



CORPORACIÓN UNIVERSITARIA
RAFAEL NÚÑEZ

PARA QUE TU DESARROLLO CONTINÚE SU MARCHA

**GUÍA DE LABORATORIO
DE MEDICINA TROPICAL
IX Semestre**

Soraya Salas Romero

Bacterióloga, Master en Infecciones y Salud en el Trópico

Carlos Guerra Guardo

Bacteriólogo, Especialista en Gestión de la Calidad y Auditoría en Salud

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa de Medicina





© **Corporación Universitaria Rafael Núñez**
Institución Universitaria | Vigilada Mineducación
2018
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 Medicina

Heliana Padilla Santos

Mónica Rocha Carrascal

Director de Biblioteca Miguel Henríquez Castañeda-Cartagena

Luis Fernando Rodríguez L.

Revisión técnica disciplinar

Heliana Padilla Santos

Revisión y corrección de estilo

Raúl Padrón Villafañe

Autores

Soraya Salas Romero

Carlos Guerra Guardo



CONTENIDO

PRESENTACIÓN	4
NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO	5
PLAN DE TRABAJO DEL ESTUDIANTE	7
MATERIALES PARA TODAS LAS CLASES	8
PRÁCTICA N°. 1 PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE DENGUE	9
PRÁCTICA N° 2 PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA	13
PRÁCTICA N° 3 PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE TUBERCULOSIS	21
PRÁCTICA N° 4 INMUNOENSAYO PARA EL DIAGNÓSTICO IN VITRO DE VIH-1 Y VIH-2	29
PRÁCTICA N°5 MARCADORES SEROLÓGICOS EN LA INFECCIÓN DE HEPATITIS B	34
BIBLIOGRAFÍA	39



PRESENTACIÓN

De acuerdo a la definición de la Organización mundial de la Salud (OMS) las enfermedades tropicales son aquellas que ocurren únicamente o principalmente en los trópicos donde predominan climas calientes y húmedos que permiten el mantenimiento de la cadena de transmisión de algunas enfermedades, principalmente aquellas que requieren de un vehículo o vector que permita el desarrollo de formas infectantes para el humano (1). Dado que el cien por ciento de la geografía colombiana se ubica en zonas tropicales, el estudio de dichas entidades cobra gran importancia, más aún si dichas enfermedades generan un gran impacto en la salud pública por lo que están sujetas a una estricta vigilancia. En este mismo sentido, es necesario reconocer las principales metodologías de laboratorio empleadas en el diagnóstico de estas.

Las prácticas de laboratorio de la asignatura Medicina tropical incluyen cuatro patologías del grupo de enfermedades tropicales con diferentes mecanismos de transmisión (vectorial, sexual, aérea, transmitidos por aguas y alimentos) y al mismo tiempo incluye microorganismos de diversa índole (virus, bacterias y parásitos).



NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO

Según la Organización mundial de la salud (OMS) el concepto de bioseguridad hace referencia a los principios, técnicas y prácticas aplicadas con el fin de evitar la exposición no intencional a agentes de tipo biológico, químico, físico o su liberación no intencional. El personal de la salud y en especial el trabajo en el laboratorio lugar donde se manipulan muestras y reactivos, trae consigo mayor exposición al riesgo de adquirir enfermedades, por lo que se hace necesario la implementación de los sistemas de precaución universal con el fin de prevenir estos problemas (2).

Tomar conciencia del manejo adecuado y responsable de nuestros actos como profesionales y como estudiantes de la salud es de vital importancia, razón por la cual se requiere un estricto cumplimiento de las normas de bioseguridad independientemente del tipo de muestra manipulada o el estado de salud.

Normas de bioseguridad

- No se debe comer, fumar, beber, ni colocar otros objetos en la boca mientras esté en el laboratorio.
- Al ingreso al laboratorio debe utilizar bata de laboratorio limpia y debidamente abotonada, gorro y calzado cerrado.
- Usar guantes de látex o de otro material para todo procedimiento que implique contacto con: sangre u otros fluidos corporales, cultivo de microorganismos o manipulación de reactivos químicos. Con las manos enguantadas no se debe tocar el cabello, los ojos, la nariz ni otras mucosas expuestas; tampoco se deben manipular elementos y equipos del área de trabajo que no sean necesarios en el procedimiento (ej. teléfonos, esferos, libros), ni deambular fuera del



laboratorio. Al terminar, deseche los guantes en el contenedor de color rojo y lávese las manos.

- Se deben usar gafas y/o caretas protectoras con protección lateral para los procedimientos que puedan generar salpicaduras con gotas de sangre o de líquidos corporales.
- Si se requiere el uso de tapabocas, este debe encajar cómoda y adecuadamente sobre el puente de la nariz para evitar el empañamiento de las gafas protectoras.
- Mantener el laboratorio limpio y aseado.
- Descartar el material contaminado en los recipientes destinados para ello.
- Lavarse las manos antes de abandonar el laboratorio.
- Conocer las reglas del uso y cuidado de todos los equipos.



PLAN DE TRABAJO DEL ESTUDIANTE

Antes de cada práctica de laboratorio, el estudiante deberá revisar la guía correspondiente donde encontrará una breve descripción del agente etiológico y los procedimientos a realizar durante la práctica con la finalidad de realizar un trabajo organizado que garantice el éxito de las prácticas de laboratorio.

La guía debe ser llevada en forma física a todas las prácticas.

Antes de entrar al laboratorio, cada estudiante debe colocarse los elementos de protección personal (bata y gorro).

Al terminar la práctica, deberá organizar los materiales de laboratorio suministrado y descartar los desechos de acuerdo a la normatividad vigente.



MATERIALES PARA TODAS LAS CLASES

- Microscopio óptico.
- Papel arroz.
- Aceite de inmersión.
- Elementos de protección personal:
 - Bata de laboratorio.
 - Gorro.
 - Guantes desechables.



PRÁCTICA N°1.

PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE DENGUE

I. INTRODUCCIÓN

El dengue es una enfermedad viral aguda causada por cuatro serotipos del virus dengue, el cual pertenece a la familia *Flaviviridae* y es transmitido por la picadura de hembras de mosquitos del género *Aedes*. Constituye una de las patologías infecciosas con mayor impacto en Colombia cuya vigilancia, prevención y control revisten especial interés en la salud pública, por lo que es obligatorio la notificación de casos (3).

La sospecha clínica de dengue se establece de acuerdo a la sintomatología y los antecedentes epidemiológicos, sin embargo, la confirmación de casos se debe establecer mediante pruebas de laboratorio, en donde se puede demostrar la presencia de partículas virales o fragmentos de las mismas (pruebas directas) o la presencia de anticuerpos específicos contra el virus (pruebas indirectas).

