



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO. División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Mtra. María Elena Contreras Garfias

Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprob
	16	7	2018	

Datos del Alumno

Nombre : Alex Najera Aguilar	
Matricula : 2142033941	Licenciatura : Quimica Farmacéu
Domicilio : Antropólogos #25-A Col. Apatlaco, Alcaldía Iztapalapa	
Teléfono : 5526212870	Celular : 553702
Correo Electrónico : al-explosion@hotmail.com	CURP :

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto : Conservación del cepario del laboratorio de				
Lugar donde se realizó el Servicio Social : Laboratorio de biología exp				
Dependencia : Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco				
Entidad Federativa : Distrito Federal				
Municipio : Coyoacán				Localidad :
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Términ
	16	7	2018	

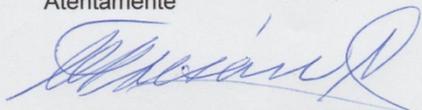
Ciudad de México, 8 de enero de 2021

Dr. Juan Esteban Barranco Florido
Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos

Por medio de la presente informo a usted que el alumno : **Alex Nájera Aguilar** con número de matrícula **2142033941**, quién cursó la Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica ha concluido satisfactoriamente su servicio social en el Laboratorio de Biología Experimental con el proyecto "**Conservación del cepario del Laboratorio de Biología Experimental**", en el periodo comprendido del 16 de julio de 2018 al 18 de febrero de 2019, cumpliendo con un total de 480 horas como marca el reglamento de Servicio Social.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente



M. en C María Cristina Fresán Orozco

No. Econ. 3829



Ciudad de México, 09 de enero de 2021

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
DIRECTOR

Por este conducto hago de su conocimiento que el alumno **Alex Nájera Aguilar**, matrícula – **2142033941**– ha cumplido en tiempo y forma de los objetivos propuestos en el proyecto de servicio social titulado “**Conservación del cepario del Laboratorio de Biología Experimental**” de la carrera de Química Farmacéutica Biológica de esta Unidad. Dicho proyecto se llevó a cabo del 16 de julio de 2018 al 18 de febrero del 2019.

Sin más por el momento aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo, quedando de Ud.

Atentamente,
"CASA ABIERTA AL TIEMPO"

Dra. Ana Laura Esquivel Campos
No. Ec. 33148



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DEPARTAMENTO: SISTEMAS BIOLÓGICOS
LICENCIATURA QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

CONSERVACIÓN DEL CEPARIO DEL
LABORATORIO DE BIOLOGÍA
EXPERIMENTAL

Alumno: Alex Nájera Aguilar
Matrícula: 2142033941

Asesoras:
María Cristina Fresán Orozco
Ana Laura Esquivel Campos

Fecha: Enero, 2021

Índice

Introducción	3
Marco teórico	3
Objetivos	9
Materiales y métodos	9
Resultados	11
Análisis de resultados	18
Conclusiones	18
Objetivos y metas alcanzados	19
Bibliografía	19
Resumen	22
Vo. Bo. De los contenidos académicos	24

Introducción

Las colecciones microbianas referidas como “ceparios”, son centros de recursos genéticos que preservan a los microorganismos, garantizando la disponibilidad de dicho material biológico para actividades de docencia e investigación.

Las colecciones de microorganismos se desarrollaron a finales del siglo XIX, con el propósito de figurar como repositorios de los recursos biológicos para impulsar el desarrollo de las ciencias; la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) reconoce a este tipo de iniciativas como fuentes sustentables para acceder a dichas fuentes biológicas.

El cepario del Laboratorio de Biología Experimental se debe mantener en buenas condiciones con el objetivo de atender las necesidades de la UAM en cuanto al suministro de cepas para la enseñanza experimental de las asignaturas que se imparten en la misma.

El trabajo que se presenta a continuación es una pequeña muestra del desarrollo del proceso de mantenimiento y conservación de un cepario, para su utilidad académica y experimental.

