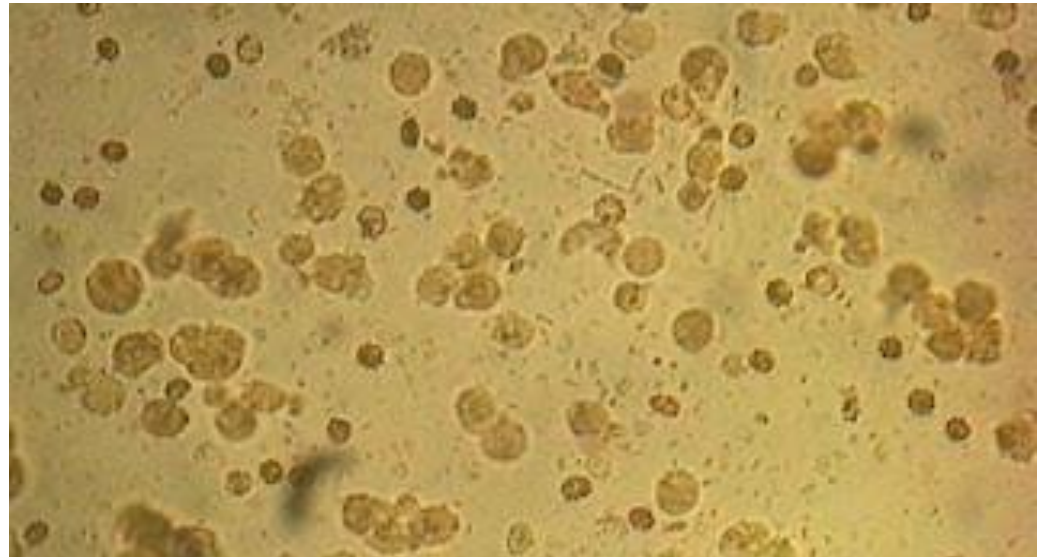
- MICROSCOPIA
 - Como método de diagnóstico de certeza
 - Como técnica complementaria al diagnóstico
- CULTIVO
- DETECCIÓN DE ANTÍGENOS
- DETECCIÓN DE SECUENCIAS ADN

