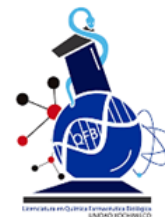


# Universidad Autónoma Metropolitana



## Unidad Xochimilco



División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Sistemas Biológicos  
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

### Determinación de la actividad antimicótica de aceites esenciales

**Nombre:** Ávila Juárez María Guadalupe

**Matricula:** 2192034005

**Asesores:**

Dra. Ana Laura Esquivel Campos, No. Económico: 33148

Dra. Julia Pérez Ramos, No. Económico: 9814

**Fecha de inicio:** 03 de octubre 2022

**Fecha de término:** 03 de abril 2023

**Agosto 2023**

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>5</b>
	2.1 ANTECEDENTES	5
	2.2 RESISTENCIA MICROBIANA	6
	2.3 INFECCIONES FÚNGICAS MÁS IMPORTANTES	7
	2.3.1 <i>Candida albicans</i>	7
	2.3.2 <i>Candida tropicalis</i>	8
	2.3.3 <i>Candida glabrata</i>	9
	2.3.4 <i>Candida krusei</i>	10
	2.4 INFECCIONES CAUSADAS POR ENTEROBACTERIAS	10
	2.5 MECANISMOS DE RESISTENCIA	15
	2.6 ACEITES ESENCIALES COMO ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO ANTIMICÓTICO	16
	2.7 ASPECTOS GENERALES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO	19
<b>3.</b>	<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>38</b>
<b>4.</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>38</b>
<b>5.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>38</b>
<b>6.</b>	<b>METODOLOGÍA</b>	<b>39</b>
	6.1 ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE ACEITES ESENCIALES	39
	6.2 IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS	39
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS E INTERPRETACIÓN</b>	<b>40</b>
	7.1 ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE ACEITES ESENCIALES	40
	7.2 IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS	40
<b>8.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>69</b>
<b>9.</b>	<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>70</b>
<b>10.</b>	<b>REFERENCIAS</b>	<b>70</b>
<b>11.</b>	<b>RESUMEN</b>	<b>78</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones fúngicas ocasionadas por levaduras son muy frecuentes en las últimas décadas, y *Candida sp* está en el cuarto lugar entre los microorganismos aislados de hemocultivos en Estados Unidos y en el quinto en España como agente etiológico de sepsis (Alfonso *et al.*, 2010). Las especies de *Candida* pertenecen a la microbiota de la cavidad oral, tracto gastrointestinal y vaginal, son responsables de varias manifestaciones clínicas, sobrecrecimiento mucocutáneo, infecciones del torrente sanguíneo (Sudbery, 2011). La candidiasis invasiva es una infección grave que causa una alta morbilidad y mortalidad. En los últimos años, la candidiasis invasiva comunitaria está aumentando en asociación con un aumento de la atención médica domiciliaria. La candidemia es la presentación más común de candidiasis invasiva, representa menos del 75% de todas las candidiasis invasivas. Estas micosis invasivas son principalmente infecciones nosocomiales y aproximadamente dos tercios de ellas tienen su origen en diferentes centros hospitalarios (Diekema *et al.*, 2002).

En México, en los últimos años, el agente etiológico involucrado en la mayoría de los cuadros clínicos de candidiasis es *Candida albicans* (62%), por lo que se considera a esta especie politrópica, debido a su distribución topográfica; sin embargo, en algunas manifestaciones clínicas (enfermedades) se han aislado otras especies de *Candida* con menor tropismo: *Candida tropicalis* (7,5%) en vaginitis, enfermedad intestinal, infecciones broncopulmonares, sistémicas, nerviosas y articulares; *Candida krusei* (2,7%) en algunos casos de endocarditis, infección de mucosas y vaginitis, finalmente *Candida glabrata* con una frecuencia del 12% en todas las infecciones por *Candida* sistémica (Vázquez *et al.*, 2014).

Un atributo importante de virulencia de *C. glabrata* y *C. albicans* es su capacidad para formar biopelículas, comunidades de células densamente empaquetadas adheridas a una superficie. Estas biopelículas son intrínsecamente resistentes a las terapias antimicóticas convencionales, al sistema inmunitario del huésped y a otros factores ambientales, lo que hace que las infecciones asociadas a biopelículas sean un desafío clínico significativo (Gulati & Nobile., 2016).

Las infecciones fúngicas generalmente se tratan con cinco clases principales de agentes antifúngicos que incluyen azoles, equinocandinas, polienos, alilaminas y análogos de nucleósidos. Fluconazol, un azol, es el fármaco antimicótico más utilizado debido a su baja toxicidad para el huésped, alta solubilidad en agua y alta biodisponibilidad (Jamiu *et al.*,

2021). Los antimicóticos contra *C. glabrata* son análogos de pirimidina, además de azoles, equinocandinas y polienos. Aunque no está claro por qué *C. glabrata* es capaz de resistir rápidamente contra múltiples antimicóticos en las clínicas. La mayor incidencia y resistencia antifúngica de *C. glabrata* y la alta mortalidad y morbilidad necesitan más investigación con respecto a los mecanismos de resistencia y virulencia asociados con *C. glabrata* (Lotfali et al., 2021). Aunque *C. albicans* sigue siendo la principal causa de candidiasis, en los últimos años se ha atribuido un número significativo de infecciones a especies de *Candida no albicans* (NAC), incluida *C. krusei*. Este cambio epidemiológico puede explicarse en parte por el aumento de la resistencia de las especies de NAC a los fármacos antimicóticos. *C. krusei* puede causar infecciones potencialmente mortales en pacientes inmunocomprometidos, y los pacientes con neoplasias malignas hematológicas y aquellos que usan profilaxis prolongada con azoles tienen un mayor riesgo (Jamiu et al., 2021). Sin embargo, los efectos de la morfología de las biopelículas de *C. krusei* sobre la patogenicidad no se han caracterizado completamente (Sachivkina et al., 2021). *Candida tropicalis* es uno de los patógenos de levaduras oportunistas más comunes en los seres humanos, especialmente frecuente en las regiones tropicales y subtropicales, que puede causar infección nosocomial. Los pacientes con factores de alto riesgo infectados con *C. tropicalis* pueden sufrir infecciones en el pulmón, tracto urogenital e intraabdomen, así como infecciones sistémicas (Wang et al., 2021).

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES

Las enfermedades infecciosas representan un importante problema de salud. Con el desarrollo en las últimas décadas del siglo pasado de los antimicrobianos y la inmunoterapia, se insinuó en algún momento que se alcanzaría el control de estas enfermedades, pero en la actualidad continúan surgiendo (Salazar & Pignone, 2022). Por otra parte, aunque en nuestro entorno han disminuido claramente, han ido reapareciendo enfermedades que se creían controladas, surgiendo otros patógenos o incluso resistentes a la mayoría de los antimicrobianos disponibles en la actualidad.

Se define la infección como la presencia y multiplicación del microorganismo en los tejidos del huésped (hospedador) o dicho de otra manera un proceso causado por la invasión de tejidos, fluidos o cavidades del organismo normalmente estériles por microorganismos patógenos o potencialmente patógenos. Un proceso infeccioso representa la interacción de un microorganismo con un macroorganismo (en este caso el huésped humano) bajo ciertas condiciones ambientales (García *et al.*, 2010). La interacción puede ser muy variable dependiendo de factores como las características del microorganismo la cantidad del inóculo y factores dependientes del huésped como la respuesta inmunitaria.

El equilibrio establecido entre los factores de patogenicidad o virulencia del microorganismo y los factores del huésped representados por su respuesta inmune, tendrá como consecuencia que la relación se establezca como colonización (el microorganismo vive y se multiplica en el huésped pero sin causar daño, relación de tipo comensalismo), como infección clínica o latente (cuando se limita por la respuesta inmune del huésped, ocasionalmente originado el estado de portador) o bien dará lugar a una auténtica enfermedad (Salazar & Pignone, 2022).

La clasificación de las enfermedades infecciosas puede establecerse en torno a múltiples criterios. Podrían clasificarse según su evolución temporal en agudas, subagudas o crónicas, clasificación poco práctica desde un punto de vista diagnóstico. Desde un punto de vista microbiológico, se estudian de acuerdo con los agentes etiológicos responsables. Por último, desde un punto de vista clínico, su estudio se puede realizar a través de la presentación sindrómica de las enfermedades y/o su localización topográfica (neumonía, endocarditis, gastroenteritis, abscesos hepáticos, meningitis, etc.) teniendo en cuenta otras circunstancias del huésped o su entorno: adquisición en la comunidad o nosocomial, estado de inmunocompetencia, grupos de edad entre otros factores (García *et al.*, 2010).

## 2.2 RESISTENCIA MICROBIANA

La resistencia a los antibióticos, también llamada farmacorresistencia, no es un problema nuevo. Este fenómeno se presenta una vez que las bacterias no pueden ser eliminadas por los fármacos a los que anteriormente eran sensibles, razón por la cual estos últimos dejaron de ser eficaces causando un problema potencial en la población para combatir las infecciones causadas por bacterias patógenas (Serra, 2017). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la resistencia a los antibióticos es la mayor amenaza para la salud mundial y la seguridad alimentaria, señalando que esto ocurre con el pasar del tiempo por el inadecuado uso de los antibióticos.

Respecto a los hongos, este fenómeno era poco frecuente en los ochenta del siglo pasado. En los últimos años, el número de casos de micosis con falla terapéutica se ha incrementado en el mundo, lo cual es atribuible a una deficiencia en la función inmunológica, baja biodisponibilidad de los antimicóticos, alteraciones en el metabolismo de los antifúngicos, interacciones medicamentosas y resistencia fúngica (Manzano *et al.*, 2007). Durante muchos años, los compuestos antimicóticos fueron escasos y poco efectivos. Para el tratamiento de las micosis superficiales se contaba únicamente con griseofulvina y nistatina. A partir de mediados del siglo pasado, la comercialización de anfotericina B, aunque tóxica, ayudó de manera importante en el tratamiento de micosis sistémicas (Sanglard, 2002). Con la aparición de los azoles tópicos como el miconazol y clotrimazol, y posteriormente los azoles sistémicos como ketoconazol, itraconazol, fluconazol y voriconazol, el tratamiento de las micosis superficiales y sistémicas se simplificó, mejorando las expectativas de curación en estas infecciones (Manzano *et al.*, 2007).

En México, aunque no se han cuantificado los casos de resistencia en hospitales de atención general y de especialidades, se ha observado un incremento importante en el número de pacientes con micosis que no responden a los tratamientos; en algunos casos ha sido posible demostrar deficiencias inmunológicas (Sanglard, 2002). En otros, el comportamiento clínico hace sospechar resistencia primaria o secundaria a los antifúngicos, principalmente en quienes reciben estos medicamentos como profilaxis (en casos de trasplantes, sida, enfermedades autoinmunes tratadas con corticosteroides) o tratamientos repetidos por micosis recidivantes.