Marco Teórico

Cepario

Los ceparios son el sitio de depósito no solo de cepas de referencia, sino también de microorganismos aislados, caracterizados e identificados a partir de muestras de origen humano, obtenidas de investigaciones realizadas en diferentes periodos de tiempo, habilitando así su categoría como cepas de referencia. La preservación de los microorganismos de la colección debe garantizar su viabilidad en estado inactivo, puro y homogéneo, bajo condiciones que aseguren la estabilidad microscópica, macroscópica, bioquímica, fisiológica y genética, es decir, sin variaciones fenotípicas ni mutaciones con respecto a las condiciones originales¹

Medios de cultivo

Un medio de cultivo es una preparación sólida o líquida empleada para cultivar, transportar y almacenar microorganismos. Para ser efectivo, el medio debe contener todos los nutrientes que el microorganismo necesita para multiplicarse.²

Algunas de las propiedades más importantes de un medio de cultivo son esterilidad, pH, promoción de crecimiento, facilidad para la recuperación de los microorganismos de interés, selectividad (Inhibición de los microorganismos no deseados).

Los medios especializados son esenciales en el aislamiento y en la identificación de microorganismos, en ensayos de sensibilidad a antibióticos, análisis de alimentos y de agua, microbiología industrial, y otras actividades. Aunque todos los microorganismos necesitan fuentes de energía, carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y varios minerales, la composición precisa de un medio satisfactorio dependerá de la especie que se desea cultivar, pues las necesidades nutricionales varían enormemente. El conocimiento del hábitat normal del microorganismo suele ser útil para seleccionar un medio de cultivo apropiado, ya que sus necesidades nutricionales son un reflejo de su entorno natural. Frecuentemente se usa un medio para seleccionar y cultivar microorganismos específicos o para ayudar en la identificación de una especie en particular, en estos casos, la función del medio también determinará su composición.²

Un medio del cual conocemos todos sus componentes químicos se denomina medio definido o sintético, puede existir en forma líquida (caldo) o solidificada por la adición de un agente como el agar, los medios que contienen algunos ingredientes de composición química desconocida son los medios complejos. Estos medios son muy útiles, pues un único medio complejo puede ser suficientemente rico para satisfacer completamente las necesidades nutricionales de un microorganismo, y por tanto no se puede diseñar un medio definido. Esto ocurre, por ejemplo, con muchas bacterias exigentes que presentan requerimientos inusuales de cultivo o nutricionales: pueden incluso necesitar un medio conteniendo sangre o suero.³

Tanto los medios definidos como los complejos pueden ser solidificados con la adición de agar a una concentración entre 1% y 2%: lo más común es emplearlo al 1.5%.

El agar es un polímero sulfatado compuesto principalmente por D-galactosa, 3,6-anhidro-L-galactosa y ácido D-glucurónico; generalmente es extraído de algas rojas.⁴

El agar es un buen agente solidificante por varias razones: una razón es que se funde a unos 90° C pero, una vez fundido, no se endurece hasta que alcanza los 45° C aproximadamente. Por eso, después de ser fundido, en agua hirviendo, puede

ser enfriado hasta una temperatura tolerable para las manos humanas y para los microorganismos, además, los microorganismos pueden ser cultivados en un medio con agar en un amplio rango de temperaturas. Finalmente, el agar es un excelente agente endurecedor porque la mayoría de los microorganismos no pueden degradarlo.³

Brain Heart Infusion (BHI)

Es un medio de uso general adecuado para el cultivo de una amplia variedad de tipos de organismos, incluidos las bacterias, levaduras y hongos filamentosos, a partir de muestras clínicas.⁵

La infusión de cerebro y corazón ha resultado ser efectiva en el cultivo de una amplia variedad de microorganismos, incluidos muchos tipos de patógenos. Se ha utilizado como medio base para las nuevas fórmulas de medios de cultivo cuando se suplementa con sangre o agentes selectivos. Se recomienda actualmente como medio universal para bacteriología aerobia y para la recuperación primaria de hongos y *Actinomycetales* a partir de muestras clínicas y no clínicas. Obtiene los nutrientes de la infusión de cerebro y corazón, la peptona y la glucosa. Las peptonas y la infusión son fuentes de nitrógeno orgánico, carbono, azufre, vitaminas y sustancias de traza. La glucosa es la fuente de carbohidratos que los microorganismos utilizan mediante fermentación. Se utiliza fosfato disódico como tampón en el medio.⁵