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Reconocer las diferentes técnicas directas e indirectas que permiten el diagnóstico de dengue.

Objetivos específicos

- Describir las principales técnicas de diagnóstico de dengue por laboratorio.
- Reconocer el tipo de muestra y el momento adecuado para la obtención de la misma que permitan establecer el diagnóstico de Dengue.



III. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

Tablero, marcadores, muestras de suero, lancetas, alcohol, algodón, pipetas Pasteur, kit de prueba rápida para el diagnóstico de dengue (determinación simultánea de NS1 y IgG contra dengue).

IV. PROCEDIMIENTO

Se realiza una prueba rápida de inmunocromatografía diseñada para la detección de antígenos de virus Dengue NS1 y anticuerpos contra virus dengue (IgG/IgM) en suero, plasma o sangre total humana, el procedimiento a realizar contempla los siguientes pasos, sin embargo, es necesario verificar los procedimientos indicados en el estuche ya que puede presentar variaciones por cada casa comercial (4).

Al inicio del ensayo, las muestras y los reactivos deben estar a temperatura ambiente, retire el dispositivo de muestra del empaque de aluminio y colóquela en una superficie plana y seca.

Con un gotero, añada tres gotas (aproximadamente 100ul) de muestra en el pozo de muestra (marcado con "S") de la prueba Dengue NS1, observar cómo se mueve la muestra a través de la ventana de resultados en el centro del dispositivo; interprete los resultados de la prueba a los 15-20 minutos.

De igual forma para la prueba con una pipeta agregue 10 µl de muestra (suero o plasma) en el pozo de muestra (marcado con "S"), añada cuatro gotas (aproximadamente 90-120 ul) del diluyente; interprete los resultados de la prueba a los 15-20 minutos. La lectura demasiado tardía puede dar resultados falsos.



INTERPRETACIÓN

Prueba Dengue NS1:

- La presencia de una línea de color dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.
- La presencia de dos líneas de color (banda “T” y “C”) dentro de la ventana de resultados, no importa cuál aparezca primero, indica un resultado positivo.
- Si no es visible la línea de color dentro de la ventana de resultados después de realizar la prueba se considera el resultado inválido. Este resultado pudo ser producto de no haber seguido las indicaciones o por deterioro de la prueba, por tanto, se recomienda analizar nuevamente la prueba.

Prueba Dengue IgG/IgM

- La presencia de la línea de control en el dispositivo de prueba indica que no se detectaron anticuerpos IgG/IgM en la muestra analizada (resultado negativo), se recomienda repetir la prueba en 3 a 5 días si se sospecha infección por dengue.
- Presencia de dos líneas (línea de control (C) y la línea de IgM (M)) en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgM para el virus del dengue, esto es indicativo de una infección primaria de dengue.
- Presencia de dos líneas (línea de control (C) y la línea de IgG (G)) en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgG para el virus del dengue, esto es indicativo de una infección secundaria o anterior de dengue.
- Presencia de tres líneas (línea de control (C), la línea de IgM (M) e IgG (G)) en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgM e IgG para el virus del dengue, esto es indicativo de una infección primaria tardía o secundaria temprana.



- El resultado es inválido si la línea de control no aparece, pudo ser debido a empleo de volumen insuficiente de muestra o técnicas de procedimiento incorrectas, repita la prueba usando un nuevo dispositivo de prueba.

V. TALLER DE PREGUNTAS

Desarrollar el siguiente cuestionario:

- a) ¿Cuál fue el resultado obtenido de acuerdo a la formación de color?
- b) ¿Qué tipo de técnica se realizó?
- c) ¿Cuál es la utilidad la prueba para determinar la proteína NS1?
- d) ¿Por qué es importante determinar la fecha de inicio de síntomas?



PRÁCTICA N° 2.

PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA

I. INTRODUCCIÓN

La Malaria es una enfermedad febril aguda de origen parasitológico causada por cinco especies de *Plasmodium* y transmitido por la picadura de mosquitos del género *Anopheles spp.* La malaria sigue siendo una de las enfermedades infecciosas más graves afectando casi la mitad de la población mundial y provocando cientos de miles de muertes en 2015 (5).

La incidencia mundial de esta enfermedad ha registrado un descenso del 37% desde el año 2000 al 2015, la mortalidad también tuvo una reducción pasando de 839.000 en el año 2000, a 438.000 en el año 2016, con un descenso del 48%. En Colombia la malaria representa un problema prioritario en la salud pública debido a la transmisión con tendencia creciente en determinadas regiones del país, con un comportamiento cíclico epidémico cada 2 a 7 años, relacionado con la ocurrencia del fenómeno del Niño – Oscilación Sur. Se reconoce un espectro de manifestaciones de la enfermedad que va desde procesos asintomáticos, cuadros sintomáticos con escalofrío, fiebre, sudoración y cefalea, hasta cuadros severos que pueden llevar a la muerte; es así como se definen dos formas clínicas: malaria no complicada y malaria complicada, esta última se asocia a una mayor mortalidad (6).

El diagnóstico de malaria se confirma con la identificación de la especie de *Plasmodium spp.*, presente en la sangre mediante examen microscópico de gota gruesa y/o extendido de sangre periférica o mediante la detección de antígenos parasitarios a través de las pruebas de diagnóstico rápido (PDR) o ADN parasitario en escenarios específicos. Cuando se realiza el diagnóstico microscópico se debe hacer recuento parasitario en la totalidad de las muestras

II. OBJETIVO

Objetivo general

Identificar las diferentes técnicas comúnmente empleadas para el diagnóstico de malaria.

Objetivos específicos

- Realizar gota gruesa y extendido de sangre periférica para la identificación microscópica de formas parasitaria de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*.
- Realiza e interpretar pruebas rápidas para el diagnóstico de malaria.

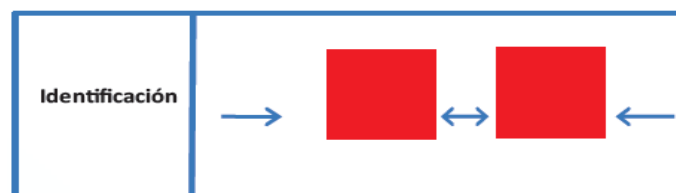
III. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

Microscopios, aceite de inmersión, laminillas, lancetas, torundas de algodón, colorante de Giemsa, pruebas rápidas para el diagnóstico de Malaria.