MICROSCOPIA COMO TÉCNICA COMPLEMENTARIA AL DIAGNÓSTICO



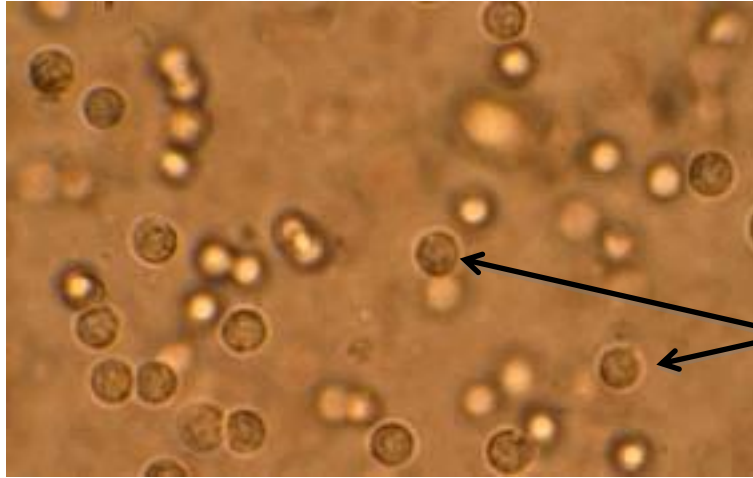
**OBSERVACIÓN
EN FRESCO**

Hematíes en orina



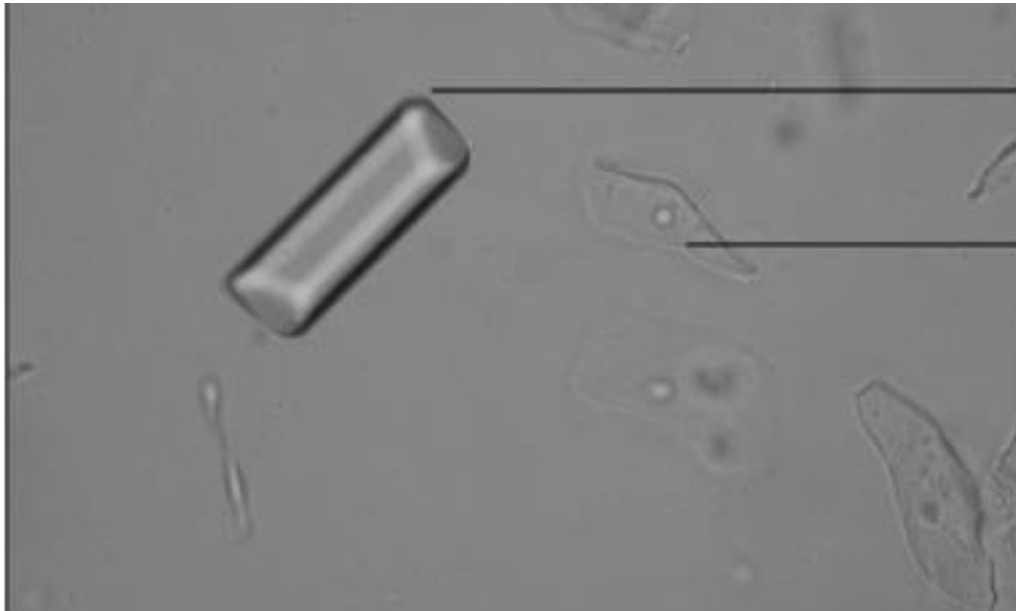
Hematíes y glóbulos blancos
en materia fecal

MICROSCOPIA COMO TECNICA COMPLEMENTARIA AL DIAGNÓSTICO



SEDIMENTO URINARIO

Leucocitos



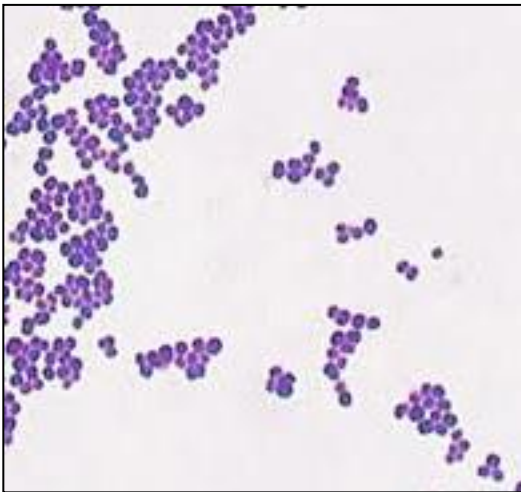
Cristales

Célula
descamativa

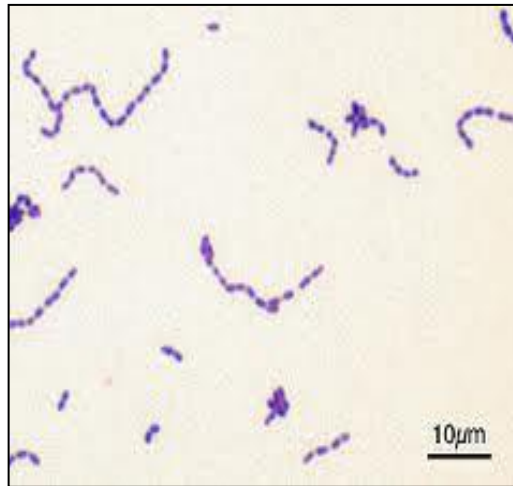
MICROSCOPIA COMO TÉCNICA COMPLEMENTARIA AL DIAGNÓSTICO