Sus principales componentes son infusión de cerebro y corazón, digerido péptico de tejido animal, digerido pancreático de caseína, cloruro sódico, glucosa y fosfato disódico de hidrógeno.⁵

Agar MacConkey

Agar MacConkey es un medio ligeramente selectivo que ofrece una excelente diferenciación entre bacilos entéricos gram negativos, bacilos entéricos no fermentadores de lactosa y los que fermentan lactosa, heces, orina, alimentos, aguas residuales y otros materiales de importancia sanitaria.

Este medio se prepara de acuerdo con las recomendaciones del método armonizado USP / EP / JP para la detección de *E. coli* en productos farmacéuticos no estériles.⁶

Está compuesto por digerido pancreático de gelatina, peptona de carne, peptona de caseína, lactosa, cloruro de sodio, sales biliares, agar, rojo neutro y violeta cristal.⁶

La digestión pancreática de gelatina y peptonas de carne y caseína proporciona aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales para el crecimiento de organismos. La lactosa es el carbohidrato fermentable. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico del medio. Las sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben los organismos grampositivos y permiten que crezcan las bacterias gram negativas. El agar es el agente solidificante. El rojo neutro es el indicador de pH.⁶

Agar Pseudomona

Es un medio diferencial utilizado para identificar *Pseudomona Aeruginosa* de otras *Pseudomona Spp.* Basado en la producción de piocianina.⁷

Está compuesto por peptona de carne, peptona de gelatina, sulfato de potasio, cloruro de magnesio y agar.⁷

P. Aeruginosa es la única especie de bacteria conocida que produce piocianina, un pigmento azul verdoso que se difunde en el agar alrededor de su crecimiento. Las peptonas de gelatina y carne proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano, estas peptonas contienen menos del 0,1% de fósforo, que se ha encontrado que aumenta la producción de piocianina. El cloruro de magnesio y el sulfato de potasio en una cantidad total que no exceda el 2% estimula la producción de piocianina.⁷

Agar Sangre

Medio utilizado para aislamiento de numerosos microorganismos, al ser suplementado con sangre, permite el crecimiento de organismos con nutrición exigente y la visualización de reacciones de hemólisis.⁸

Está compuesto por infusión de músculo de corazón, peptona, cloruro de sodio y agar.⁸

La infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de variedad de microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es agente solidificante. El agregado de 5 a 10 % de sangre promueve el desarrollo de bacterias exigentes en requerimientos nutricionales y la adecuada observación de hemólisis.⁸

Agar Salmonella-Shigella

Es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento de bacilos entéricos patógenos, en especial los pertenecientes al género *Salmonella*, a partir de muestras clínicas.

Es una modificación del agar citrato desoxicolato descrito por Leifson¹. Se le considera un medio moderadamente selectivo según el nivel de inhibición de los microorganismos gram positivos y *Enterobacteriaceae* diferentes de *Salmonella* y *Shigella*, que inhibe por contenido de sales biliares, verde brillante y citratos.

La diferenciación de los organismos entéricos se logra mediante la incorporación de lactosa en el medio. Los organismos que fermentan lactosa producen ácido que, en presencia del indicador rojo neutro, propicia la formación de colonias de color rojo. Los organismos no fermentadores de lactosa forman colonias incoloras. Este último grupo incluye la mayoría de los patógenos intestinales, incluidas *Salmonella* y *Shigella*. El tiosulfato sódico y el citrato férrico permiten la detección de producción de ácido sulfhídrico, como lo demuestran las colonias con centros de color negro. Este medio se utiliza para el aislamiento primario de *Salmonella* a partir de muestras fecales humanas⁹.