En el 2020 se registraron 14 nuevos casos de tuberculosis por 100,000 habitantes en México. Al mismo tiempo, la tasa de mortalidad por tuberculosis (ajustada por edad y por

100 000 habitantes) para la población total fue de 1,6 ese mismo año (0,9 en mujeres y 2,4 en hombres). Por otra parte, se estimó que para el 2020 la tasa de nuevos diagnósticos de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ascendió a 6,7 por 100 000 habitantes. La tasa de mortalidad ajustada por edad por esta causa fue de 3,2 por cada 100 000 habitantes en el 2019. Debe destacarse que durante el período 2000-2019 este indicador descendió 34,7% (PAHO, 2021). Además, dentro de las principales causas de mortalidad en México se encuentran: las enfermedades isquémicas del corazón (30.81%), malformaciones congénitas del sistema circulatorio (24.46%) y las enfermedades del sistema genitourinario (8.56%), en donde, las principales causas de esta última es atribuible a una infección bacteriana o un trastorno inmunológico.

## 2.3 INFECCIONES FÚNGICAS MÁS IMPORTANTES

### 2.3.1 *Candida albicans*

Es un microorganismo de la microbiota humana sana, que coloniza asintómicamente varios nichos en el cuerpo, incluidos, el tracto gastrointestinal (GI), el tracto reproductivo femenino, la cavidad oral y la piel (Nobile *et al.*, 2008). En la mayoría de las personas con un sistema inmunológico saludable, *C. albicans* es un microorganismo comensal inofensivo que se mantiene en armonía con otros miembros de la microbiota. Sin embargo, las alteraciones de este delicado equilibrio, resultantes, por ejemplo, de variaciones en el entorno local (cambios de pH o cambios nutricionales), el uso de antibióticos o alteraciones en el sistema inmunitario (causadas por una infección o terapia inmunosupresora), pueden permitir que *C. albicans* pueda proliferar rápidamente y causar infección (Douglas, 2003). Estas infecciones van desde infecciones cutáneas y mucosas superficiales, como aftas, dermatitis e infecciones vaginales por hongos (el 75% de las mujeres tendrán una infección por hongos al menos una vez en su vida), hasta infecciones diseminadas por vía hematológica más graves con tasas de mortalidad considerables, acercándose al 47% en algunos casos (Nobile *et al.*, 2008). *C. albicans* es una de las principales causas de infecciones hospitalarias, representa el 15 % de todos los casos de sepsis y es la causa del 40 % de las infecciones del torrente sanguíneo en entornos clínicos (Nobile *et al.*, 2012). Mientras que *C. albicans* pueden infectar tanto a individuos inmunocompetentes como inmunocomprometidos, estas infecciones son especialmente graves en este último grupo, que incluye pacientes con SIDA, pacientes sometidos a tratamientos de quimioterapia contra el cáncer o terapias de inmunosupresión, e individuos con dispositivos médicos implantados.

*C. albicans* forma biopelículas altamente estructuradas compuestas por múltiples tipos de células (células redondas en forma de levadura en gemación, células ovaladas de pseudohifas y células alargadas de hifas) encerradas en una matriz extracelular (Chandra, 2001). *C. albicans* es la especie fúngica predominante aislada de infecciones de dispositivos médicos, incluidos catéteres urinarios y venosos centrales, marcapasos, válvulas cardíacas mecánicas, prótesis articulares, lentes de contacto y dentaduras postizas (Kojic & Darouiche, 2004). Una vez que la biopelícula de *C. albicans* se forma en un dispositivo médico implantado, actúa como reservorio de células patógenas, es altamente resistente a los medicamentos y al sistema inmunitario del huésped, y tiene el potencial de sembrar infecciones diseminadas del torrente sanguíneo (candidemia) que pueden conducir a infecciones sistémicas invasivas de los tejidos y órganos. Cada año en los Estados Unidos, se colocan más de cinco millones de catéteres venosos centrales y actualmente, incluso con enfoques clínicos mejorados recientemente, la infección por biopelícula ocurre en más del 50% de estos catéteres (Nobile *et al.*, 2012).

### 2.3.2 *Candida tropicalis*

Las especies de *Candida* no *albicans* (NCAC) se consideran cada vez más colonizadoras y patógenas causantes de infecciones nosocomiales por hongos en el torrente sanguíneo (Pfaller *et al.*, 2007) y pueden representar casi el 50% de todas las infecciones superficiales por *Candida*. Las razones de esta alteración en el patrón de distribución de las especies de *Candida* aún no se han entendido por completo, pero podrían atribuirse a la resistencia de las especies de NCAC a los agentes antifúngicos, que se utilizan durante períodos relativamente largos durante la hospitalización (Snydman, 2003).

*C. tropicalis* es una levadura patógena oportunista común, capaz de causar infecciones tanto superficiales como sistémicas en humanos (Zuza-Alves *et al.*, 2017). Esta levadura se ha encontrado en diversos nichos ecológicos, como en el suelo, ambientes acuáticos (tanto de agua dulce como en ecosistemas marinos), una diversidad de árboles y restos de plantas, así como de humanos y otros animales. En humanos, *C. tropicalis* se ha aislado de diversas partes del cuerpo, desde la piel hasta la cavidad oral, el tracto gastrointestinal y los sistemas urogenitales en muchos huéspedes sanos y en pacientes con infecciones sistémicas, incluido el sistema circulatorio y otras infecciones corporales (Zuza-Alves *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2019). Entre los pacientes con candidiasis sistémica, *C. tropicalis* se informa comúnmente como el segundo o tercer agente causal más común, especialmente en aquellos con neoplasias malignas hematológicas (Zuza-Alves *et al.*, 2017). Las



infecciones del torrente sanguíneo por *C. tropicalis* se asocian con altas tasas de mortalidad, que oscilan en el 20.9%. Las tasas de incidencia se calcularon por cada 1000 admisiones al día en hospitales, solamente de Brasil (Colombo *et al.*, 2006).

### 2.3.3 *Candida glabrata*

*Candida glabrata* se denominó por primera vez como *Cryptococcus glabratus* y se describió en 1917 como un componente de la microbiota intestinal humana (Anderson, 1917; Bolotin-Fukuhara & Fairhead, 2014). Años más tarde, comenzó a identificarse como la fuente de varias infecciones, ya sea con el nombre de *Cryptococcus glabratus* (Plaut, 1950), o como *Torulopsis glabrata* (Grimley, Wright & Jennings, 1965). A fines de la década de 1980, ahora renombrada como *Candida glabrata*, comenzó a identificarse comúnmente como el agente etiológico de candidemia en pacientes inmunocomprometidos, y más tarde se reconoció como un patógeno emergente (Hazen, 1995). Los primeros análisis moleculares del ARN ribosómico revelaron que *C. glabrata* estaba solo lejanamente relacionada con *C. albicans* y más estrechamente relacionada con *Saccharomyces cerevisiae* (Kurtzman & Robnett, 1998).

*C. glabrata* es un patógeno que coloniza las superficies epiteliales (boca, tracto gastrointestinal, vagina, piel y presente en las heces) como microbiota saludable sin especificidad de edad (Ahmed *et al.*, 2015). *C. glabrata* se encuentra comúnmente en el medio ambiente, particularmente en flores, hojas, superficies, agua y suelo. Es la segunda causa aislada más frecuente de candidiasis después de *C. albicans*. Representa aproximadamente el 15-25% de los casos clínicos invasivos (Kounatidis *et al.*, 2018). De hecho, *C. glabrata* es la segunda especie más común que se encuentra en los Estados Unidos y el noroeste de Europa (Pappas *et al.*, 2018). El aumento de la incidencia de *C. glabrata* entre las especies de *Candida* como causa de infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo (BSI) en las unidades de cuidados intensivos de EE. UU. entre 1989 y 1999 en una encuesta mostró que *C. glabrata* ocupó el segundo lugar después de *C. albicans* y representó del 20% al 24% de todas las BSI de *Candida* (Pfaller & Diekema, 2007). Candidiasis invasiva por *C. glabrata* causa una morbilidad y mortalidad sustanciales de aproximadamente 40 a 60%, quizás debido a la baja susceptibilidad inherente de *C. glabrata* a los azoles más utilizados (Timmermans *et al.*, 2018).

La ruta habitual de *C. glabrata* para llegar al torrente sanguíneo es a través de la ruptura de barreras naturales, como el uso de catéteres, traumatismos o cirugía (Galocha *et al.*, 2018).

Sin embargo, la susceptibilidad a la enfermedad aumenta debido a ciertas condiciones como el SIDA y la tuberculosis (TB), el uso de inmunosupresores y medicamentos contra el cáncer, la terapia prolongada con antibióticos y la hospitalización prolongada (Pérez & Querol, 2017). El aumento de la frecuencia de aislamiento de *C. glabrata* está asociado con la vejez, según lo informado por Zhang y colaboradores. En consecuencia, *C. glabrata* se aisló más de pacientes en el grupo de edad mayor a 70 años que en los otros grupos de edad (58,2% vs. 41,8%) de 193 muestras recolectadas. Puede ocurrir un cambio de la flora normal al estado patógeno, lo que lleva a la aparición de enfermedades, que van desde superficiales (mucosas y piel) hasta sistémicas, con una tasa de mortalidad alarmante (Kaur *et al.*, 2005).

#### 2.3.4 *Candida krusei*

Es un microorganismo un comensal transitorio de la membrana mucosa de individuos sanos. *C. krusei* comúnmente causa infecciones nosocomiales en pacientes con neoplasias malignas hematológicas (Kim *et al.*, 2017), así como osteomielitis, neumonía, vaginitis, endoftalmitis, endocarditis, candidiasis oral y otras afecciones en pacientes con complicaciones médicas subyacentes (Jamiu *et al.*, 2020). En el aspecto veterinario, este organismo también ha sido asociado con enfermedades y deterioro de las condiciones de salud en los animales. *C. krusei* es un patógeno relevante involucrado en la mastitis micótica de las vacas que resulta en reducciones en la producción y calidad de la leche. También se han informado enfermedades gastrointestinales en aves causadas por *C. krusei* (Du *et al.*, 2018).