Tinción de Gram

Cocos gram-positivos



En racimo



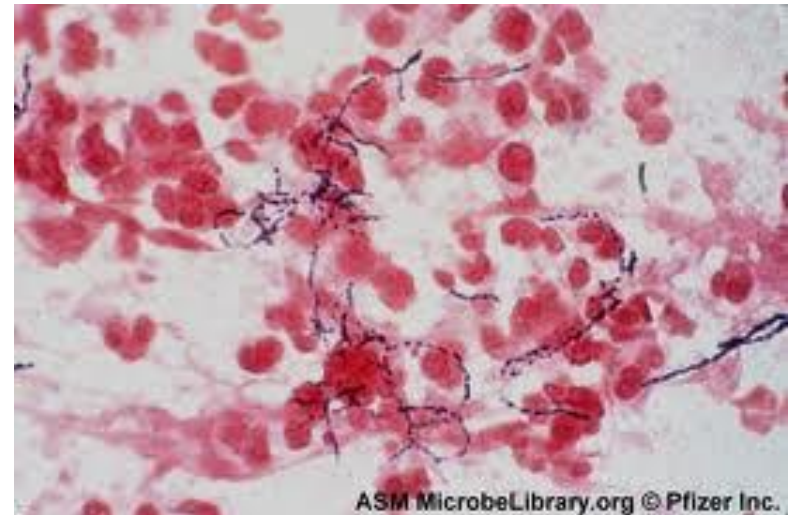
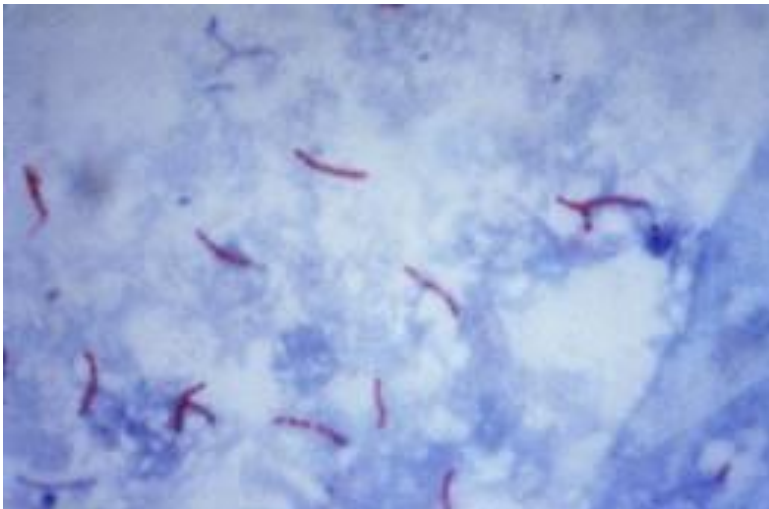
En cadena