Está compuesto por extracto de carne bovina, digerido pancreático de caseína, digerido péptico de tejido animal, lactosa, sales biliares, citrato sódico, tiosulfato sódico, citrato férrico, rojo neutro, agar y verde brillante.

Agar Dextrosa Sabourand

Es un medio no selectivo para el cultivo y mantenimiento de hongos patógenos y no patógenos, en especial dermatofitos. Se logra selectividad mediante la adición de cloranfenicol.

Es un medio de peptona suplementado con dextrosa para favorecer el crecimiento de hongos. Las peptonas son fuentes de factores de crecimiento nitrogenados. La dextrosa proporciona una fuente de energía para el crecimiento de microorganismos. El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro con efecto inhibitor para una amplia variedad de bacterias gramnegativas y positivas cuando se agrega a la fórmula.

Está compuesto por digerido pancreático de caseína, digerido péptico de tejido animal, dextrosa y agar¹⁰.

Pruebas bioquímicas de diferenciado

Son un conjunto de ensayos químicos que se realizan a los microorganismos presentes en una muestra con la finalidad de identificarlos; estos microorganismos suelen ser bacterias. Sin embargo, la elección de estas pruebas se basa en hallazgos preliminares, como el patrón de tinción de Gram y los caracteres de crecimiento, que permiten asignar la bacteria a una categoría particular. Las pruebas bioquímicas se basan principalmente en las propiedades metabólicas de cada tipo de bacteria.

No todas las bacterias poseen las mismas propiedades, por lo cual se investiga si estas poseen alguna enzima en particular mediante la adición del sustrato y esperando a que ocurra la reacción. Comúnmente esta determinación viene dada por un cambio de color o de pH en el medio de cultivo.

Rojo de Metilo (RM) / Vogues Proskauer (VP)

Esta prueba se realiza para determinar la capacidad de un organismo de fermentar glucosa con producción de ácido por vía ácido-mixta o con la producción de acetoina por vía butanodiólica. En VP color rosado rojizo es positivo para acetoina, producto de fermentación de la glucosa. En RM coloración roja es positiva para ácidos por la fermentación de glucosa.

Ureasa

Muestra la capacidad de los microorganismos para hidrolizar la urea, formando dos moles de amoníaco por la acción de la enzima ureasa.

Citrato de Simmons

Se utiliza para la diferenciación de los bacilos gramnegativos. Permite la detección de citrato sódico como fuente única de carbono y energía para las bacterias

Kligler

Favorece la diferenciación de bacilos gramnegativos por fermentación de lactosa y dextrosa. Se observa producción de gas al ver burbujas o una fractura en el medio solidificado.

Medio SIM (Sulfide Indole Motility)

Indica movilidad y producción de indol y sulfuro de hidrógeno en un medio semisólido.

Objetivos

General:

- Conservar cepas gran positivas, gran negativas y hongos por el método de congelación.

Particulares:

- Cultivar, identificar y criopreservar bacterias grampositivas
- Cultivar, identificar y criopreservar bacterias gramnegativas
- Cultivar, identificar y criopreservar hongos

Materiales y métodos

Materiales

Pruebas bioquímicas de identificación:

- Rojo de metilo (RM)
- Vogues Proskauer (VP)
- Citrato de Simmons
- Medio Sulfide Indole Motility (SIM)
 - a) H₂S
 - b) Motilidad
 - c) Indol
- Ureasa
- Kligler
 - a) Prod. Gas (fractura del medio)
 - b) Ác. De glucosa (rosa/amarillo)
 - c) Ác. De lactosa ((amarillo/amarillo)

Agares:

- Agar MacConkey
- Agar Pseudomona
- Agar Sangre
- Agar Salmonella-Shigella (SS)
- Agar Dextrosa Sabourand

Medio de cultivo:

- Caldo Brain Heart Infusion (BHI)

Metodología general para reactivación de cepas

Preparar el caldo de cultivo BHI necesario para cada sesión de reactivación (37 g de infusión BHI en polvo por cada 1000 ml de agua destilada), se utilizaron 3 ml de esta infusión por cada cepa a reactivar.