IV. PROCEDIMIENTO

Procedimiento para la toma de muestra y elaboración de la gota gruesa:

- La punción de hace de manera firme y segura.
- Se hace presión y se limpia la primera gota de sangre; se presiona hasta obtener la segunda gota de sangre.
- Ayudado con otra lámina portaobjeto se extiende de manera adecuada la muestra de sangre logrando un área aproximada de 1 cm x 1cm o de 1 cm x 1,5 cm.



Fuente: Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento. 2015. Instituto Nacional de Salud.



- La muestra debe quedar homogénea (para lo cual siempre se recomienda hacer movimientos de vaivén).
- Una vez elaboradas las gotas gruesas se dejan secar a temperatura ambiente por 20 minutos, en un mesón
- Posteriormente de dejarla secar, se procede a colorearla.

Procedimiento para la toma de muestra y elaboración del extendido:

- La gota de sangre que se utiliza para realizar el extendido es mucho más pequeña que la utilizada para la gota gruesa (1 μL aproximadamente) y se coloca hacia un lado de la lámina y con la ayuda de otro portaobjeto de borde biselado se procede a extender la muestra.
- La lámina en la que coloca la gota de sangre debe ser tomada de los extremos evitando colocar los dedos en los bordes que dan el largo de la lámina para que la lámina extensora tenga un libre deslizamiento.
- Se debe considerar que la gota de sangre tiene una parte anterior y otra posterior con respecto a la posición de la identificación de la lámina, entonces se coloca la lámina extensora en la parte anterior de la gota con una inclinación aproximada de 45° y por capilaridad se deja extender la gota de sangre en el borde de la lámina extensora y antes de que la sangre llegue a los bordes de la lámina se desliza la extensora hacia adelante.

Procedimiento de la coloración Romanowsky modificada

- **Pre coloración:** el azul de metileno se sirve en un frasco de boca ancha con tapa para reducir la contaminación del medio ambiente. Las láminas se introducen por un tiempo no mayor a tres segundos para permitir la deshemoglobinización de los glóbulos rojos. Retire el exceso de azul de metileno escurriendo en un papel absorbente.
- **Enjuague:** se realiza un enjuague por inmersión en buffer fosfato (un segundo). Escurra en un papel absorbente y coloque la lámina en la lámina



cóncava nuevamente con la muestra hacia la concavidad mientras prepara la solución de coloración.

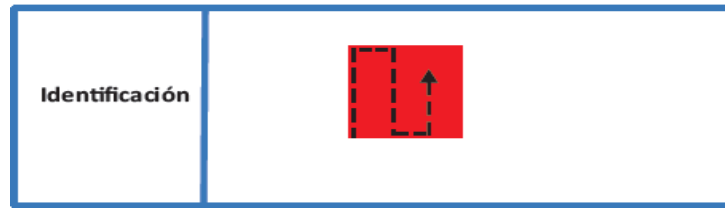
- **Coloración:** la coloración permite obtener los contrastes y tonos de color esperados para la identificación parasitaria. La solución de trabajo se debe preparar inmediatamente antes de colorear la gota gruesa. Para cada lámina que se requiere colorear, se miden 3 mL de solución fosfatada a la cual se adiciona una gota de solución A y una de solución B (en su orden). Se sirve en un tubo con tapa rosca y se mezcla por inversión suavemente. El tiempo de coloración es aproximadamente de 10 minutos,

Lectura e interpretación.

Se procede a adicionar una gota de aceite de inmersión y se pasa al objetivo de 100x, en donde solamente se ajusta la imagen utilizando el botón del micrométrico y se abre totalmente el diafragma del condensador.

La lectura de la muestra se empieza a realizar en donde se observe un número adecuado de células sanguíneas, teóricamente se deben observar entre 10 a 20 leucocitos, sin embargo, algunos pacientes con bajo recuento de leucocitos pudieran tener menos glóbulos blancos por campo.

Para iniciar la búsqueda de formas parasitarias, se mueve el carro del microscopio buscando los campos adyacentes hasta llegar al extremo de la muestra, en donde se mueve el carro de manera lateral para devolverse por una línea paralela a la ya observada. Es semejante a un movimiento de zigzag.



Fuente: Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento. 2015. Instituto Nacional de Salud.

Un diagnóstico adecuado para malaria realizado mediante microscopía incluye reportar tanto la especie parasitaria como el recuento. El recuento tiene importancia porque ayuda a definir la conducta y el tratamiento que se le debe suministrar al paciente, de igual forma tiene gran utilidad para hacer el seguimiento a la respuesta terapéutica.



Fuente: Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento. 2015. Instituto Nacional de Salud.

El principio del recuento en términos generales establece una relación del número de parásitos presentes en 200 leucocitos y el número de leucocitos por mm^3 del paciente; cuando se usa este método, generalmente se asume que el recuento leucocitario promedio de los individuos es 8000 leucocitos/ μL , así:

$$\# \text{ de parásitos}/\mu\text{L de sangre} = \frac{\# \text{ de parásitos} \times 8000 \text{ leucocitos}/\mu\text{L de sangre}}{200 \text{ leucocitos}}$$



Cuando se tienen parasitemias muy altas en la gota gruesa, y para posibilitar el recuento, se procede aplicar la siguiente fórmula:

$$\# \text{ de parásitos}/\mu\text{L de sangre} = \frac{500 \text{ parásitos contados} \times 8000 \text{ leucocitos}/\mu\text{L de sangre}}{\# \text{ de leucocitos contados}}$$

Diagnóstico de malaria utilizando pruebas rápidas

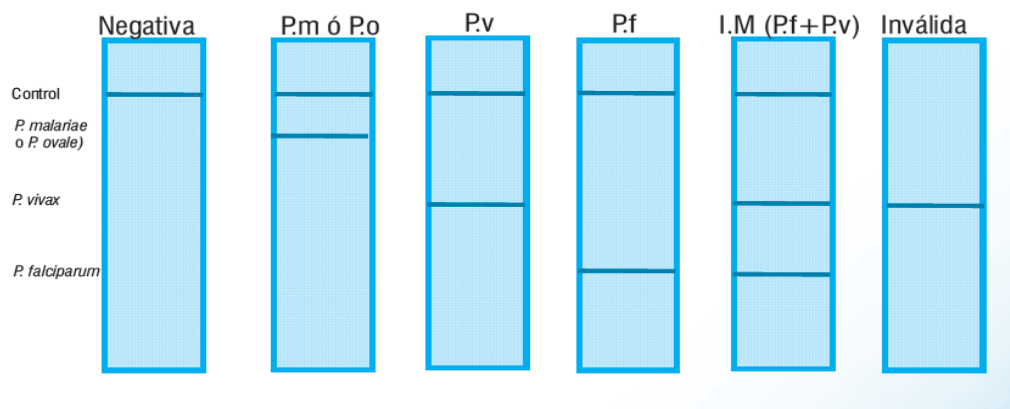
Las Pruebas de Diagnóstico Rápido (PDR) deben ser aplicadas en situaciones en donde el diagnóstico microscópico no es factible y para lograr notificación epidemiológica en estas áreas. Un escenario ideal del uso de las pruebas es en áreas rurales de población dispersa y de difícil acceso geográfico y que no cuente con diagnóstico por microscopía.