Bacilos gram-negativos



MICROSCOPIA COMO TÉCNICA COMPLEMENTARIA AL DIAGNÓSTICO

Tinción de Ziehl Neelsen



PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

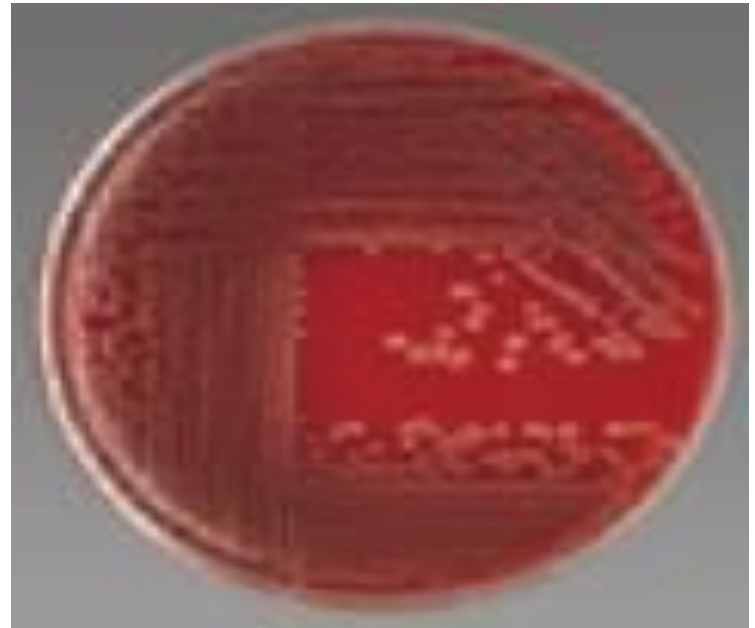
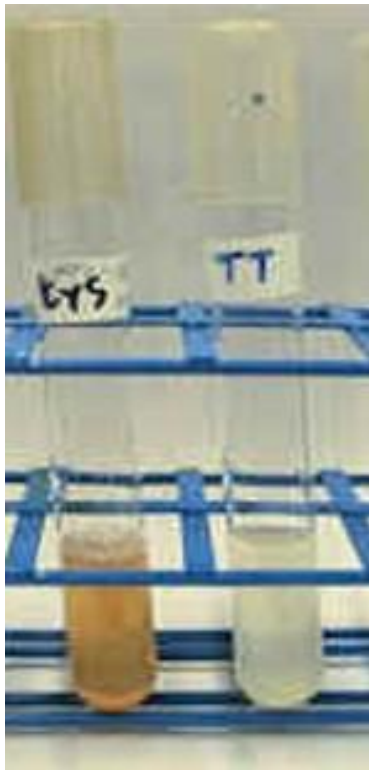
- MICROSCOPIA
 - Como método de diagnóstico de certeza
 - Como técnica complementaria al diagnóstico
- CULTIVO
- DETECCIÓN DE ANTÍGENOS
- DETECCIÓN DE SECUENCIAS ADN

Diagnóstico microbiológico directo

Cultivo

Medio líquido
(enriquecimiento)

Medio sólido
(aislar)