Una vez colocados los 3 ml de infusión BHI en cada tubo de ensayo, se tapan sin cerrar completamente para llevar a esterilizar en autoclave (15 atm de presión, por 15 min a 121°C).

Después se coloca un tubo en la estufa de incubación por 24 horas para verificar que no haya ningún crecimiento como muestra de contaminación.

Una vez verificada la esterilidad de estos tubos, quedan listos para sembrar las muestras de las cepas a reactivar.

Estas siembras se realizarán en área estéril y se llevarán a estufa de incubación por 24 horas.

Metodología para mantenimiento de cepas reactivadas

Una vez verificadas las pruebas de identificación, podremos tomar muestras de esos cultivos y llevarlos a reactivación en tubos de ensayo con 20 ml de muestra.

A estos tubos se les adiciona del 10 – 20 % v/v de glicerol para que puedan llevar las muestras a congelación, una vez listo se toman muestras de 900 µl y en viales y se llevan a congelación en el Revco (-75 °C).

Metodología para desarrollo y mantenimiento de hongos

Para el mantenimiento de los hongos se tenía programado tomar una muestra de cada uno y colocar en un tubo con medio BHI para su desarrollo, para su identificación se observaría a nivel macro y microscópico su caracterización morfológica, principalmente la parte filamentosa.

Para la conservación de las muestras se coloca un poco de muestra identificada en un agar Sabouraud el cual se deja en reposo por 24 hrs en la estufa de incubación y una vez obtenida la muestra se coloca en solución BHI con 10-20% v/v de glicerol, este tubo se guardará en congelación en el Revco (-75 °C).

Resultados

Cepas en el laboratorio de Biología experimental de UAM – X

1. *Proteus mirabilis*
2. *Proteus mirabilis* RTX 336
3. *Pseudomona aeruginosa*
4. *Salmonella tiphy*
5. *Salmonella tiphymurium*
6. *Shigella*
7. *Shigella spp*
8. *Shigella sonnei*
9. *Shigella dysenteriae*
10. *Shigella flexneri*
11. *Enterobacter*
12. *Enterobacter aerogenes*
13. *Pantoea agglomerans*
14. *Klebsiella spp*
15. *Klebsiella pneumoniae*
16. *Escherichia coli* 0157
17. *Escherichia coli* 042
18. *Citrobacter freundii*
19. *Citrobacter rodentium*
20. *Serratia Marcescens*
21. *Staphylococcus aureus*
22. *Staphylococcus rodentium*

Resultados de pruebas bioquímicas

1. Agar MacConkey <i>Proteus mirabilis</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		3	4	7
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	+	+
Ureasa		-	+	-
Citrato de Simmons		-	-	+
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo/Rosa	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	+
	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	+
	Motilidad	-	-	+
	Indol	-	-	-

2. Agar MacConkey <i>Proteus mirabilis</i> RTX 336 (Pruebas por triplicado)				
Prueba		2	12	13
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	+	+
Ureasa		+	-	-
Citrato de Simmons		+	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	+
	Producción de gas	-	-	-
Medio SIM	H ₂ S	-	-	+
	Motilidad	-	+	-
	Indol	-	-	-

3. Agar Pseudomona <i>Pseudomona aeruginosa</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		4	7	12
Voges Proskauer		-	+	-
Rojo de Metilo		+	+	-
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

4. Agar SS <i>Salmonella tify</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		3	8	10
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	+	+
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		+	-	-

Kligler	Color de cultivo	Amarillo/Rosa	Amarillo	Amarillo/Rosa
	Precipitado Negro	+	+	+
	Producción de gas	-	+	+
Medio SIM	H ₂ S	+	+	+
	Motilidad	+	+	+
	Indol	-	-	-