La aparición de resistencia antifúngica amenaza el tratamiento eficaz de las infecciones fúngicas. Los azoles son uno de los fármacos antimicóticos más comunes utilizados para el tratamiento profiláctico antimicótico a largo plazo de personas inmunocomprometidas y aplicados en prácticas agrícolas. *C. krusei* es una levadura potencialmente resistente a múltiples fármacos debido a su resistencia intrínseca al fluconazol (más del 96 % de los aislados clínicos y veterinarios humanos son resistentes al fluconazol), así como a su resistencia adquirida desarrollada a algunos otros fármacos antimicóticos (anfotericina B, equinocandinas) (Whaley *et al.*, 2016)

## 2.4 INFECCIONES CAUSADAS POR ENTEROBACTERIAS

Una de las prioridades actuales de la Organización Mundial de la Salud son las bacterias multirresistentes, ya que son un problema mundial por su rápida propagación y la dificultad

de su tratamiento. Además, se asocian con alta morbilidad, mortalidad y altos costos económicos (Escolà-Vergé *et al.*, 2020). El género *Klebsiella* es una clase de bacterias Gram negativas, encapsuladas, inmóviles, en forma de bastón y oxidasa negativa. Las cepas de este género se aislaron por primera vez a fines del siglo XIX y Trevisan (1885) las nombró en honor al microbiólogo alemán Edwin Klebs (Brisse *et al.*, 2006), *Klebsiella* se clasifica en la familia *Enterobacteriaceae* que contenía una gran variedad de géneros bioquímicamente distintos, incluido el organismo modelo *Escherichia coli* y los notorios patógenos humanos *Salmonella*, *Yersinia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Raoultella*, *Cronobacter*, entre otros (Wyres *et al.*, 2020). El género *Klebsiella* comprende actualmente una amplia diversidad de especies, incluidas especies pertenecientes al complejo de especies *K. pneumoniae* (KpSC) y otras especies de *Klebsiella* (*K. indica*, *K. terrigena*, *K. spallanzanii*, *K. huaxiensis*, *K. oxytoca*, *K. grimontii*, *K. pasteurii* y *K. michiganensis*) que comparten un promedio de solo el 90% de identidad de nucleótidos con KpSC (Massinga *et al.*, 2021).

*Klebsiella spp.* se encuentran entre los patógenos más frecuentemente reportados asociados con infecciones oportunistas en individuos inmunocomprometidos y pacientes hospitalizados por períodos prolongados (Hendrik *et al.*, 2015), y comúnmente implicados en infecciones nosocomiales del tracto urinario y sepsis en bebés del África (Morkel *et al.*, 2014). Dada la importancia de *Klebsiella spp.* en la infección nosocomial y el aumento continuo y la propagación de *Klebsiella pneumoniae* resistente a múltiples fármacos adquirida en la comunidad (MDR), incluidos los productores de  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE), la alta mortalidad asociada está causando una grave preocupación (Sigaúque *et al.*, 2009)

*K. pneumoniae* se encuentra de forma ubicua en la superficie de la mucosa de los animales o en el medio ambiente (como el agua o el suelo). En los seres humanos, se concentra en el tracto gastrointestinal y algunos en la nasofaringe, a través de los cuales la bacteria puede ingresar a la circulación sanguínea u otros tejidos y luego causar una infección. En la era anterior a los antibióticos, *K. pneumoniae* era un patógeno vital de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC), especialmente en diabéticos y alcohólicos. En la era de los antibióticos que siguió, se convirtió en una de las principales causas de infecciones médicas en los hospitales (Podschun & Ullmann., 1998) y en un factor de riesgo de infecciones graves adquiridas en la comunidad (Holt *et al.*, 2015). Como evidencia de ello, en Singapur, las tasas de mortalidad de la bacteriemia por *K. pneumoniae* oscilaron entre el 20% y el 26% (Chew *et al.*, 2017). En China, *K. pneumoniae* representó el 11,9% de los

patógenos aislados de la neumonía asociada al ventilador (VAP) y la neumonía adquirida en la unidad de cuidados intensivos (UCI) (Zhang *et al.*, 2014). Además, se informó que las *Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenem (CRE) causadas por *K. pneumoniae* representan el 73,9 % de 664 muestras clínicas en un estudio clínico multicéntrico que abarcó 25 hospitales "AAA" en 14 provincias de China (Zhang *et al.*, 2018). No hay duda de que una tasa tan alta de prevalencia y mortalidad de la infección por *K. pneumoniae* causó una gran carga en el sistema de salud del país.

*Salmonella spp.* se encuentra entre los patógenos transmitidos por los alimentos más importantes y es la tercera causa principal de muerte humana entre las enfermedades diarreicas en todo el mundo (Ferrari *et al.*, 2019). Se estima que cada año, una de cada 10 personas contrae *Salmonella* y se pierden 33 millones de años de vida (OMS, 2018). Los animales son la principal fuente de este patógeno, y los alimentos de origen animal son la principal ruta de transmisión a los humanos (Ferrari *et al.*, 2019), ya que los alimentos insalubres son la causa más común de las enfermedades diarreicas. Cada año enferman aproximadamente 550 millones de personas, de las cuales 220 millones son niños menores de 5 años (OMS, 2018).

Las especies de *Salmonella* se pueden clasificar en tifoidea y no tifoidea (NTS) con respecto a su capacidad para desarrollar patologías específicas en humanos (Hendriksen *et al.*, 2011). Con respecto a la *Salmonella* tifoidea: *Salmonella enterica*, se divide en serotipos tifoideos, de los cuales se han identificado más de 2500 serovares de *Salmonella enterica*; la mayoría de las infecciones humanas son causadas por un número limitado de serovares. En muchos países desarrollados, las serovariedades *Typhimurium* y Enteritidis de *Salmonella* entérica son las causas más comunes de salmonelosis humana (Herikstad *et al.*, 2002), pero la *Salmonella* tifoidea se encuentra principalmente en el África subsahariana y el sur de Asia, donde la fiebre entérica es endémica (Crump *et al.*, 2015).

*Proteus mirabilis*, una bacteria Gram negativa en forma de bastón, es bien conocida por su producción de ureasa y su capacidad distintiva para diferenciarse en células de enjambre alargadas y el patrón característico de motilidad en forma de ojo de buey en placas de agar (Adeolu *et al.*, 2016), se puede encontrar en una amplia variedad de ambientes, incluidos el suelo, las fuentes de agua y las aguas residuales, pero es predominantemente un comensal del tracto gastrointestinal de humanos y animales (Warren *et al.*, 1982). Además, es capaz de causar una variedad de infecciones humanas, incluidas las de heridas, en ojos,

el tracto gastrointestinal y el tracto urinario, es más conocida por infecciones del tracto urinario cateterizado, conocidas como infecciones del tracto urinario asociadas al catéter (CAUTIA) (Jacobsen *et al.*, 2008). Las CAUTIA Representan más de 1 millón de casos al año (Tambyah & Maki, 2000) o más del 40% de todas las infecciones nosocomiales en hospitales y residencias de ancianos (Warren, 1997). Las infecciones del tracto urinario y las CAUTI que involucran a *P. mirabilis* generalmente se complican con la formación de cálculos renales y vesicales (urolitiasis) y daño renal permanente (Li *et al.*, 2002).

*Escherichia coli* es un habitante normal de los intestinos de varios animales, incluidos los humanos. Aunque *E. coli* por lo general parece ser un comensal inofensivo, algunas cepas son claramente patógenas y han sido reconocidas como agentes de enteritis transmitida por los alimentos. Sin embargo, otros desafían el umbral entre comensal y patógeno, ya que con mayor frecuencia causan enfermedad extraintestinal en huéspedes donde primero colonizan asintómicamente el intestino. No producen enfermedad entérica y son filogenética y epidemiológicamente distintas de las cepas comensales o enteropatógenas (Johnson & Russo, 2002). Por lo tanto, la *E. coli* que se encuentra en humanos se puede clasificar con base a criterios genéticos y clínicos en tres grupos principales: comensal, patógena (entérica o diarreica) y patógena extraintestinal (Kaper *et al.*, 2004).

Como patógeno extraintestinal, *E. coli* es mejor conocida por causar infección del tracto urinario (ITU), bacteriemia y meningitis bacteriana neonatal (NBM) (Johnson *et al.*, 2001). Sin embargo, *E. coli* también puede infectar casi cualquier sitio anatómico. Las cepas distintivas de *E. coli* responsables de la mayoría de los casos de UTI, sepsis y NBM representan un número limitado de clones virulentos que se caracterizan por serotipos O: K: H específicos y derivan predominantemente del grupo filogenético B2 de *E. coli* (Russo & Johnson, 2000). Por lo general, exhiben múltiples factores especializados asociados a la virulencia (FV) que les permiten superar o subvertir los mecanismos de defensa del huésped, lesionar o invadir el tejido del huésped y estimular una respuesta inflamatoria nociva, lo que provoca una enfermedad extraintestinal (Johnson *et al.*, 2001).

*Pseudomonas aeruginosa* es un organismo ambiental Gram negativo común. A menudo se encuentra aislado de plantas, frutas, suelo y ambientes acuáticos, como ríos, lagos y piscinas. En circunstancias particulares, *P. aeruginosa* puede ser un factor patógeno importante de infecciones graves y, a menudo, oportunistas en humanos. Por lo general, infecta las vías respiratorias y las vías urinarias, causa infecciones en la sangre y es la

causa más común de infecciones por lesiones por quemaduras, dermatitis del jacuzzi e infecciones del oído externo (conocidas como oído de nadador). *P. aeruginosa* es el colonizador más frecuente de dispositivos médicos (catéteres, nebulizadores, humidificadores) y es uno de los patógenos que causan infecciones nosocomiales, como neumonía asociada a ventilador, meningocelalitis y sepsis (Bassetti *et al.*, 2018). El tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa* puede ser difícil debido a su resistencia natural y adquirida a los antibióticos (Breidenstein *et al.*, 2011). *P. aeruginosa* es uno de los organismos más comunes aislados del tracto respiratorio de pacientes con fibrosis quística (Bendiak & Ratjen 2009). La ocurrencia de la infección aumenta con la edad y puede llegar al 80% en adultos (Behrends *et al.* 2013). Varios estudios han demostrado que esta infección conduce a mayores tasas de exacerbación pulmonar y hospitalización, además de una progresión más rápida de la enfermedad, lo que conduce a cambios irreversibles y destructivos en el sistema respiratorio y, como consecuencia, a insuficiencia respiratoria crónica. También se asocia con complicaciones más frecuentes de la fibrosis quística, como desnutrición o diabetes (Emerson *et al.*, 2002; Kosorok *et al.*, 2003; Nixon *et al.* 2001).

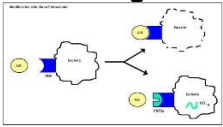
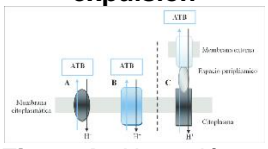
Un rasgo característico del género *Pseudomonas* es la formación de biopelículas y tintes fluorescentes y la producción de sideróforos (Peix *et al.*, 2018; Winstanley *et al.*, 2016). Además, los microorganismos pertenecientes a este género muestran una alta capacidad de utilización de diferentes sustratos y una alta tendencia a la resistencia a los antibióticos. *P. aeruginosa* muestra importantes capacidades de adaptación, como es el caso del desarrollo de infecciones crónicas en pacientes con fibrosis quística (FQ). En esta etapa, el patógeno es prácticamente imposible de erradicar.