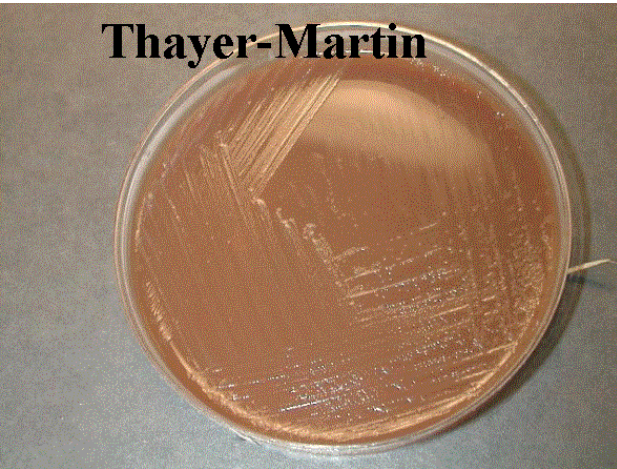


Diagnóstico microbiológico directo

Cultivo

Medios Selectivos y Diferenciales

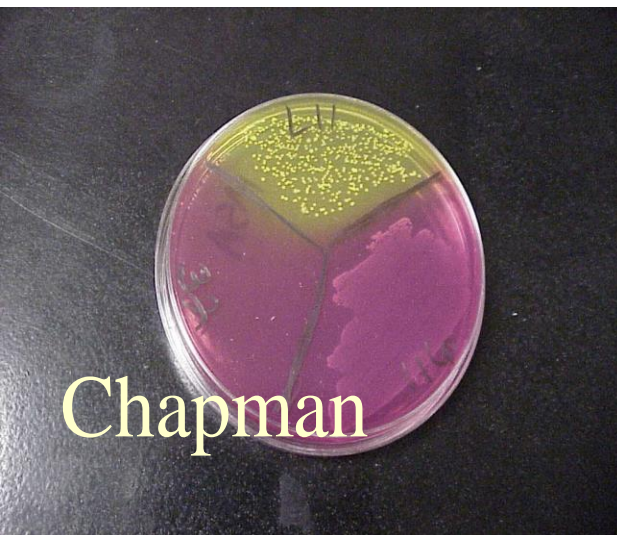
Thayer-Martin



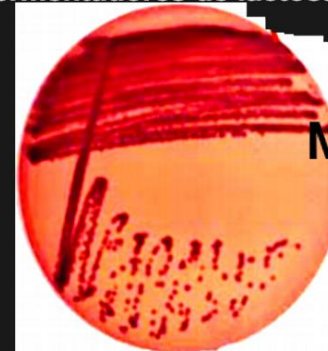
Levine
o EMB



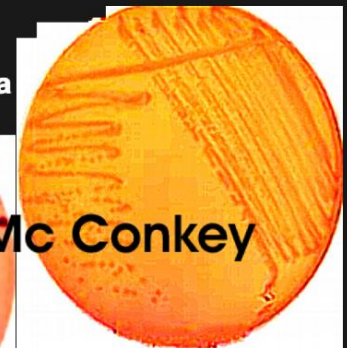
Chapman



Fermentadores de lactosa



Mc Conkey



No Fermentadores de lactosa

Diagnóstico microbiológico directo

Identificación bacteriana



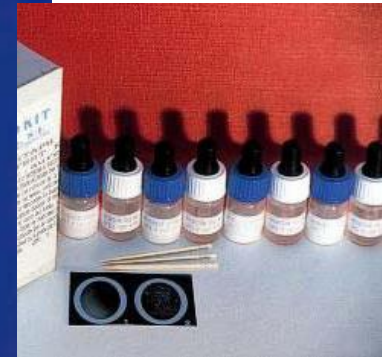
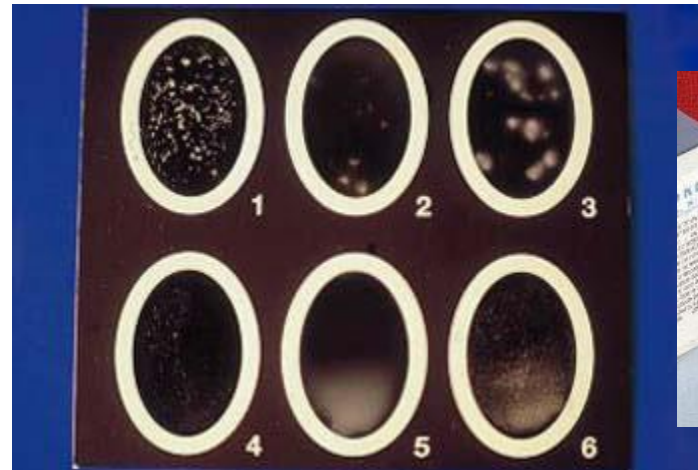
Pruebas bioquímicas