5. Agar SS <i>Salmonella typhimurium</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		1	10	11
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	+	+
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		+	+	+
Kligler	Color de cultivo	Amarillo/Rosa	Amarillo/Rosa	Amarillo/Rosa
	Precipitado Negro	+	+	+
	Producción de gas	-	-	-
Medio SIM	H ₂ S	+	+	+
	Motilidad	+	+	-
	Indol	-	-	-

6. Agar SS <i>Shigella</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		3	8	10
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	+	+
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

7. Agar SS <i>Shigella spp</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		3	9	14
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	+	+
Ureasa		-	+	-
Citrato de Simmons		-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	+	-
	Indol	-	-	-

8. Agar SS <i>Shigella sonnei</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		11	7	9
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	+	-
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo/Rosa	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	+
	Producción de gas	-	-	-
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

9. Agar SS <i>Shigella dysenteriae</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		8	10	12
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	+	+
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo/Rosa	Amarillo/Rosa	Amarillo/Rosa
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	-	-	-
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

10. Agar SS <i>Shigella flexneri</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		2	5	11
Voges Proskauer		-	+	-
Rojo de Metilo		+	+	+
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo/Rosa	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

11. Agar MacConkey <i>Enterobacter</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		2	3	7
Voges Proskauer		+	+	+
Rojo de Metilo		-	-	-
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		+	+	+
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo

	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	+	+	+
	Indol	-	-	-

12. Agar MacConkey <i>Enterobacter aerogenes</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		4	6	10
Voges Proskauer		+	+	+
Rojo de Metilo		-	-	-
Ureasa		-	-	+
Citrato de Simmons		+	+	+
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo/Rosa
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	+	+	+
	Indol	-	-	-

13. Agar MacConkey <i>Pantoea agglomerans</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		8	11	13
Voges Proskauer		+	+	-
Rojo de Metilo		-	-	-
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		+	+	+
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	+
	Producción de gas	+	-	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	+
	Motilidad	+	+	+
	Indol	-	-	-

14. Agar MacConkey <i>Klebsiella spp</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		1	5	14
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		-	+	-
Ureasa		+	+	+
Citrato de Simmons		-	-	+
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	-	-	-
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

15. Agar MacConkey <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Pruebas por triplicado)				
---	--	--	--	--

Prueba	4	5	11
Voges Proskauer	-	-	-
Rojo de Metilo	-	-	-
Ureasa	+	+	+
Citrato de Simmons	-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-
	Producción de gas	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-
	Motilidad	-	-
	Indol	-	-

16. Agar MacConkey <i>Escherichia coli</i> 0157 (Pruebas por triplicado)			
Prueba	4	6	13
Voges Proskauer	-	-	-
Rojo de Metilo	+	+	+
Ureasa	-	-	-
Citrato de Simmons	-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-
	Producción de gas	-	-
Medio SIM	H ₂ S	-	-
	Motilidad	+	+
	Indol	+	+

17. Agar MacConkey <i>Escherichia coli</i> 042 (Pruebas por triplicado)			
Prueba	1	5	9
Voges Proskauer	-	-	-
Rojo de Metilo	+	+	+
Ureasa	-	-	-
Citrato de Simmons	-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-
	Producción de gas	+	-
Medio SIM	H ₂ S	-	-
	Motilidad	+	+
	Indol	-	+

18. Agar MacConkey <i>Citrobacter freundii</i> (Pruebas por triplicado)			
Prueba	1	7	9
Voges Proskauer	-	-	-
Rojo de Metilo	+	+	+
Ureasa	-	-	-
Citrato de Simmons	+	+	+
Kligler	Color de cultivo	Amarillo/Rosa	Amarillo/Rosa
	Precipitado Negro	+	+

	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	+	+	+
	Motilidad	-	-	+
	Indol	-	-	-

19. Agar MacConkey <i>Citrobacter rodentium</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		1	2	10
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	+	+
Ureasa		+	-	-
Citrato de Simmons		-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	+	-	-
	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

20. Agar MacConkey <i>Serratia Marcescens</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		2	6	11
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		+	-	-
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		+	+	+
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	+	+	+
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