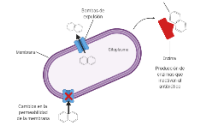
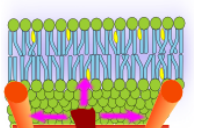
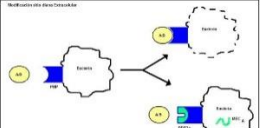
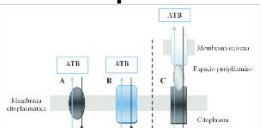
Dada la importancia de estos patógenos como amenaza a la salud mundial, la comunidad científica se ve impulsada a realizar ensayos *in vitro* con cepas, tanto silvestres para permitir caracterizarlas, como con cepas ATCC, estas son herramientas indispensables para el control de calidad en los laboratorios microbiológicos, son microorganismos certificados utilizados en diferentes disciplinas, para el control de calidad en microbiología (TCM, 2020). Ahora bien, esta colección cuenta con microorganismos que tienen diversas ATCC, las cuales van a diferenciar se unas de otras por la ausencia o presencia de algún gen, por ejemplo, la cepa Crooks de *Escherichia coli* ATCC 8739, es una cepa bacteriana secuenciada del genoma completo que se aisló de las heces. Este producto tiene aplicaciones como cepa de control de calidad en las pruebas de formulaciones antimicrobianas para el lavado de manos, pruebas de medios, pruebas de eficacia y

pruebas de biorresistencia. La cepa K-12 de *E. coli* es un huésped para transducir el fago P1 (ATCC 25404-B1). Este producto es una cepa secuenciada del genoma completo y no es lisogénico. Por otro lado, la cepa Seattle 1946 de *E. coli* ATCC 25922 es una cepa de control de calidad secuenciada del genoma completo que no produce verotoxina. Este organismo es una cepa de control CLSI para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Se utiliza para pruebas de medios, como control negativo para la producción de toxinas LT y como cepa de control de calidad para Abbott, API, Autobac, BBL, bioMerieux VITEK, Biosynth, Difco, IDS, Micro-Media, MicroScan, Roche Diagnostics y Productos sensibles. Se utiliza en pruebas de disco de susceptibilidad de neomicina, colistina, kanamicina, cefalexina, gentamicinas, cefamandol, cefalotina, tetraciclina, cefaloglicina, cefaloridina [cefalomicina], ácido nalidíxico y cloranfenicol.

## 2.5 MECANISMOS DE RESISTENCIA

Pareciera que el descubrimiento de antibióticos a lo largo del tiempo fue la solución para combatir las infecciones causadas por bacterias patógenas. Sin embargo, únicamente lo fue durante un corto periodo de tiempo, pues estos microorganismos también comenzaron a desarrollar mecanismos de resistencia, a continuación, se muestra la “Tabla 1-A. Mecanismos de resistencia de *Candidas*” y la “Tabla 1-B. Mecanismos de resistencia de bacterias” describiendo brevemente los principales mecanismos de resistencia en estos microorganismos.

<b>Tabla 1-A. Mecanismos de resistencia de <i>Candidas</i></b>	
<b>Mecanismo</b>	<b>Descripción</b>
<p><b>Mutaciones moleculares de la enzima diana del antifúngico</b></p>  <p><b>Figura a.</b> Mutación molecular de enzima diana</p>	<p>Como ejemplo, la alteración de las enzimas relacionadas en la síntesis del ergosterol, no solo generan resistencia al azol al cual se está expuesto, sino también a otros fármacos con los que posteriormente pudiera entrar en contacto (López-Ávila <i>et al.</i>, 2016).</p>
<p><b>Alteración en las bombas de expulsión</b></p>  <p><b>Figura b.</b> Alteración en bombas de expulsión</p>	<p>Los transportadores ATP-binding cassette (ABC) y Facilitadores mayores (MF) son un sistema de bombeo activo mediado por ATP, se localizan en la membrana citoplasmática y contribuye a la resistencia de casi todos los azoles, expulsando el fármaco hacia el exterior de la célula. Los transportadores ABC son codificados por los genes CDR (Candida Drug Resistance) y los transportadores MF son codificados por los genes MDR (Multidrug Resistance). La sobreexpresión de los transportadores es la causa de esta resistencia (López-Ávila <i>et al.</i>, 2016).</p>

<b>Tabla 1-B. Mecanismos de resistencia de bacterias</b>	
<b>Mecanismo</b>	<b>Descripción</b>
<p><b>Inactivación enzimática</b></p>  <p><b>Figura c.</b> Inactivación enzimática</p>	<p>Existen muchas enzimas bacterianas que pueden hidrolizar o modificar un antibiótico de manera que éste no pueda llegar en forma activa a su blanco de acción. La producción de betalactamasas es uno de los principales mecanismos de resistencia bacteriana, especialmente en bacterias Gram negativas. Estas enzimas son capaces de inactivar a los antibióticos betalactámicos (Moreno <i>et al.</i>, 2009).</p>
<p><b>Impermeabilidad</b></p>  <p><b>Figura d.</b> Impermeabilidad</p>	<p>Las porinas son proteínas de membrana de la bacteria que están especializadas en el transporte de sustancias al interior celular. Ciertos antibióticos pueden utilizar las porinas bacterianas para ingresar al medio intracelular. Diversas mutaciones en los genes que codifican a las porinas pueden alterar su estructura o disminuir su expresión impidiendo así el ingreso del antibiótico. Este mecanismo de resistencia es propio de bacterias Gram negativas (Treviño &amp; Molina, 2022).</p>
<p><b>Modificación de sitio blanco</b></p>  <p><b>Figura e.</b> Modificación de sitio blanco</p>	<p>Cuando ocurren cambios estructurales en las bacterias pueden evitar la unión del fármaco con el sitio blanco, lo que hace que el fármaco sea ineficaz. Esta estrategia de resistencia incluye alteraciones en subunidades de ribosomas, que brinda resistencia a macrólidos, tetraciclinas y aminoglucósidos; ARN polimerasa, que proporciona resistencia a la rifampicina; enzimas metabólicas, que brindan resistencia a las sulfonamidas, las sulfonas y la trimetoprima (Reygaert, 2018).</p>
<p><b>Bombas de eflujo o bombas de expulsión</b></p>  <p><b>Figura f.</b> Bombas de eflujo</p>	<p>Las bombas de eflujo son proteínas de membrana encargadas del transporte de metabolitos y compuestos tóxicos desde el interior de las bacterias al exterior. Por medio de este mecanismo, las bacterias pueden expulsar al antibiótico, reduciendo la concentración del antibiótico dentro de la bacteria. Este tipo de resistencia es inespecífica y puede afectar a varias familias de antibióticos (Marchetti <i>et al.</i>, 2011).</p>

## 2.6 ACEITES ESENCIALES COMO ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO ANTIMICÓTICO

Los aceites esenciales (AE), también conocidos como aceites volátiles o etéreos, se encuentran en plantas comestibles, medicinales y herbales. Como estos compuestos aromáticos son en gran parte volátiles, comúnmente se extraen por destilación al vapor o extracción con solventes (Simon, 1990; Greathead, 2003). Los AE se pueden extraer de muchas partes de una planta, incluidas las hojas, las flores, el tallo, las semillas, las raíces y la corteza. Sin embargo, la composición del AE puede variar entre diferentes partes de una misma planta (Dorman & Deans, 2000). Por ejemplo, el AE obtenido de las semillas de cilantro (*Coriandrum sativum* L.) tiene una composición diferente al AE de cilantro, que se obtiene de las hojas inmaduras de la misma planta (Delaquis *et al.*, 2002). También existen








diferencias químicas entre los EO extraídos de plantas individuales o diferentes variedades de plantas y se atribuyen a propiedades genéticamente determinadas, la edad de la planta y el ambiente en el que crece la planta (Cosentino *et al.*, 1999) y se consideran seguros para el consumo humano y animal, y se clasifican como generalmente reconocidos como seguros (GRAS; FDA, 2004) en los EE. UU.

Los aceites esenciales, en general, constituyen del 0,1 al 1% del peso seco de la planta. Son líquidos con escasa solubilidad en agua, solubles en alcoholes y en disolventes orgánicos. Cuando están frescos, a temperatura ambiente, son incoloros, ya que al oxidarse se resinifican y toman un color amarillento oscuro (lo que se previene depositándolos en recipientes de vidrio de color topacio, totalmente llenos y cerrados perfectamente). La mayoría de los aceites son menos densos que el agua (salvo excepciones como los aceites esenciales de canela, sazafrán y clavo) y con un alto índice de refracción (López, 2004). Su composición química, a excepción de las esencias derivadas de heterósidos (como la de las almendras amargas y mostaza), son generalmente mezclas complejas de constituyentes muy variables que pertenecen, de forma casi exclusiva, al grupo de los terpenos y, en menor medida, al grupo de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano. Los compuestos terpénicos están formados por unidades de isopreno, que pueden ser monoterpenos y sesquiterpenos. Estos monoterpenos y sesquiterpenos pueden ser, a su vez, acíclicos, monocíclicos y bicíclicos, y también oxigenados y no oxigenados (López, 2004).

Se ha informado que muchos aceites esenciales (AE) de plantas tienen efectos inhibitorios significativos sobre los microorganismos patógenos, y se ha demostrado que la mayoría de los aceites esenciales obtenidos de hierbas medicinales tienen propiedades antifúngicas, antiparasitarias, antibacterianas y antimicrobianas; por lo tanto, los aceites esenciales de plantas se han utilizado mucho en algunas áreas de investigación, como la farmacología a base de hierbas, la microbiología farmacéutica/clínica y la fitopatología (Rota *et al.*, 2004; Ahmadi & Jahantigh, 2021). Por otro lado, se han estudiado los efectos antimicrobianos de los metabolitos secundarios de las hierbas medicinales. Se ha estimado que al menos un tercio de todos los resultados terapéuticos se originan a partir de plantas o se modifican después de la extracción de las plantas. Además de prevenir el crecimiento de bacterias y hongos que contaminan los alimentos, estos materiales se utilizan para mejorar la vida útil de las frutas y verduras procesadas (Savithamma *et al.*, 2011; Soni *et al.*, 2015).

En México existe una gran diversidad de especies botánicas con potenciales actividades biológicas, como ejemplo de ello se muestra la “**Tabla 1-C. Plantas medicinales**” resumiendo la actividad biológica de plantas medicinales.