La PDR es un dispositivo que cuenta con un papel de nitrocelulosa que tiene proteínas fijadas en él (también llamadas anticuerpos) que se unen a los antígenos del parásito presentes en los glóbulos rojos de la muestra. Cuando se presenta la unión del antígeno y el anticuerpo específico se evidencia por una reacción de color violeta a expensas del conjugado (segundo anticuerpo marcado) que se encuentra en el lugar donde son liberados los antígenos uniéndose a ellos. Esta unión migra por la nitrocelulosa y es capturada por el anticuerpo monoclonal ubicado en la banda de reacción. Un ejemplo del diseño general de una PDR para la detección de antígenos.

Procedimiento para el montaje de una PDR

- Siempre se debe respetar la cantidad de sangre utilizada en el método, ni menos volumen debido a que se disminuye la sensibilidad, ni mayor volumen ya que la PDR no se lava adecuadamente. Este aspecto es un error común en el montaje de la PDR, por lo que se debe utilizar de manera adecuada el instrumento dispuesto por el fabricante para este fin.

- Se deposita la sangre en la ventana que indica el fabricante para la muestra.
- Agregar el buffer en la cantidad que indica el inserto.
- Espere el tiempo que dice el fabricante. Generalmente se indica un tiempo máximo en el instructivo, éste debe respetarse y hacer la lectura.
- Todas las pruebas rápidas utilizadas deben tener reacción en la línea de control. Si esta línea no da reacción de color se interpreta como una prueba inválida.
- Cuando se obtiene un resultado inválido o dudoso se debe repetir el diagnóstico con una nueva PDR.



Fuente: Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento. 2015. Instituto Nacional de Salud.

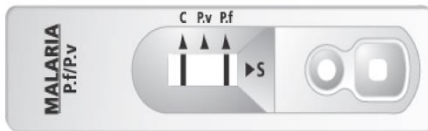
El docente mostrará los diferentes tipos de tejido conectivo, observando en los preparados histológicos la disposición de las fibras, tipos celulares y el órgano donde se encuentra.

Los estudiantes proceden a observar al microscopio en 4x, 10x y 40x, según sea necesario, para alcanzar los objetivos de la práctica.

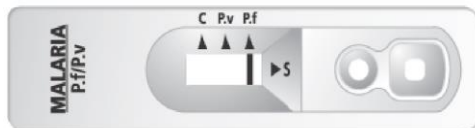
V. TALLER DE PREGUNTAS

a) Realice el informe de resultados de cada una de los siguientes casos y de las indicaciones y recomendaciones acorde a cada situación.

- María proviene de Cauca, Antioquia y lleva 8 días con fiebre y escalofrío por lo cual se le realiza una PDR para Malaria; después de realizar la técnica siguiendo las indicaciones obtengo el siguiente resultado:



- Se realiza una PDR para malaria a un paciente con impresión clínica de malaria; después de realizar la técnica siguiendo las indicaciones obtiene el siguiente resultado:



Indique, como informa esta prueba, qué se debe hacer ante esta situación.



PRÁCTICA N° 3.

PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE TUBERCULOSIS

I. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica producida por miembros del complejo *Micobacterium tuberculosis*, el cual puede afectar cualquier órgano o tejido, sin embargo la forma más común de la enfermedad es la pulmonar, cuyo principal síntoma es la presencia de tos con expectoración por más de 15 días. Se transmite principalmente por la inhalación de microgotas suspendidas en el aire que contienen el bacilo expulsadas por personas con tuberculosis. Es considerada como un problema de salud pública a nivel mundial, siendo una de las primeras causas de morbilidad en la región de las Américas y Colombia.

El diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis se basa en confirmar la presencia del agente causal en la muestra a procesar, mediante baciloscopia, cultivo y/o pruebas moleculares. La demostración bacteriológica del bacilo es criterio suficiente para hacer diagnóstico. A todo caso presuntivo de tuberculosis pulmonar se le debe realizar una baciloscopia seriada de esputo, siendo esta la técnica de elección para el diagnóstico rápido y el control del tratamiento antituberculoso (7).

Ensayos de laboratorio asociados al diagnóstico de tuberculosis

Baciloscopia: es la técnica mediante la cual se realiza la búsqueda microscópica de BAAR mediante la coloración de Ziehl Neelsen en cualquier espécimen clínico. Es el método de diagnóstico de mayor aplicación debido a su sencillez y bajo costo, útil para detectar casos y realizar el seguimiento al tratamiento.



Cultivo: el cultivo es el método de diagnóstico bacteriológico de tuberculosis de mayor sensibilidad; en el caso de sospecha de tuberculosis extrapulmonar es el mejor método de diagnóstico.

Pruebas de sensibilidad a los fármacos: las pruebas de sensibilidad buscan detectar los casos resistentes, permitiendo otorgar el mejor tratamiento al paciente y evitando la propagación de la enfermedad a otras personas. Éstas se deben realizar a todos los casos de tuberculosis nuevos y previamente tratados. Los ensayos disponibles son las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos y los métodos convencionales.

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Conocer e interpretar las diferentes técnicas de laboratorio estandarizadas para el diagnóstico de la tuberculosis para lograr una adecuada la clasificación del paciente.

Objetivos específicos

- Identificar bacilos ácido alcohol resistente en muestras de esputo coloreadas.
- Interpretar resultados de pruebas moleculares avaladas por la OMS para el diagnóstico de tuberculosis y resistencia a fármacos de primera línea.

III. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

Placas coloreadas de baciloscopia, hojas para reporte de baciloscopia, kit de coloración de Ziehl Neelsen, bandeja de coloración, mecheros, bajalenguas, alcohol, laminas portaobjetos, lápiz de cera, microscopios.