21. Agar Sangre <i>Staphylococcus aureus</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		1	5	8
Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		-	-	-
Ureasa		-	-	-
Citrato de Simmons		-	-	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	-	-	-
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

22. Agar Sangre <i>Staphylococcus epidermidis</i> (Pruebas por triplicado)				
Prueba		1	5	8

Voges Proskauer		-	-	-
Rojo de Metilo		-	-	-
Ureasa		+	+	+
Citrato de Simmons		-	+	-
Kligler	Color de cultivo	Amarillo	Amarillo	Amarillo/Rosa
	Precipitado Negro	-	-	-
	Producción de gas	-	-	-
Medio SIM	H ₂ S	-	-	-
	Motilidad	-	-	-
	Indol	-	-	-

Análisis de resultados

Los resultados fueron en su mayoría consistentes con los esperados, ya que se siguió la metodología establecida y los cuidados sugeridos para el cuidado del área estéril, no se presentó contaminación de medios de cultivo y las cepas pudieron tener el desarrollo esperado. Las pruebas bioquímicas arrojaron resultados similares a los establecidos en los textos científicos para esas especies de cepas microbianas.

La conservación de las cepas resultó acertada, ya que se aplicaron pruebas bioquímicas de identificación para desarrollar las cepas una vez que se habían puesto en congelación y estos resultaron iguales a los primeros resultados obtenidos.

Conclusiones

Se concluye que los métodos utilizados fueron aplicados de forma correcta por lo que se pudo dar el mantenimiento a las especies que conforman el cepario del laboratorio de biología molecular.

Este tipo de mantenimientos es vital para los ceparios pues garantizan su existencia y correcto desarrollo de este, ya que ayudan a la multiplicación de las especies para su uso dentro de las prácticas universitarias y en los proyectos que se desarrollan dentro del laboratorio.

Se necesita un poco más de tiempo para invertir en el proyecto y complementar con pruebas adicionales como catalasa, oxidasa, tinciones, etc. Esto sería de mucha ayuda para el alumno dentro de la parte práctica que puede adquirir si el proyecto es más extenso.

Objetivos y Metas logrados

Se logró conservar, identificar y preservar las distintas especies de cepas que se presentan dentro del cepario del laboratorio de biología experimental.

No se logró el mantenimiento en hongos del cepario por que durante el desarrollo del proyecto ocurrió una huelga en la universidad, con lo que quedaron cerrados los laboratorios por casi 5 meses por lo que ya solo dio tiempo de regresar a terminar la parte con las bacterias que hacían falta hasta ese momento.

Solo se logró la siembra de 1 hongo, pero al regresar ya se encontraba muy contaminado el medio, por lo que se procedió a su destrucción.

Bibliografía

[1] Huertas SLP, Casas MMP, Morales MB, Moreno ZS. Implementación y evaluación de dos métodos de conservación y generación de la base de datos del banco de cepas y genes del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia (IBUN). Nova. (2006); 4:39-49.

[2] Jawetz F, Melnick C, Adelberg S. Microbiología médica. 25ª ed. México: McGraw Hill; 2010.

[3] Tay J. Microbiología, bacteriología y virología. México: Méndez Editores; 2010.

[4] Forbes B, Sahm D, Weissfeld A. Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.

[5] <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8800>

[6] https://www.humeau.com/media/blfa_files/TC_Gelose-MacConkey_55061002854-610028_EN_160518_b58883b02f71336c170c9fa80cfa1ca6.pdf

[7] <http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/IFU454341.pdf>

[8] https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5b6b262facd0e.pdf

[9] <https://www.bd.com/resource.aspx?id=8779>

[10] Becton Dickinson, recuperadas del sitio <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22894>

Vo. Bo. De los contenidos académicos

Me resultaron muy agradables e interesantes los contenidos que se revisaron a lo largo del proyecto, ya que me ayudaron a entender los procesos experimentales que atraviesa el proyecto.