<b>Tabla 1-C. Plantas medicinales</b>	
<b>Planta medicinal</b>	<b>Actividad biológica/uso medicinal</b>
<p><b><i>Dalea bicolor</i></b></p>  <p><b>Figura 1.</b> Dalea bicolor</p>	<p>Se le atribuye diversos usos medicinales, principalmente en problemas gastrointestinales como vómito y diarrea (CONABIO, s.f., Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana, 2009; Vásquez-Montes <i>et al.</i>, 2020).</p>
<p><b><i>Trixis angustifolia</i></b> <b>(Compositae)</b></p>  <p><b>Figura 2.</b> Trixis angustifolia</p>	<p>Utiliza comúnmente en el tratamiento de reumatismo, heridas, dolores de cabeza, alteraciones metabólicas y como agente antipirético. (González-Elizondo <i>et al.</i>, 2004).</p>
<p><b><i>Tagetes parryi</i></b></p>  <p><b>Figura 3.</b> Tagetes parryi</p>	<p>Utilizada para el tratamiento de trastornos gastrointestinales y problemas inflamatorios (Neher <i>et al.</i>, 1996; Turner, 1996). El aceite de <i>Tagetes</i> tiene actividad biológica sobre varios organismos patógenos de plantas y animales (Eguaras <i>et al.</i>, 2005), así como en humanos.</p>
<p><b><i>Zaluzania triloba</i></b></p>  <p><b>Figura 4.</b> Zaluzania triloba</p>	<p>Utilizada en infusiones para aliviar dolores estomacales, actualmente no hay ningún estudio científico que avale su efecto terapéutico.</p>
<p><b><i>Eupatorium glabrata</i></b></p>  <p><b>Figura 5.</b> Eupatorium glabrata</p>	<p>Empleada en la medicina tradicional para el tratamiento de infecciones en la piel e infecciones gastrointestinales, así como en lavado de heridas (Cragg &amp; Newman, 2013).</p>

## 2.7 ASPECTOS GENERALES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Para realizar la siembra se requiere de los medios de cultivo, los cuales son una mezcla de sustancias nutritivas, donde las bacterias obtienen su fuente de carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, sodio, magnesio y otros elementos para:

- a) Fomentar su crecimiento.
- b) Facilitar algunas reacciones bioquímicas que pueden ser demostradas directa o indirectamente para ayudar a su identificación.

Los constituyentes habituales de un medio de cultivo son:

**Agar:** se utiliza como agente genéticamente para dar solidez a los medios de cultivo.

**Extractos:** son concentrados en polvo, deshidratados, obtenidos de órganos o tejidos animales o vegetales para producir el medio adecuado.

**Peptonas:** se obtienen por digestión enzimática o química de las proteínas animales o vegetales. son muy ricas en péptidos y aminoácidos.

**Fluidos corporales como sangre o plasma:** se añaden a los medios de cultivo porque contienen factores de crecimiento que facilitan el desarrollo de algunos microorganismos exigentes.

**Sistemas amortiguadores:** generalmente son fosfatos bisódicos o dipotásico los que se utilizan para mantener el PH del medio en un determinado valor.

**Indicadores de pH:** son indicadores ácido base que nos ayudan a detectar cambios de pH.

**Agentes reductores:** se añaden para crear condiciones que permitan el desarrollo de los gérmenes microaerófilos o anaerófilos.

**Agentes selectivos:** son sustancias que se adiciona para convertir el medio de cultivo en selectivo.

Los medios de cultivo se clasifican según su estado físico y su función:

### ESTADO FÍSICO

**Medios líquidos:** se presentan en estado líquido y también se conocen como caldos, por ejemplo, caldo nutritivo.

**Medios sólidos:** se preparan a partir de los de los medios líquidos a los cuales se les agrega un agente gelificante como la gelatina o el agar. La gelatina es una proteína animal obtenida

de huesos, pero tiene el inconveniente de que es hidrolizada por muchas bacterias y su punto de fusión es bajo, por lo que no se puede utilizar en cultivos a 37°C. El agar - agar es un polímero de azúcares que se obtiene de las algas marinas, insoluble en agua fría pero soluble en agua caliente, se funde a 90°C y solidifica una vez fundido alrededor de los 45°C.

Medios semisólidos: se preparan a partir de los medios líquidos agregando agentes gelificantes en una proporción menor que para preparar un medio sólido. Se utiliza principalmente para la investigación de la movilidad de las bacterias.

## FUNCIÓN

Medios de apoyo, medios nutritivos básicos: favorecen el desarrollo de la mayoría de los microorganismos sin requerimientos especiales y sin brindar ventaja alguna en el crecimiento de un microorganismo en particular, sólo contienen algún extracto de carne o infusión simple, peptona y agua; pueden o no contener agar, por ejemplo, el agar nutritivo.

Medios enriquecidos: son aquellos medios básicos que han sido complementados con líquidos corporales, vitaminas específicas, aminoácidos, proteínas u otros nutrientes claramente definidos, por ejemplo, el agar sangre y agar chocolate.

Medios de enriquecimiento: son aquellos que además de las sustancias nutritivas normales incorporan una serie de factores indispensables o nutrientes específicos, además de sustancias inhibitoras con las que se crea un ambiente especialmente favorable para el crecimiento de microorganismos patógenos exigentes que pueden estar presentes solo o con otras bacterias en una muestra.

Medios selectivos: favorecen el desarrollo de ciertas bacterias que nos interesan y que están presentes en una población polimicrobiana, inhibiendo el desarrollo de otras con ayuda de agentes inhibidores como colorantes, sales biliares, alcoholes, ácidos y antibióticos, por ejemplo, el agar salmonella shigella.

Medios diferenciales: se utilizan para poner en evidencia ciertas características bioquímicas o metabólicas que permiten diferenciar entre varias especies o géneros que crecen en la misma placa de agar. La adición de un azúcar como la lactosa en el medio de MacConkey nos ayuda a diferenciar a las bacterias Gram negativas que la fermentan de aquellas que no lo hacen.

Medios de identificación: son los que se destinan para realizar las pruebas bioquímicas en donde se resalta alguna cualidad bioquímica que sirve para reconocer la identidad de un microorganismo. Estos medios han de poseer los elementos necesarios para asegurar el crecimiento de las bacterias, un sustrato específico que va a ser metabolizado y el indicador que muestra el resultado, por ejemplo, el agar de Kligler.

Medios de multiplicación: sirven para obtener una gran cantidad de células bacterianas a partir de una colonia ya aislada, por ejemplo, el caldo infusión cerebro corazón.

Medios de conservación: se utilizan para conservar una cepa que por diversas razones nos interesa mantener como para realizar las pruebas de control de calidad.

Medios de transporte: se usan para el transporte de muestras clínicas que no pueden sembrarse inmediatamente, por ejemplo, el medio Stuart-Amies.

## CALDO DEXTROSA SABOURAUD

Medio utilizado para el cultivo de hongos y levaduras.

### FUNDAMENTO

Es un medio líquido utilizado para el cultivo de levaduras, hongos y microorganismos acidúricos. La concentración de dextrosa y el pH ácido hacen que este medio sea selectivo para hongos de muestras clínicas y diversos materiales.

Este medio es una modificación del agar dextrosa descrito por Sabouraud, con la mitad de la dextrosa y sin el agar. Se utiliza para cultivar levaduras y hongos patógenos, en particular los asociados con infecciones de la piel. También es utilizado en pruebas de esterilidad.

La dextrosa es el carbohidrato fermentable que proporciona carbono y energía. La mezcla de peptonas proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. La alta concentración de dextrosa y el pH ácido hacen que este medio sea selectivo para los hongos (MCD, s. f).

Características del medio: Color ámbar.



**Figura 6.** Caldo dextrosa sabouraud sin inocular.

### CALDO INFUSIÓN CEREBRO CORAZÓN (BHI)

Medio líquido altamente nutritivo que permite el desarrollo de microorganismos con escasos requerimientos nutricionales y nutricionalmente exigentes, aerobios y anaerobios.

#### FUNDAMENTO

Su alto valor nutritivo está dado por la infusión de cerebro de ternera, la infusión de corazón vacuno y la peptona que constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, aminoácidos, péptidos y vitaminas necesarias para el desarrollo de microorganismos. En el medio de cultivo, la glucosa es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el fosfato disódico otorga capacidad buffer (Britania Lab, 2017).

Características del medio: Color ámbar.



**Figura 7.** Caldo BHI sin inocular.

### AGAR NUTRITIVO

Este medio de cultivo se utiliza con fines generales para aislar y contar microorganismos que tienen requerimientos nutricionales limitados. Su uso está descrito en procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria (Britania Lab, 2021).

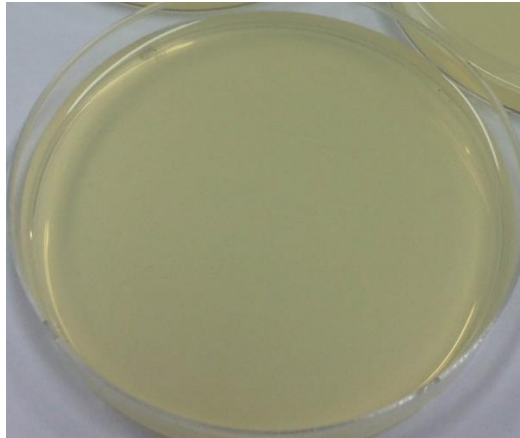
#### FUNDAMENTO

Medio de cultivo nutritivo no selectivo, en el cual la pluripectona y el extracto de carne constituyen la fuente de carbono, nitrógeno y aportan nutrientes para el desarrollo

bacteriano. El agregado de cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante.

Puede ser suplementado con sangre ovina desfibrinada estéril para favorecer el crecimiento de microorganismos exigentes en sus requerimientos nutricionales y permite una clara visualización de las reacciones de hemólisis (Britania Lab, 2021).

Características del medio: Color amarillo claro.



**Figura 8.** Medio agar Nutritivo sin inocular

#### AGAR DE BILIS VERDE BRILLANTE

Medio de enriquecimiento altamente selectivo para el aislamiento de *Salmonella sp.*, excepto *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* a partir de muestras clínicas, alimentos, y otros materiales de importancia sanitaria.

Desarrollado por Kristensen, Lester y Jurgens en 1925 y modificado por Kauffmann.

#### FUNDAMENTO

En el medio de cultivo, la pluripectona y el extracto de levadura, constituyen la fuente de nitrógeno, vitaminas y minerales. La lactosa y la sacarosa son los hidratos de carbono fermentables, el rojo fenol es el indicador de pH, que vira al amarillo cuando hay producción de ácido a partir de la fermentación de azúcares, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el verde brillante actúa como agente selectivo que inhibe fundamentalmente el desarrollo de flora Gram positiva y de algunos microorganismos Gram negativos. El agar es el agente solidificante.

Es de un valor excepcional cuando se investiga un gran número de muestras de heces o alimentos, por su alta capacidad de diferenciación de las colonias sospechosas (Britania Lab, 2021).

Las colonias de coliformes en agar de bilis verde brillante presentan una zona central roja intensa rodeadas de un borde de color rosa, destacándose nítidamente del fondo azul oscuro del medio de cultivo. El medio es sensible a la luz lo que le provoca una disminución en la efectividad y en el color de este, pasando del azul fuerte a púrpura o al rosado. Se recomienda que el medio se prepare inmediatamente antes de usarlo, y en caso necesario, almacenarlo en la obscuridad y durante el menor tiempo posible.

Características del medio sin inocular: azul



**Figura 9.** Medio agar de Bilis Verde brillante sin inocular.

#### AGAR MACCONCKEY

Este medio fue descrito originalmente por MacConkey en 1905, se utiliza para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo aerobios y anaerobios facultativos y permite la diferenciación entre bacterias que utilizan o no la lactosa.