IV. PROCEDIMIENTO

Para que el laboratorio pueda obtener resultados confiables, no sólo es necesario que ejecute las técnicas correctamente. También necesita recibir una buena



muestra, entendiéndose por tal la que proviene del sitio de la lesión que se investiga, obtenida en cantidad suficiente, colocada en un envase adecuado, bien identificada, conservada y transportada.

La muestra más examinada es el esputo debido a que, como se ha dicho, la tuberculosis pulmonar es la más frecuente. Sin embargo, dado que la enfermedad puede manifestarse en cualquier órgano, con menor frecuencia puede requerirse la investigación de muestras muy variadas: orina, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, líquido ascítico, sangre, pus de cavidades abiertas, biopsias. Estas muestras de lesiones extrapulmonares deben procesarse también por cultivo.

Toma de muestras para tuberculosis pulmonar

1. Frasco grande de boca ancha, para que la persona sintomática respiratoria escupa el esputo, gargajo, flema o catarro, dentro del frasco.
2. El paciente debe tomar aire profundamente por la nariz.
3. Retener el aire en los pulmones por varios segundos.
4. Toser fuertemente inclinándose un poco hacia adelante para eliminar la Flema (catarro, gargajo, esputo).
5. Depositar la flema (catarro, gargajo, esputo) en el recipiente.
6. Repetir los pasos 2,3,4 y 5 por tres veces para obtener una buena cantidad de flema.
7. El frasco debe cerrar bien, para que no se salga la muestra.
8. Se deben tomar muestras seriadas, en días distintos, con un mínimo de tres muestras seguidas, y deberán ser tomadas preferiblemente al momento de levantarse en la mañana. Como la eliminación de los bacilos por el esputo no es constante, es conveniente analizar más de una muestra de cada sintomático respiratorio para el diagnóstico de la tuberculosis.
9. Cada muestra debe ser llevada al laboratorio en el menor tiempo posible.

10. Marcar cada frasco con el nombre del paciente y la fecha de recolección de la muestra.

Preparación del extendido

Antes de iniciar, debe portar el equipo de protección personal completo, ubicar de manera ordenada las muestras sobre una bandeja con un papel humedecido con Hipoclorito de Sodio al 2,5%.

Destapar el contenedor y seleccionar la partícula más purulenta de la muestra, extender homogéneamente en un pequeño óvalo centrado en el portaobjeto que debe estar limpio, libre de rayones y desengrasado. Dejar secar y proceder con la coloración (Ziehl Neelsen o la de Auramina).

Coloración Ziehl Neelsen



Cubrir el extendido en placa con Fucsina Filtrada.



Calentar hasta Emisión de Vapores tres veces durante minutos.



Lavar con Agua.



Cubrir con Decolorante por tres minutos.



Lavar Con Agua.



Cubrir con Azul de metileno durante 1 minuto.



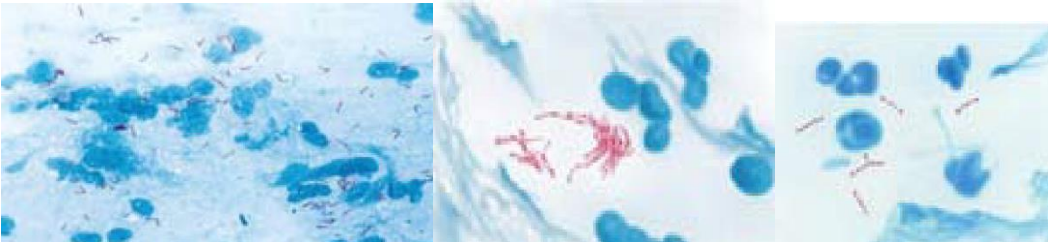
Lavar con agua.



Dejar secar al aire.

Fuente: Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Normas y guía técnica, Parte 1. 2008. Organización Panamericana de la salud.

Después de dejar secar las placas coloreadas, ya están listas para realizar la lectura en el microscopio, donde podremos encontrar los bacilos ácido-alcohol resistentes; Con la coloración de Ziehl Neelsen se observan bastoncitos delgados, ligeramente curvos, rojo fucsia, destacándose claramente contra el fondo azul (8).



Fuente: Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Normas y guía técnica, Parte 1. 2008. Organización Panamericana de la salud.

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE LA BACILOSCOPIA.

1. Depositar una gota de aceite de inmersión en un extremo del frotis, sin tocar el preparado con el gotero.
2. Enfocar el extendido donde ha colocado la gota de aceite con la lente 100x de inmersión.
3. Observar cada campo microscópico en superficie y profundidad, moviendo permanentemente el tornillo micrométrico, antes de desplazarse al campo contiguo.
4. Seguir un recorrido en líneas rectas, sistemático para recorrer el extendido evitando repetir la lectura de algunos campos. Ej.: de izquierda a derecha:



5. Observar la calidad del extendido y de la coloración. Si no fuesen buenas, repetir nuevamente la baciloscopia de esa muestra.
6. Contar el número de campos que ha leído y el número de BAAR que ha identificado. Se puede utilizar una cuadrícula de 10 cuadrados por 10 cuadrados, que representan los 100 campos microscópicos, como ayuda para registrar la cuenta. En cada cuadrado anotar el número de BAAR que se observa. Si no observa BAAR consignar 0.

0	0	1	0	4	0	0	0	2	5
7	3								

Fuente: Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Normas y guía técnica, Parte 1. 2008. Organización Panamericana de la salud.

7. Para calcular el promedio de BAAR encontrados por campo, sumar el total de BAAR contados y dividir ese total por el número de campos observados. Cuando los bacilos se presentan agrupados, una estimación aproximada del número de bacilos presentes en el cúmulo es suficiente para calcular este promedio.



Promedio de BAAR encontrados	Número mínimo de campos útiles a examinar
Ninguno	100
Menos de 1 por campo	100
1 a 10 por campo	50
Más de 10 por campo	20
De 1 a 9 en todo el extendido	100

Fuente: Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Normas y guía técnica, Parte 1. 2008. Organización Panamericana de la salud.

INFORME DE LOS RESULTADOS

La siguiente es la escala adoptada internacionalmente para el informe de los resultados de extendidos examinados por la técnica de Ziehl Neelsen:

Resultado del examen microscópico	Informe
No se encuentran BAAR en los 100 campos observados	No se observan bacilos ácido-alcohol resistentes
Se observan de 1 a 9 BAAR en 100 campos observados	N° exacto de bacilos en 100 campos
Se observa entre 10 y 99 BAAR en 100 campos observados	Positivo (+)
Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados	Positivo (+++)

El informe utilizando la escala semicuantitativa estandarizada asegura la reproducibilidad de los resultados y permite evaluar

- La gravedad de la enfermedad.
- La infectividad del paciente.
- La evolución del paciente bajo tratamiento.