Este tipo de proyectos ayudan a que el alumno amplíe sus conocimientos en el campo experimental de la microbiología, tanto en la forma intelectual como en la forma práctica, ya que al realizar de forma continua los procedimientos de esterilización, identificación, reproducción y criogenización, vas perfeccionando las técnicas. Al mismo tiempo apoyas a la universidad para que los compañeros que utilizaran las especies en sus prácticas no carezcan de materiales y obtengan los materiales necesarios para sus prácticas.

En lo personal quedé muy satisfecho con lo logrado, los conocimientos adquiridos y la práctica, que es de lo más importante pues en la vida profesional hay un extenso campo laboral en la parte de desarrollo de laboratorio y control microbiológico.

M. en C. María Cristina Fresán Orozco

Dra. Ana Laura Esquivel Campos

Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Xochimilco

División: Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento: Sistemas Biológicos

Licenciatura: Química Farmacéutica Biológica

**Proyecto: Conservación del cepario del laboratorio de
Biología Experimental**

Alumno: Alex Najera Aguilar

Matrícula: 2142033941

**Dirección: Antropólogos #25-A Col. Apatlaco, Del.
Iztapalapa, C. P. 09430, CDMX**

Teléfono: 55 26 21 28 70

Celular: 55 37 02 91 27

Correo Electrónico: najeralex151990@gmail.com

**Asesoras: María Cristina Fresán Orozco y Ana Laura
Esquivel Campos**

Fecha de inicio: Julio, 2018

Fecha de Terminación: Agosto, 2019

Fecha de entrega: Enero, 2021

RESUMEN

Introducción

Las colecciones microbianas referidas como “ceparios”, son centros de recursos genéticos que preservan a los microorganismos, garantizando la disponibilidad de dicho material biológico para actividades de docencia e investigación.

Las colecciones de microorganismos se desarrollaron a finales del siglo XIX, con el propósito de figurar como repositorios de los recursos biológicos para impulsar el desarrollo de las ciencias; la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) reconoce a este tipo de iniciativas como fuentes sustentables para acceder a dichas fuentes biológicas.

El trabajo que se presenta a continuación es una pequeña muestra del desarrollo del proceso de mantenimiento y conservación de un cepario, para su utilidad académica y experimental.

Objetivos

General:

- Conservar cepas gram positivas, gram negativas y hongos por el método de congelación.

Particulares:

- Cultivar, identificar y criopreservar bacterias grampositivas
- Cultivar, identificar y criopreservar bacterias gramnegativas
- Cultivar, identificar y criopreservar hongos

Conclusiones

Se concluye que los métodos utilizados fueron aplicados de forma correcta por lo que se pudo dar el mantenimiento a las especies que conforman el cepario del laboratorio de biología molecular.

Este tipo de mantenimientos es vital para los ceparios pues garantizan su existencia y correcto desarrollo de este, ya que ayudan a la multiplicación de las especies para su uso dentro de las prácticas universitarias y en los proyectos que se desarrollan dentro del laboratorio.

Se necesita un poco más de tiempo para invertir en el proyecto y complementar con pruebas adicionales como catalasa, oxidasa, tinciones, etc. Esto sería de mucha ayuda para el alumno dentro de la parte práctica que puede adquirir si el proyecto es más extenso.

Objetivos y Metas logrados

Se logró conservar, identificar y preservar las distintas especies de cepas que se presentan dentro del cepario del laboratorio de biología experimental.

Bibliografía

Huertas SLP, Casas MMP, Morales MB, Moreno ZS. Implementación y evaluación de dos métodos de conservación y generación de la base de datos del banco de cepas y genes del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia (IBUN). Nova. (2006); 4:39-49.

Jawetz F, Melnick C, Adelberg S. Microbiología médica. 25ª ed. México: McGraw Hill; 2010.

Tay J. Microbiología, bacteriología y virología. México: Méndez Editores; 2010.

Forbes B, Sahm D, Weissfeld A. Diagnóstico microbiológico. 12ª ed.

Vo. Bo. De los contenidos académicos



M. en C. María Cristina Fresán Orozco



Dra. Ana Laura Esquivel Campos