#### FUNDAMENTO

Las peptonas son fuente de nitrógeno. Las sales biliares y el cristal violeta son agentes selectivos inhibidores de microorganismos Gram positivo, la lactosa es el único carbohidrato para fermentar. El indicador de pH es rojo neutro (pH de 6.8 es de color rojo y a pH de 8 es de color amarillo). Las bacterias que fermentan la lactosa acidifican el medio observándose un color rosa en el lagar, además de colonias rosas por la absorción del rojo puede haber una zona opaca debido a la precipitación de sales biliares alrededor de la colonia, mientras



que las bacterias no fermentadoras de lactosa producen colonias incoloras o transparentes y el medio cambia a amarillo naranja.

Características del medio sin inocular: color rosa translúcido, pH final  $\pm 7.1$



**Figura 10.** Medio agar MacConckey sin inocular

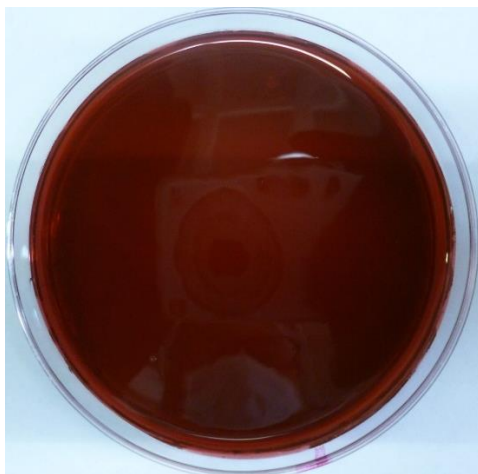
#### AGAR DE EOSINA Y AZUL DE METILENO (EMB)

Es un medio ligeramente selectivo y diferencial que se emplea para el aislamiento y diferenciación de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasa exigencia nutricional permitiendo el desarrollo de todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae* además de la *Candida sp.* de cepas de *Enterococcus sp* las cuales son parcialmente inhibidas.

#### FUNDAMENTO

La peptona es fuente de nitrógeno. La sacarosa y lactosa son los carbohidratos fermentables. La diferenciación entre organismos capaces de utilizar lactosa y/o sacarosa y aquellos que son incapaces de hacerlo se observa mejor gracias a los colorantes eosina y azul de metileno que se combinan para formar un precipitado a pH ácido, haciendo que las primeras posean un centro oscuro con periferia azulada, rosada o guinda, mientras que las segundas son colonias incoloras, además de ser indicadores estos colorantes ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas. Las cepas de *E. coli*, *Citrobacter sp.* presentan una característica brillante metálica en este medio debido a la rápida fermentación de lactosa. Los fosfatos actúan como buffer (Farias, 2015).

Características del medio sin inocular: Color café ladrillo con tono traslucido, pH final  $\pm 7.2$



**Figura 11.** Medio agar EMB sin inocular

## AGAR DE BILIS ROJO VIOLETA

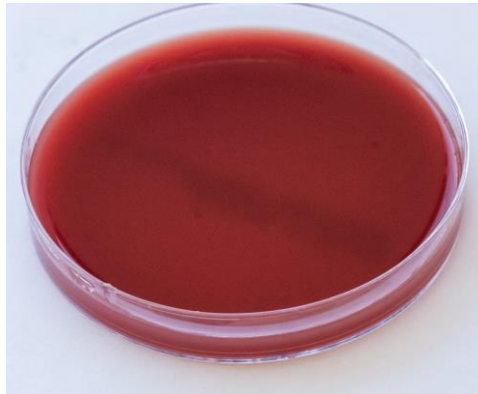
Este es un medio selectivo para la investigación presuntiva y recuento de coliformes en alimentos, productos lácteos y otros materiales de importancia sanitaria.

### FUNDAMENTO

En el medio de cultivo, la peptona y el extracto de levadura aportan los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano, las sales biliares y el cristal violeta inhiben el desarrollo de microorganismos Gram positiva, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y el rojo neutro es el indicador de pH. El agar es el agente solidificante.

Los coliformes son bacterias que fermentan la lactosa, acidifican el medio y producen un viraje del indicador de pH al color rojo intenso. Debido a esto, se observan como colonias de color rojo púrpura, de 1 a 2 mm de diámetro, rodeadas, generalmente, de una zona rojiza de bilis precipitada (Britania Lab, 2021).

Características del medio sin inocular: Color rojo, pH final:  $7.4 \pm 0.2$



**Figura 12.** Medio agar de Bilis Rojo Violeta sin inocular

<b>Tabla 1. Interpretación de agar de Bilis Rojo Violeta</b>	
<b>Bacterias que fermentan la lactosa.</b>	<b>Bacterias que no fermentan la lactosa.</b>
Colonias rojo púrpura, rodeadas por un halo de precipitación rojizo.	Colonias del color del medio, incoloras.

#### AGAR XILOSA LISINA DESOXICOLATO (XLD)

El agar XLD fue desarrollado por Taylor para incrementar la eficiencia en el aislamiento e identificación de patógenos entéricos, particularmente de *Shigella*

#### FUNDAMENTO

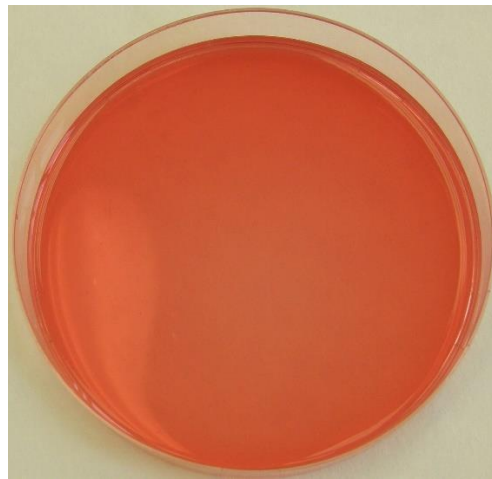
La degradación de los carbohidratos presentes en el medio (xilosa, lactosa y sacarosa) genera la producción de ácido haciendo virar el indicador (rojo fenol) de rojo a amarillo. En este medio se incorpora la xilosa porque es prácticamente fermentada por todas las enterobacterias con excepción de los microorganismos pertenecientes al género *Shigella*. La lisina se incluye para aumentar la diferenciación de los microorganismos pertenecientes al género *Salmonella*, ya que sin la lisina estos microorganismos rápidamente fermentan la xilosa produciendo la acidificación del medio y no se pueden diferenciar de otras especies no patógenas. Como la cantidad de este carbohidrato es limitada, una vez que estos microorganismos lo consumen, comienzan a utilizar la lisina lo cual produce la alcalinización del medio; este hecho se evidencia porque el rojo fenol nuevamente vira a un color rojo. En el caso de los coliformes lisina positiva, para prevenir la alcalización del medio por la utilización de la lisina, se incorpora en el medio un exceso de lactosa y sacarosa.

El medio también tiene la capacidad de detectar la producción de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S), a través del sistema indicador tiosulfato de sodio y citrato férrico amonio. Cuando el

microorganismo produce ácido sulfhídrico se observan colonias con el centro negro. Los microorganismos no patógenos productores de ácido sulfhídrico no descarboxilan la lisina; cuando están presentes estos microorganismos la reacción ácida producida por la utilización de los carbohidratos previene en ennegrecimiento de las colonias.

El desoxicolato de sodio es utilizado como un inhibidor de los microorganismos Gram positivos.

Características del medio sin inocular: color purpura verdoso.



**Figura 13.** Medio Agar XLD sin inocular.

## PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA ENTEROBACTERIAS

Son test químicos que nos permiten identificar plenamente a los diferentes microorganismos. Nos muestran de forma clara las características bioquímicas de las bacterias como la presencia o ausencia de una determinada actividad enzimática del uso de vías metabólicas, desarrollado a determinadas temperaturas, crecimiento en presencia de inhibidores a partir de sustratos que se incorporan al medio de cultivo y que las bacterias utilizan o no, o que las transforma, para llegar a identificar el género y especie del patógeno que causa la infección. Cabe mencionar la importancia de introducir controles en cada una de las pruebas bioquímicas al mismo tiempo y bajo las mismas condiciones con cepas de bacterias previamente identificadas (cepas control positivos y negativos) para cada prueba, así como tubos sin inocular (para componer los colores) como parte del control de calidad interno de cada laboratorio las pruebas siguientes son las que más se utilizan en el laboratorio (Farias, 2015).

## CITRATO DE SIMMONS

Prueba que determina si un organismo esta capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono, así como sales de amonio como única fuente de nitrógeno en su metabolismo, provocando alcalinización del medio.

### FUNDAMENTO

Algunas bacterias toman su energía (en ausencia de vías metabólicas fermentativas o de producción de ácido láctico) utilizando sólo el citrato de sodio como única fuente de carbono.

Las bacterias poseen un mecanismo de transporte como la permeasa, la cual permite que el citrato penetra en el interior de la célula donde se desdobla con ayuda de un sistema enzimático llamado citratasa (citrato oxaloacetato liasa) citrato desmolasa que requiere de un catión divalente para su actividad como el magnesio o el manganeso, produciendo primero oxaloacetato, acetatos y finalmente piruvato. La degradación del piruvato depende del pH del medio. Un microorganismo que puede utilizar el citrato como única fuente de carbono también puede extraer nitrógeno de la sal de amonio, produciendo amoníaco y luego hidróxido de amonio lo que conduce a una alcalinización del medio.

Con esta alcalinización, el ácido pirúvico da origen a ácidos orgánicos que se utilizan como fuente de carbono, produciendo carbonatos y bicarbonatos alcalinos con la posterior degradación.

Estas características se dan en los siguientes géneros de enterobacterias: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter* y algunas especies de salmonella, sin embargo, *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* son incapaces de crecer con estos nutrientes.

El azul de bromotimol (verde a pH de 6 y azul a pH de 7.6) es el indicador de pH que visualiza la alcalinidad del medio (Farias, 2015).

Características del medio sin inocular: El color del medio es verde.



**Figura 14.** Medio citrato de Simmons sin inocular.

<b>Tabla 2. Interpretación de Citrato de Simmons</b>		
<b>Prueba</b>	<b>Resultado positivo</b>	<b>Resultado negativo</b>
<b>Citrato de Simmons</b>	El color del medio cambia a azul.	No ocurre cambio alguno en el medio (verde).

## KLIGLER HIERRO AGAR

Prueba que se utiliza para determinar la capacidad de un microorganismo para utilizar de manera fermentativa glucosa y/o lactosa incorporadas en el medio de crecimiento, produciendo ácido o ácido con gas.

## FUNDAMENTO

El agar hierro de kligler contiene dos carbohidratos: La lactosa al 1% y la glucosa al 0.1%. Algunas bacterias tienen la capacidad de fermentar solamente la glucosa; otras, la glucosa y la lactosa; otras no son capaces de fermentar ni la glucosa ni la lactosa.