Fuente: Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Normas y guía técnica, Parte 1. 2008. Organización Panamericana de la salud.



V. TALLER DE PREGUNTAS

- a) Realice el informe de resultados de acuerdo a la muestra evaluada. Diga cuál es el protocolo a seguir.



PRÁCTICA N° 4.

INMUNOENSAYO PARA EL DIAGNÓSTICO IN VITRO DE VIH-1 Y VIH-2

I. INTRODUCCIÓN

La pandemia por VIH/sida ha generado numerosas pérdidas humanas, deterioro de la calidad de vida de millones de personas, consecuencias económicas negativas derivadas del incremento de los recursos necesarios para la atención en salud, la incapacidad médica y muerte de miles de personas en edad productiva que la sitúan como uno de los mayores desafíos para la humanidad (9).

Para diagnóstico por laboratorio de la infección por VIH hay una gran variedad de ensayos de laboratorio, el tipo de ensayo y la secuencia en la que se realizan están establecidos en las guías de práctica clínica basadas en la evidencia científica para el VIH.

Ninguna detección del VIH/SIDA debe utilizarse para fines ajenos a los de protección de la salud del individuo; que no debe solicitarse como requisito para el acceso a bienes y servicios; que debe regirse por los principios de consentimiento informado y confidencialidad; y que la entrega del resultado debe hacerse de forma individual, por personal capacitado y, sobre todo, siempre con previa consejería.

Inmunoensayos: Los inmunoensayos son técnicas inmunoquímicas analíticas y se fundamentan en la gran afinidad y especificidad de los anticuerpos por sus antígenos específicos. Todos los inmunoensayos que se usen en el diagnóstico de VIH deben tener una sensibilidad mayor al 99,5 % y su respectivo registro INVIMA. Los inmunoensayos más utilizados para el diagnóstico de VIH en Colombia son los enzimoensayos (EIA) tales como pruebas rápidas, Elisa, ELFA y quimioluminiscencia (10).

Dentro de las más utilizadas en Colombia están:



- Tercera generación: son aquellos que permiten detectar anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana del tipo 1 (grupo M y O) y tipo 2.
- Cuarta generación: son aquellos que permiten detectar antígenos (proteína p24 para el caso del VIH) y anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana del tipo 1 y tipo 2.

Ensayos de prueba rápida: son pruebas para el diagnóstico de VIH, que pueden ser de tercera o cuarta generación. La simplicidad y rapidez de las pruebas rápidas permiten su uso en sangre total, suero, plasma, fluido oral y orina, dentro y fuera del laboratorio y la entrega inmediata del resultado, sin embargo, dependen de la experticia del operador para la correcta interpretación de los resultados.

Ensayo de Elisa: son pruebas para el diagnóstico de VIH, que pueden ser de tercera o cuarta generación, utilizando muestras de suero y plasma, las cuales deben ser realizadas en el contexto del laboratorio, ya que se necesita de la capacidad instalada y la experiencia de quien realiza el procesamiento.

Ensayos inmunoblots: su uso previsto es para confirmar resultados discordantes (reactivo – no reactivo) entre dos enzimoimmunoensayos.

Los ensayos disponibles utilizan dos tipos de antígenos:

- Western Blot: utiliza antígenos propios del virus.
- Inmunoensayo en línea (LIA): utiliza antígenos de péptidos sintéticos y proteínas recombinantes virales.
- Carga Viral: es un marcador de la replicación viral que determina la cantidad de copias de ARN viral por ml de plasma. Se utiliza para diagnóstico, monitoreo del tratamiento antirretroviral, estimación del riesgo de transmisión.



II. OBJETIVOS

Objetivo general

Proporcionar orientación sobre las diferentes técnicas de laboratorio empleadas para la detección del virus del VIH de acuerdo a las guías de atención vigentes.

Objetivos específicos

- Describir el procedimiento para la adecuada realización e interpretación de pruebas rápidas empleadas en el diagnóstico de virus de inmunodeficiencia humana (VIH).
- Diferenciar técnicas para el diagnóstico por laboratorio del virus de inmunodeficiencia humana (VIH).

III. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

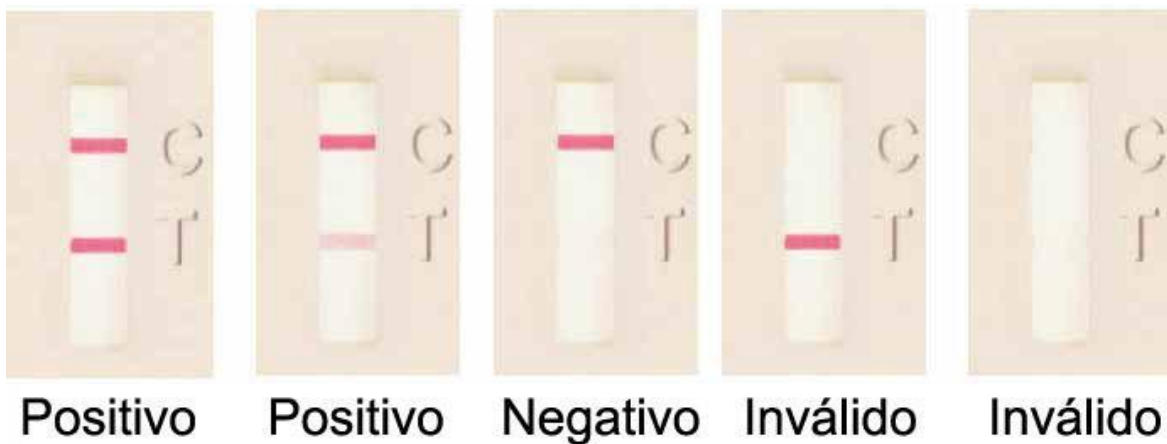
Kit de inmunocromatografía para la detección de anticuerpos anti-HIV-1 y anti-HIV-2 en suero, plasma y sangre entera, micropipeta automática para medir los volúmenes indicados, tips descartables, cronómetro, material para extracción de muestra, material de protección personal, contenedor para el descarte de residuos biológicos.