API E



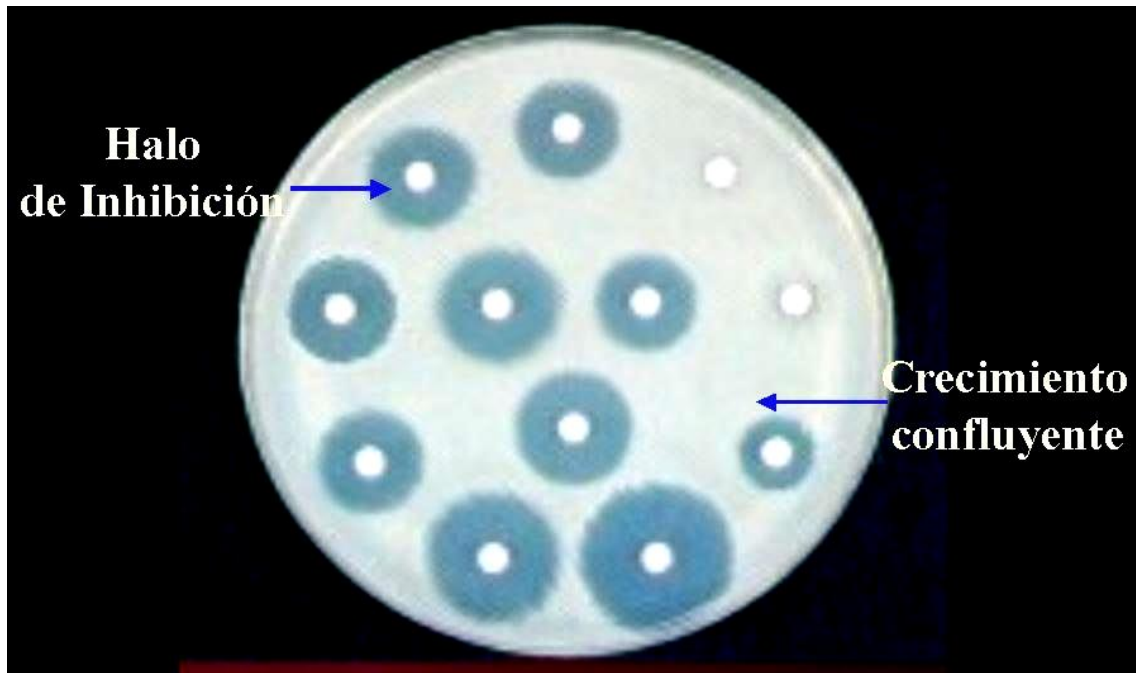
Identificación de antígenos bacterianos



Serotipificación

Diagnóstico microbiológico directo

Pruebas de sensibilidad antibiótica



Antibiograma de difusión o método de Kirby & Bauer

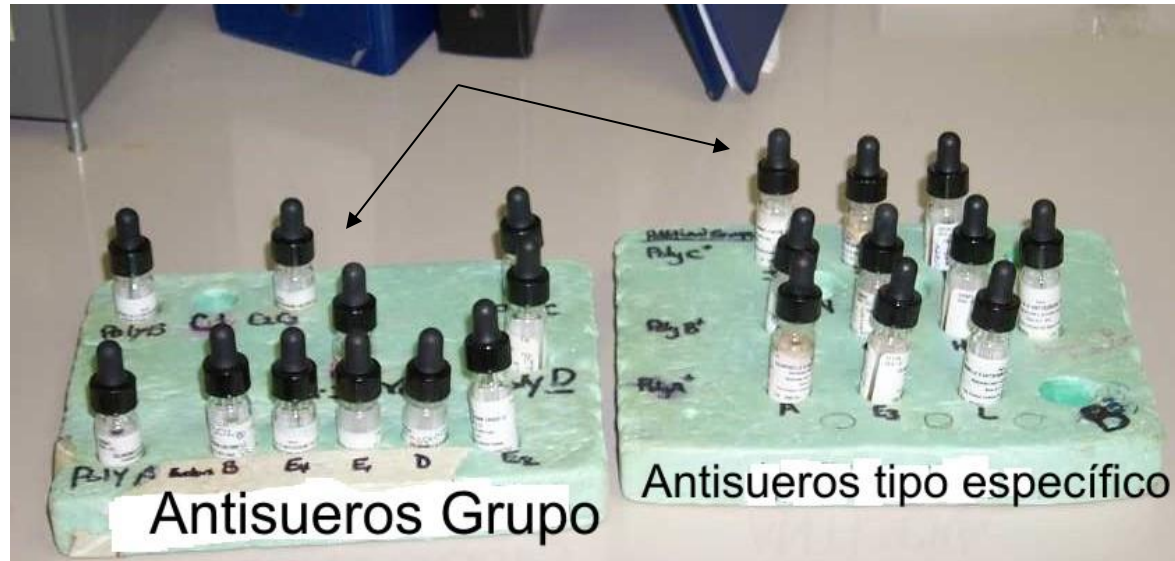
PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- MICROSCOPIA
 - Como método de diagnóstico de certeza
 - Como técnica complementaria al diagnóstico
- CULTIVO
- DETECCIÓN DE ANTÍGENOS
- DETECCIÓN DE SECUENCIAS ADN