La fermentación del azúcar produce ácido que se observa por el cambio del indicador rojo de fenol (a pH de 6.8 es amarillo y a pH de 8.4 es rojo) al color amarillo.

Cuando la fermentación se produce en condiciones aeróbicas tanto para la lactosa como para la glucosa, se observa en la zona de pico de flauta; cuando es en anaerobiosis se observa en la capa inferior del tubo y solo es para la glucosa. Se han observado tres formas básicas de fermentación del medio: ácido-ácido, alcalino-ácido y alcalino-alcalino.

- Relación ácido-ácido (fermentación tanto de lactosa como de la glucosa)

Algunas bacterias tienen la capacidad de fermentar tanto la lactosa (que se observa en la zona de pico de flauta con un cambio del medio a color amarillo), como la glucosa (que se observa en el fondo del tubo con un cambio de medio a color amarillo). Si se leyera el tubo después de 48 horas la lactosa se consume, entonces usa la proteína como sustrato

alcalinizando el medio y cambiando a color rojo naranja, por lo cual es importante efectuar la lectura las 24 horas.

- Relación alcalino-ácido (sólo se fermenta la glucosa)

Se observa un pico de flauta alcalino y una capa profunda ácida. En este caso la bacteria es capaz de fermentar solamente a la glucosa y no a la lactosa. El pico de flauta es alcalino e indica que se ha producido la degradación aeróbica de la glucosa, pero como su concentración es baja (0.1%), después de 8 a 24 horas se ha consumido por completo y el microorganismo comienza a utilizar las peptonas del medio alcalinizando esta parte del tubo. Sin embargo, en la capa profunda del tubo se observa un color amarillo debido a la degradación anaeróbica de la glucosa, produciendo ácido con el consecuente cambio de color del medio. Si se realiza la lectura antes de 24 horas, la glucosa en la zona de pico de flauta no se ha consumido totalmente, por lo que da una reacción falsa.

- Relación alcalino-alcalino (no hay fermentación de la glucosa ni de la lactosa)

Las bacterias no son capaces de fermentar ni la lactosa ni la glucosa utilizan a las peptonas como sustratos principales de manera aeróbica, liberando aminas y alcalinizando el medio.

## PRODUCCIÓN DE GAS

En este medio, también se puede ver si se produce gas como producto final del metabolismo de los hidratos de carbono. Los gases producidos son dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y dihidrógeno ( $\text{H}_2$ ). La bacteria que produce gas se denomina aerógena y la que no lo produce es anaerógena.

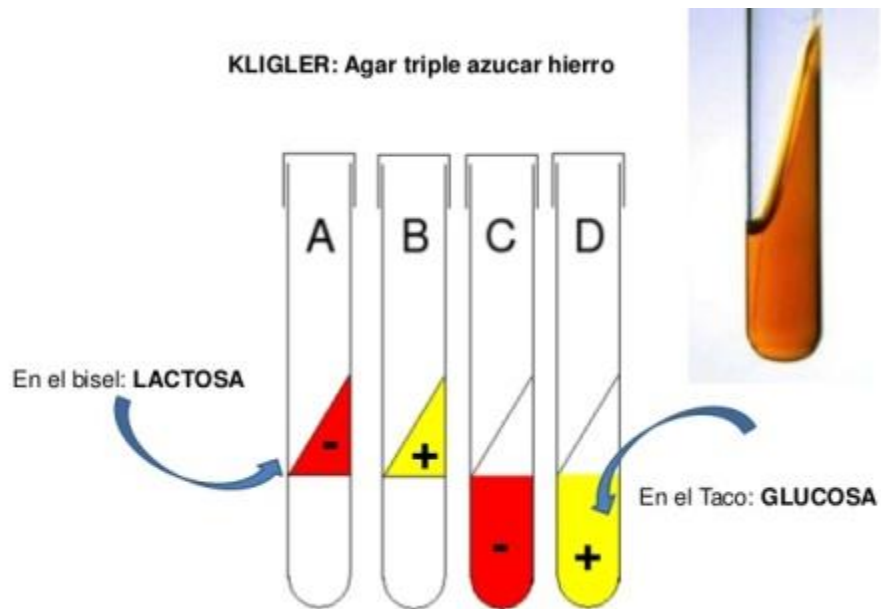
Características del medio: El color del medio sin inocular es rojo o naranja



**Figura 15.** Medio Kligler hierro agar sin inocular

<b>Tabla 3. Interpretación de Kligler Hierro Agar</b>		
<b>Prueba</b>	<b>Resultado positivo</b>	<b>Resultado negativo</b>
<b>Kligler Hierro Agar</b>	El color del medio cambia a amarillo.	No ocurre cambio alguno en el medio.
<b>Producción de gas</b>	Presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo.	Sin cambio en el medio.
<b>Producción de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S)</b>	Ennegrecimiento del medio	No ocurre cambio en el medio.

Por lo que las reacciones se observan de la siguiente manera:



**Figura 15.1.** Interpretación de Kligler Hierro Agar

<b>Tabla 3.1. Interpretación de Kligler Hierro Agar</b>		
<b>Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rojo/fondo amarillo)</b>	<b>Superficie ácida/profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo)</b>	<b>Superficie alcalina/profundidad alcalina (pico rojo/fondo rojo)</b>
El microorganismo solamente fermenta la glucosa.	El microorganismo fermenta glucosa y lactosa.	El microorganismo es no fermentador de azúcares.

## MEDIO SIM

Prueba que se utiliza para determinar si se ha liberado ácido sulfúrico por acción enzimática de los aminoácidos que contienen azufre, produciendo una reacción visible de color negro.



## FUNDAMENTO

La proteólisis de las proteínas produce aminoácidos individuales, ciertas bacterias heterotróficas pueden liberar enzimáticamente el azufre de diversos aminoácidos o de compuestos azufrados como metionina, cistina, cistina o tiosulfato produciendo ácido sulfhídrico gaseoso dependiendo de la especie bacteriana y de las enzimas que posee el sustrato por usar este gas incoloro reacciona con una sal férrica para producir un precipitado negro insoluble de sulfuro ferroso.

## PRUEBA DE MOVILIDAD EN EL MEDIO SIM

Ayuda a determinar si un organismo es móvil o inmóvil.

## FUNDAMENTO

Las bacterias tienen movilidad por medio de sus flagelos, cuyo número y ubicación varía entre las diferentes especies y es común encontrarlos, principalmente en los bacilos; sin embargo, existen escasos cocos que son móviles. El medio SIM permite realizar esta prueba por ser un medio semisólido, ya que presenta solamente 3.5 g por cada litro de agar, lo que facilita el desplazamiento de la bacteria. Entre las enterobacterias, la movilidad nos permite diferenciar los géneros *klebsiella* y *shigella* (movilidad negativa) de las restantes que suelen ser de movilidad positiva. Dentro del género *Bacillus* permite diferenciar *B. anthracis* (de movilidad negativa) de otras especies que son generalmente de movilidad positiva.

## PRUEBA DE PRODUCCIÓN DE INDOL EN EL MEDIO SIM

Ayuda a determinar la capacidad de una bacteria para separar el indol de la molécula triptófano.

## FUNDAMENTO

El triptófano es un aminoácido que se encuentra en las peptonas como la caseína o tripteína y es degradado por ciertas bacterias en un proceso donde intervienen varias enzimas que en conjunto se les llama triptofanasas, que son capaces de hidrolizarlo produciendo tres metabolitos indólicos: indol, escatol e indolacético. Cuando existe indol, este se combina con el p-dimetilamino-benzaldehído que se encuentra tanto en el reactivo de Kovacs con como en el de Ehrlich para dar un color rojo en la capa de alcohol.

NOTA: El reactivo de Kovacs tiene como diluyente de alcohol amílico y el reactivo de Ehrlich contiene alcohol etílico absoluto. Cuando se emplea el reactivo de Ehrlich, ese debe ser precedido por la adición de 1 ml de cloroformo, ya que el indol es soluble en este solvente orgánico lo cual facilita su extracción; esto no es necesario si se usa el reactivo de Kovacs.

Características del medio sin inocular: Color ámbar claro.



**Figura 16.** Medio SIM sin inocular.

NOTA: El reactivo de Kovacs debe ser fresco, ya que, si se almacena a temperatura ambiente durante un tiempo prolongado, el calor hace que el reactivo cambie de color amarillo al marrón disminuyendo su sensibilidad. Los medios utilizados para la producción de indol no deben contener glucosa, ya que al fermentar la sea significa el medio inhibiendo la actividad enzimática sin producción de indol.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Primero, observar la movilidad y el color del medio de cultivo para determinar la producción de S<sub>2</sub>H. Luego realizar la prueba de indol.

Prueba del indol: Agregar al medio de cultivo 3 a 5 gotas de Indol Reactivo o Kovacs.

<b>Tabla 4. Interpretación de SIM</b>		
<b>Prueba</b>	<b>Resultado positivo</b>	<b>Resultado negativo</b>
<b>Movilidad</b>	Presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra.	Crecimiento solamente en la línea de siembra.
<b>Producción de S<sub>2</sub>H</b>	Ennegrecimiento del medio de cultivo a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio.	El medio permanece sin cambio de color.
<b>Producción de gas</b>	Presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo.	El medio permanece sin ningún cambio.
<b>Indol</b>	Color rojo.	El color del reactivo revelador permanece incoloro-amarillento.

## MEDIO MR – VP

Medio utilizado para la realización del ensayo de Rojo de Metilo y Voges Proskauer. Es particularmente útil para la clasificación de enterobacterias.

### FUNDAMENTO

En el medio de cultivo, la pluripeptona aporta los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano y la glucosa es el hidrato de carbono fermentable.

La glucosa puede ser metabolizada por los microorganismos, a través de distintas vías metabólicas. Según la vía utilizada, se originarán productos finales ácidos (ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico), o productos finales neutros (acetilmetil carbinol). Esta diferencia en el metabolismo bacteriano podría ser reconocida por la adición de un indicador como rojo de metilo, para revelar la presencia de productos ácidos, y por la adición de alfa naftol e hidróxido de potasio para evidenciar la presencia de productos finales neutros.

Voges y Proskauer, describieron una coloración rojiza que aparecía después de adicionar hidróxido de potasio a los cultivos de ciertos microorganismos en medio con glucosa. Esta coloración se debe a la oxidación del acetilmetil carbinol a diacetilo el cual reacciona con la peptona del medio para dar un color rojo.

Características del medio sin inocular: Color ámbar claro, transparente sin precipitado.



**Figura 17.** Medio MR – VP sin inocular.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Examinar los tubos y revelar las pruebas bioquímicas

Prueba del rojo de metilo: añadir unas gotas de una solución de rojo de metilo al 0.04%, observar el color del medio.