IV. PROCEDIMIENTO

1. Los reactivos y las muestras deben estar a temperatura ambiente (18-30°C) antes de utilizar.
2. Extraer el cassette de su sobre sellado inmediatamente antes de utilizar.
3. Colocar el cassette sobre una superficie limpia, plana y sin vibraciones.
4. Agregar la muestra sobre la superficie absorbente del pocillo de muestra PARA SUERO O PLASMA. Colocar 10 μ L con micropipeta automática. Esperar 10-15 seg. hasta que se absorba la muestra.
5. Agregar 3 gotas (100 μ L) de Reactivo B en el pocillo de muestra.
6. Iniciar el cronómetro.

7. Leer los resultados entre los 20 y 30 minutos. No leer pasados los 30 minutos ya que pueden obtenerse resultados erróneos. Algunas muestras positivas reaccionan inmediatamente, mientras que otras lo hacen más lentamente dentro del tiempo de lectura indicado. Debido a características particulares de algunas muestras, el color de fondo de la membrana puede quedar ligeramente rosado sin afectar la interpretación de los resultados.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS



Fuente: https://www.pruebaespana.com/hiv_test_instructions

Resultado Positivo (2 líneas): se observan 2 líneas de color rosa-rojo púrpura, una en la zona de prueba "T" y otra en la zona de control "C". La intensidad de color de la línea "T" dependerá de la muestra en estudio. Cualquier color rosado visible, aunque sea muy tenue debe ser interpretado como positivo. El resultado es positivo aunque las intensidades del color de las líneas "T" y "C" sean diferentes.

Resultado Negativo (1 línea): se observa solamente una línea de color rojo-rosa púrpura en la zona de control "C". No aparece línea de color en la zona de prueba "T".

Resultado Inválido: la ausencia de la línea de color rosa-rojo púrpura en la zona de control "C" invalida el resultado, aunque esté o no presente la línea de color rosa-



rojo púrpura en la zona de prueba "T". Un resultado inválido generalmente indica un error en la realización del procedimiento o un problema con la muestra. Con determinadas muestras pueden aparecer dificultades como migración incompleta, muestra muy viscosa o presencia de fibrina. En cualquier caso, revisar el procedimiento, centrifugar nuevamente la muestra y repetir el ensayo utilizando un nuevo cassette.

V. TALLER DE PREGUNTAS

- a) Realice un esquema basado en el fundamento de la prueba.
- b) Realice el informe de resultados de acuerdo a la muestra evaluada.
- c) Qué otras pruebas se utilizan para el diagnóstico, confirmación y seguimiento del paciente con VIH.



PRÁCTICA N°5.

MARCADORES SEROLÓGICOS EN LA INFECCIÓN DE HEPATITIS B

I. INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) es causada por un virus de ADN, de la familia *Hepadnaviridae* del género *Orthohepadnavirus*, con envoltura externa proteolipídica, que infecta el hígado causando inflamación y necrosis hepatocelular. El ADN tiene cuatro marcos de lectura abiertos que codifican para las proteínas del CORE (Core y preCore), proteínas de superficie (PreS1, PreS2, y S), transcriptasa reversa (proteína Pol) y proteína X. La proteína del CORE también existe como una proteína soluble secretada, conocida como antígeno e.

La infección por este virus puede cursar de forma aguda o crónica, y una gravedad que varía desde la enfermedad asintomática hasta la enfermedad sintomática y progresiva y letal, el virus puede ser transmitido por exposición a sangre contaminada, las relaciones sexuales con coito y la infección materno infantil. En América Latina la principal vía de transmisión es la sexual, no obstante, las infecciones secundarias al uso de drogas parenterales, si bien no son comunes en la región, se encuentran en aumento (11).

Existen varios marcadores serológicos para Hepatitis B, sin embargo, son indispensables HBsAg, Anti-HBc IgM y Anti-HBc Total.

MARCADORES SEROLOGICOS

- **HBsAg (antígeno de superficie):** aparece muy pronto después de la infección. Si la evolución es favorable, desaparecerá paulatinamente. Por el contrario, su persistencia al cabo de 6-8 semanas es indicador de mal pronóstico y de evolución a la cronicidad. Si este marcador se mantiene positivo al sexto mes de



la infección, el paciente sufre una infección vírica persistente, que puede ser una infección crónica o una enfermedad hepática crónica.

- **Anti-HBs (anticuerpo frente al antígeno de superficie):** Es el indicador de recuperación de la enfermedad. Persiste durante muchos años y es capaz de neutralizar el virus y de conferir protección frente a la reinfección. En los individuos vacunados con respuesta inmunológica es el único marcador presente.
- **Anti-HBc total (IgG e IgM) (anticuerpos frente al antígeno del core):** es el primer anticuerpo que aparece y se mantiene positivo después de la curación, incluso en los casos en que el anti-HBs desaparece.
- **Anti-HBc IgM (anticuerpos IgM frente al antígeno del core):** es el primer anticuerpo que aparece tras la infección, por lo que es un indicador de infección aguda. Sin embargo, también puede detectarse en los casos de enfermedad crónica con replicación activa del virus y lesión hepática. Si no hay cronicidad, se mantiene positivo hasta 12- 18 meses.
- **HBeAg (antígeno e):** se detecta en el suero en la fase aguda y en algunas formas de enfermedad crónica que histológicamente suelen corresponder a patrones de hepatitis crónica activa. Tiene excelente correlación con la presencia de replicación del virus y viremia. La desaparición de este marcador suele indicar un buen pronóstico. Sin embargo, puede estar ausente en portadores crónicos de HBsAg con una replicación viral persistente, lo que supone la presencia de variantes pre-core defectuosas.
- **AntiHBe (anticuerpos frente al antígeno e):** Su aparición en la infección aguda indica buena evolución. En los casos de hepatitis crónica en los que coexiste con HBsAg suele indicar escasa actividad replicativa de la enfermedad vírica. Sin embargo, en las infecciones crónicas por variantes pre-core defectuosas, la seroconversión para anti-HBe no supone una mejoría ni clínica ni histológica.



- **ADN VHB:** La detección de ADN vírico en el suero constituye el marcador de elección para detectar la viremia y refleja la replicación del virus en los hepatocitos. Se postuló arbitrariamente el valor de 105 copias /ml (17.543 UI/ml) como el valor umbral para diferenciar los diferentes estadios de la hepatitis B y controlar a los pacientes con hepatitis crónica, pero se pueden observar casos de enfermedad hepática avanzada con valores menores. Por tanto, se ha establecido un valor de 5000 UI/ml para distinguir a los casos de hepatitis crónica y portadores crónicos (especificidad y sensibilidad del 90%).
- **Genotipificación y detección de mutantes resistentes al tratamiento antivírico:** El virus de la hepatitis B se divide en 8 grupos o genotipos (A-H), siendo los grupos A y D los más prevalentes en Europa; su significado clínico no está establecido, aunque cada vez hay más datos que apoyan el hecho de que hay asociación entre el genotipo y el curso clínico de la hepatitis B. También, se puede detectar la aparición de mutantes potencialmente resistentes al tratamiento (variantes pre-core defectuosas y mutantes resistentes a antivíricos) (12).