Diagnóstico microbiológico directo

Identificación de antígenos

Se utilizan anticuerpos específicos para detectar antígenos en la superficie de la envoltura bacteriana



Diagnóstico microbiológico directo

Técnicas de identificación de antígenos bacterianos (algunos ejemplos)

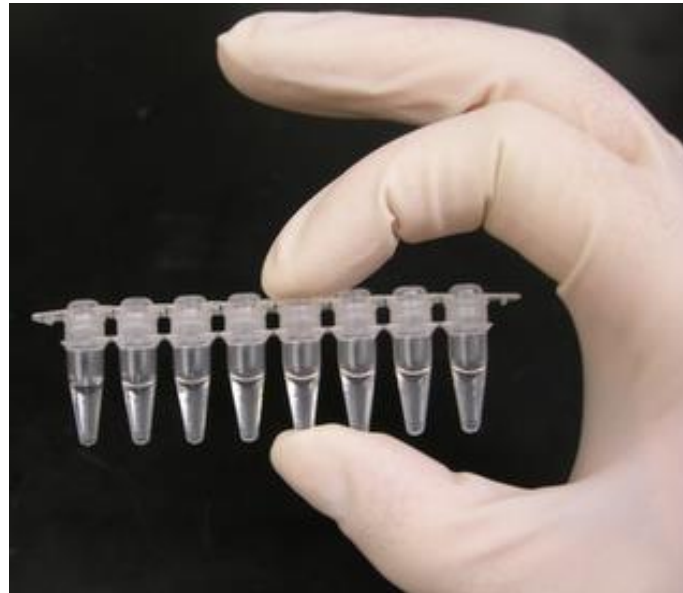
Bacteria	Técnica
<i>Streptococcus</i> spp. (hisopado de fauces)	Aglutinación con anticuerpos anti hidratos de carbono de la pared
<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b (LCR)	Aglutinación con anticuerpos anti cápsula
<i>Neisseria meningitidis</i> (LCR)	Aglutinación con anticuerpos anti cápsula

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- MICROSCOPIA
 - Como método de diagnóstico de certeza
 - Como técnica complementaria al diagnóstico
- CULTIVO
- DETECCIÓN DE ANTÍGENOS
- DETECCIÓN DE SECUENCIAS ADN