Periodo	ADN	HBsAg	HBeAg	HBcAc		HBeAc	HBsAc
				IgM	IgG		
Infección pasada	-	-	-	-	+	-/+	-
Respuesta a la vacuna	-	-	-	-	-	-	+
Infección aguda	+	+	+	+	-	-	-
Infección crónica	+	+	+/-	-	+	-/+	+
Portador inactivo	+	+	-	-	+	+	-

Fuente: Current knowledge on pathogeny, diagnosis and treatment of hepatitis B. Erika Santos Corraliza, Aurelio Fuertes Martin.

II. OBJETIVOS



Objetivo general

Reconocer los diferentes ensayos que se encuentran disponibles para realizar el diagnóstico, clasificación y seguimiento de los pacientes con Hepatitis B.

Objetivos específicos

- Describir el procedimiento para la adecuada realización e interpretación de pruebas rápidas empleadas en el tamizaje de infección por Hepatitis B.

III. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

Kit de prueba rápida para la detección de anticuerpos anti-VHB en suero, plasma y sangre total, micropipeta automática para medir los volúmenes indicados, tips descartables, cronómetro, material para extracción de muestra, material de protección personal, contenedor para el descarte de residuos biológicos.

IV. PROCEDIMIENTO

Es un inmunoensayo cualitativo de membrana para la detección del antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B (HBsAg) en suero o plasma humano. La membrana está recubierta por anticuerpos anti-HBsAg en la región de la banda de la prueba. Durante el ensayo, la muestra reacciona con la partícula recubierta con anticuerpos anti-HBsAg. La mezcla migra a lo largo de la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con los anticuerpos anti-HBsAg de la membrana generando una línea de color. Antes de realizar la prueba es necesario verificar los procedimientos indicados en el estuche ya que puede presentar variaciones por cada casa comercial.

Interpretación de los Resultados

Positivo: aparecen dos líneas rojas distintivas. Una línea en el área de control (C) y la otra en el área de prueba (T).



Fuente: <http://www.annardx.com/productos/images/productos/diagnostica/pruebas-rapidas/ad0042chbsagcombo.rev1.11401202805.pdf>

Negativo: una línea roja aparece en el área de control (C). No aparece una línea roja o rosada en el área de prueba (T).



Fuente: <http://www.annardx.com/productos/images/productos/diagnostica/pruebas-rapidas/ad0042chbsagcombo.rev1.11401202805.pdf>

Inválida: la línea de control no aparece. Las razones más comunes para una prueba inválida son utilizar cantidad insuficiente de muestra o no seguir los pasos debidos del procedimiento.



Fuente: <http://www.annardx.com/productos/images/productos/diagnostica/pruebas-rapidas/ad0042chbsagcombo.rev1.11401202805.pdf>

V. TALLER DE PREGUNTAS

- Realice el algoritmo diagnóstico en los pacientes con infección crónica por virus de la Hepatitis B.
- ¿Cuál es la utilidad del monitoreo del DNA del virus de la Hepatitis B?
- ¿Qué es una infección oculta del VHB?



BIBLIOGRAFÍA

1. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. OMS | Enfermedades tropicales [Internet]. WHO. World Health Organization. 2018 [cited 2018 Nov 21]. Available from: https://www.who.int/topics/tropical_diseases/es/
2. Fink S. Bioseguridad: una responsabilidad del investigador. Med (Buenos Aires) [Internet]. 2010 [cited 2018 Nov 21];70(3):299–302. Available from: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802010000300018&lng=es&tlng=es
3. Ministerio de Salud y Protección Social, Federación Médica Colombiana. Memorias © 2012 - 2013. ILADIBA Educ En Salud. 2013;1–31.
4. Abbott. Instructivo de uso SD Dengue Duo [Internet]. [cited 2018 Nov 20]. Available from: http://sistemainterno.com/web/gaamsa/files/2013/10/ficha_tecnica_dengue_duo_sd.pdf
5. Phillips MA, Burrows JN, Manyando C, van Huijsduijnen RH, Van Voorhis WC, Wells TNC. Malaria. NatRevDis Prim [Internet]. 2017 Aug 3 [cited 2018 Nov 21];3:17050. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrdp201750>
6. Zambrano P. Protocolo de vigilancia en salud pública - Malaria. Pública V y análisis del riesgo en salud, editor. Bogotá; 2017. 19 p.
7. Polo CL, Zabaleta AP. Guía para la vigilancia por laboratorio de tuberculosis. Pública D de redes en S, editor. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2017. 1-22 p.
8. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte I: Baciloscopia. OrganPanam la Salud. 2008;64.



9. de la Hoz F, Martínez Duran ME, Pacheco García OE, Quijada Bonilla H, Cuéllar Espitia NC, Análisis Del Riesgo En Salud Pública Protocolo De Vigilancia En Salud Publica VY. VIH-SIDA Enfermedades Transmisibles [Internet]. Instituto Nacional de Salud, editor. Bogotá; 2014 [cited 2018 Nov 23]. 1-28 p. Available from: <http://scc.org.co/wp-content/uploads/2017/10/Protocolo-VIH-INS.pdf>
10. Abella C. Guía para la vigilancia por laboratorio del Virus de Inmunodeficiencia Humano-VIH [Internet]. Instituto Nacional de Salud, editor. Bogotá; 2017 [cited 2018 Nov 23]. 1-26 p. Available from: [https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin de laboratorio/Guía Vigilancia por laboratorio VIH.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Gu%C3%ADa%20Vigilancia%20por%20laboratorio%20VIH.pdf)
11. Cuellar C, Sabogal AL. Protocolo de vigilancia en salud pública hepatitis b, c y coinfección/superinfección hepatitis b-delta [Internet]. Instituto Nacional de Salud, editor. Bogotá; 2017 [cited 2018 Nov 23]. 1-18 p. Available from: http://www.dadiscartagena.gov.co/images/docs/saludpublica/vigilancia/protocolos/p2018/pro_hepatitis_B_C_delta_2018.pdf
12. Beltrán Ó, Rosas M, Garzón OM. Revista colombiana de gastroenterología. RevColombGastroenterol [Internet]. 2005 [cited 2018 Nov 23];20(2):12–33. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572005000200004



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

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