Diagnóstico microbiológico directo

Identificación de Secuencias bacterianas específicas de ADN

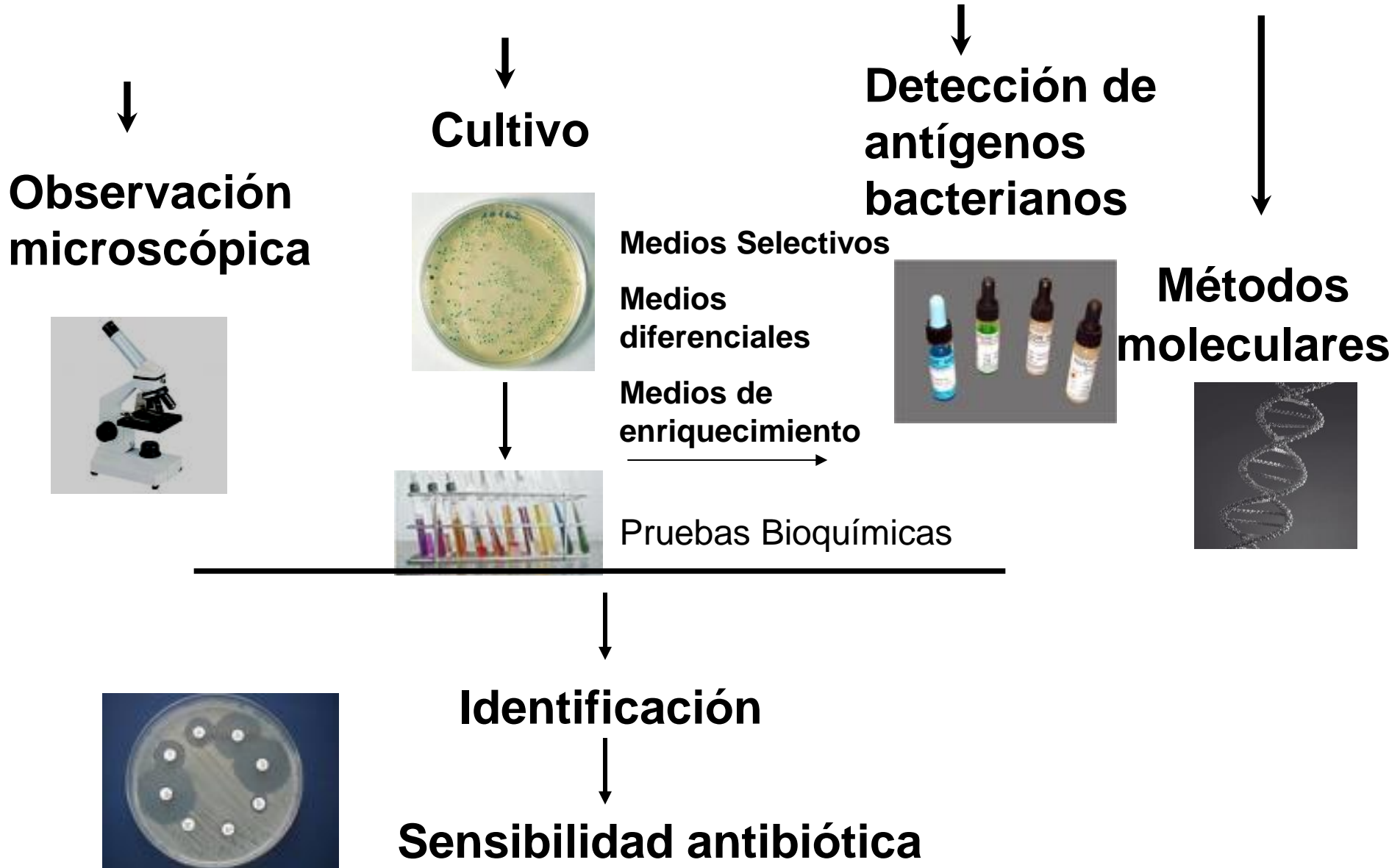


Ejemplos:
Leptospira
interrogans;

Mycobacterium
spp.

genes de resistencia antibiótica
(Ej.: rifampicina *M. tuberculosis*)

Diagnóstico Microbiológico Directo



DIAGNÓSTICO DE CERTEZA

– DIRECTO

- Observación microscópica
- Cultivo
- Detección de componentes bacterianos o antígenos
- Detección de secuencias de ADN bacterianas específicas

– INDIRECTO

- Detección de anticuerpos séricos específicos

Diagnóstico Microbiológico Indirecto:

Detección de anticuerpos séricos

Agente etiológico	Método diagnóstico serológico
<i>Treponema pallidum</i>	IF (FTA-abs)/ HA (MHA- <i>Tp</i>) VDRL
<i>Brucella</i> spp.	Aglutinación/ ELISA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	IFD/ELISA
<i>Leptospira interrogans</i>	Aglutinación
<i>Coxiella burnetti</i>	IFI

FC: Fijación de complemento IF: inmunofluorescencia HA: hemoaglutinación

FTA-abs: Fluorescent Treponemal Antibody with absorption.

MHA-*Tp*: Microhemaglutinación del *Treponema pallidum*

Bibliografía

- Sordelli y col. Bacteriología Médica, 2006. Capítulo 7.
- Murray y col. Microbiología Médica, 6ta edición, 2009. Capítulos 14, 15, 16 y 17.



Universidad de Buenos Aires,
Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología, Parasitología
e Inmunología

Muchas gracias!!

Cristina Cerquetti
ccerquetti@yahoo.com.ar