Prueba del Voges Proskauer: añadir 0,6 ml de alfa naftol al 5% en alcohol etílico absoluto y 0.2 ml de hidróxido de potasio al 40% a 2.5 ml de cultivo. Agitar vigorosamente el tubo, y

dejar a temperatura ambiente durante 10-15 minutos. Observar el color de la superficie del medio.

<b>Tabla 5. Interpretación de Rojo de Metilo y Voges Proskauer</b>		
<b>Prueba</b>	<b>Resultado positivo</b>	<b>Resultado negativo</b>
<b>Rojo de metilo</b>	Color rojo	Color amarillo
<b>Voges Proskauer</b>	Desarrollo de color rojo en pocos minutos después de una completa agitación del tubo.	Ausencia de color rojo.

## CALDO UREA

Ayuda a determinar la capacidad de un organismo de hidrolizar la urea.

## FUNDAMENTO

Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus* y se usa, sobre todo, para diferenciar este género de otras enterobacterias que dan una reacción negativa o positiva retardada. La urea es hidrolizada por aquellos microorganismos capaces de producir la enzima ureasa, produciendo dos moléculas de amoníaco que en solución se hidrolizan a carbonato de amonio alcalinizando el medio, con el consecuente cambio de color del indicador rojo de fenol (es amarillo pH de 6.8 y es rojo pH de 8.4) de rosa naranja a rojo-fucsia, poniéndose así de manifiesto la actividad de la ureasa. La ureasa es una enzima constitutiva que es sintetizada por ciertas bacterias sin tomar en consideración la presencia o ausencia de la urea.

Características del medio sin inocular: Color rosa naranja.



**Figura 18.** Medio ureasa sin inocular.

NOTA: Para lograr el resultado de esta prueba, es importante tener en cuenta el tiempo de incubación, ya que especies de *Proteus* vuelven alcalino el medio poco tiempo después de la inoculación, por lo que el resultado se debe leer en las primeras dos a seis horas, mientras que

algunas cepas de *Citrobacter*, *Klebsiella* y de *Enterobacter* tienen actividad retardada de la ureasa, observándose después de las 24 a 48 horas de incubación.

<b>Tabla 6. Interpretación de Ureasa</b>		
<b>Prueba</b>	<b>Resultado positivo</b>	<b>Resultado negativo</b>
<b>Ureasa</b>	Color rojo fucsia	Color rosa naranja

### 3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antimicótica de cinco aceites esenciales en *Trixis angustifolia*, *Dalea bicolor*, *Zaluzania triloba*, *Tagetes parry* y *Eupatorium glabrata*.

### 4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración de inhibición de los aceites *Trixis angustifolia*, *Dalea bicolor*, *Zaluzania triloba*, *Tagetes parry* y *Eupatorium glabrata*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> de los aceites *Trixis angustifolia*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> del aceite *Dalea bicolor*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> del aceite *Zaluzania triloba*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> del aceite *Tagetes parry*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> del aceite *Eupatorium glabrata*.
- Identificar bioquímicamente cepas de enterobacterias.
- Conservar cepas de enterobacterias.

### 5. JUSTIFICACIÓN

La incidencia de infecciones fúngicas ha aumentado significativamente lo que representa una problemática a nivel clínico, la candidiasis invasiva es una de las principales causas de mortalidad en paciente hospitalizados representando el 50% de los casos. Algunas especies de *Candida* diferentes a *C. albicans* han surgido como candidemias graves, debido a que pueden presentar resistencia al fluconazol y otros agentes antifúngicos. *Candida glabrata*, *Candida krusei*, y *Candida tropicalis* son levaduras causantes de infecciones sistémicas que representan entre el 15 - 25% de las infecciones del torrente sanguíneo. Las infecciones fúngicas generalmente se tratan con cinco clases principales de agentes antifúngicos que incluyen azoles, equinocandinas, polienos, alilaminas y análogos de nucleósidos. Fluconazol, un azol, es el fármaco antimicótico más utilizado debido a su baja toxicidad para el huésped, alta solubilidad en agua y alta biodisponibilidad (Jamiu *et al.*, 2021). Sin embargo, ha habido un cambio epidemiológico en la incidencia de infecciones por levaduras a nivel mundial, la presente investigación se enfocará en evaluar la actividad antimicrobiana de cinco aceites en las levaduras *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, ya que son difíciles de tratar debido a su susceptibilidad reducida a los agentes antifúngicos comunes. Por lo tanto, la amenaza de la resistencia a los antifúngicos, junto con la escasez del arsenal de antifúngicos, así como los desafíos involucrados en el desarrollo de fármacos antifúngicos, en parte debido a la

naturaleza eucariota tanto de los hongos como de los humanos, nos han llevado a explorar terapias alternativas como lo es el uso de aceites esenciales.

## **6. METODOLOGÍA**

### **6.1 ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE ACEITES ESENCIALES**

Proliferación e inoculación: una vez estéril y atemperado el caldo Dextrosa Sabouraud, adicionar 300 µL de levadura correspondiente en un tubo de 13 x 100 con 3 mL con caldo. Incubar a 37 °C por 24 horas en la estufa.

Determinación de la actividad mínima inhibitoria: ajustar la cepa a 0.5 UFC en función de la curva de McFarland en el densitómetro, hacer una dilución 1:1000 con solución salina (SS). En una placa de 96 pozos agregar 100 µL de caldo dextrosa Sabouraud en la columna 1 (A-H); agregar 50 µL del aceite *Trixis angustifolia*, *Dalea bicolor*, *Zaluzania triloba*, *Tagetes parry* y *Eupatorium glabrata* (2A-2E). como controles usar 50 µL de etanol a la columna 2F; 50 µL del antimicótico fluconazol a la columna 2G; 50 µL del antibiótico ciprofloxacina a la columna 2H. Agregar 50 µL de SS a todos los pozos, excepto en la columna 1 (A-H), adicionar 50 µL de inóculo 1:1000 y hacer diluciones seriadas de los aceites, usando concentraciones de 4000-500 µg/ mL (diluciones seriadas) para probar las concentraciones de 4000, 3500, 2000 2500, 2000, 1500, 1000, y 500 µg/ mL e incubar durante 24 horas. Leer a una absorbancia de 655 nm.

### **6.2 IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS**

Preparación de medios de cultivo líquidos y semisólidos: preparar medios de acuerdo con su ficha de seguridad, rotular y conservar en refrigerador.

Proliferación e inoculación: una vez estéril y atemperado el caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI), adicionar 300 µL de enterobacteria correspondiente en un tubo de 13 x 100 con 3 mL con caldo y rotular. Incubar a 37 °C por 24 horas en la estufa.

Aislamiento de enterobacterias y pruebas bioquímicas: revisar la densidad óptica para comprobar el crecimiento de las enterobacterias. Tomar con una asa bacteriológica una muestra y sembrar por agotamiento en las baterías de agares preparados previamente: agar nutritivo, bilis verde brillante, MacConckey, EMB, XLD y bilis rojo violeta, siendo estos dos últimos específicamente para *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomona aeruginosa*

ATCC 27853. Rotular e incubar a 37 °C por 24 horas en la estufa. Transcurridas las horas de incubación, revisar el crecimiento e identificar las colonias aisladas, tomar una muestra de agar nutritivo para realizar las pruebas bioquímicas: citrato de Simmons, Kligler, SIM, ureasa y MR – VP.

## 7. RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

### 7.1 ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE ACEITES ESENCIALES

Ver tablas, en resumen

### 7.2 IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS

Para el aislamiento de *Klebsiella sp.*, *Salmonella thipymurium*, *Salmonella sp.*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ATCC 8739 y 25404 se empleó la siguiente batería de agares: Agar Nutritivo, agar de Bilis Verde Brillante, agar MacConckey y agar Eosina de Azul y Metileno (EMB). Además, para el aislamiento de *E. coli* ATCC 25922 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 se emplearon los medios anteriormente mencionados y se añadieron los medios agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) y el agar de Bilis Rojo Violeta, donde, en este último no hubo crecimiento de *E. coli* ATCC 25922.

Para la caracterización bioquímica se usaron los siguientes medios: Citrato de Simmons, Kligler, SIM, MR – VP y ureasa. Para la realización de la prueba Voges Proskauer, específicamente para *Klebsiella sp.*, *Salmonella thipymurium*, *Salmonella sp.*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ATCC 8739 y 25404, no se pudo determinar el resultado, ya que el reactivo alfa-naftol se precipitaba al entrar en contacto con el medio. El reactivo alfa-naftol debe ser fresco, ya que, si se almacena a temperatura ambiente durante un tiempo prolongado, el calor hace que vaya disminuyendo su sensibilidad.

A continuación, se muestran las figuras del aislamiento de las enterobacterias con su batería de agares y pruebas bioquímicas correspondientes.

#### *Klebsiella sp.*

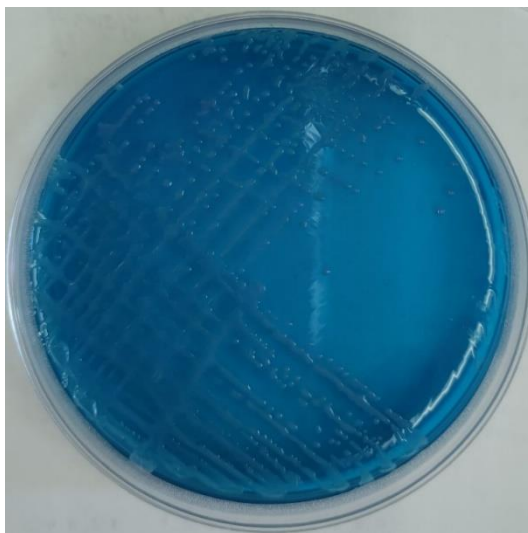
En la Figura 19 se observa a colonias de *Klebsiella sp.* aisladas en medio agar nutritivo presentan un tamaño mediano, que va de 2 a 3 mm, con una forma circular, borde regular, opacas, con elevación, con una consistencia mucoide, color blanco y son brillosas, además el medio no presento un cambio de coloración.





**Figura 19.** Colonias de *Klebsiella sp.* en agar nutritivo

En la Figura 20 se observa a colonias de *Klebsiella sp.* aisladas en medio agar de bilis verde brillante presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, convexas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



**Figura 20.** Colonias de *Klebsiella sp.* en agar de bilis verde brillante

En la Figura 21 se observa a colonias de *Klebsiella sp.* aisladas en medio agar MacConkey presentan un tamaño mediano (2 mm), con forma circular, borde entero, opacas, convexas, con una consistencia mucoide, color rosado y brillosas. Se forman colonias rosadas debido a la fermentación de lactosa.








**Figura 21.** Colonias de *Klebsiella sp.* en agar MacConckey

En la Figura 22 se observa a colonias de *Klebsiella sp.* aisladas en medio Agar EMB presentan un tamaño grande (3 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, elevadas, con una consistencia suave, color violeta y brillosas.



**Figura 22.** Colonias de *Klebsiella sp.* en agar EMB

## Pruebas bioquímicas

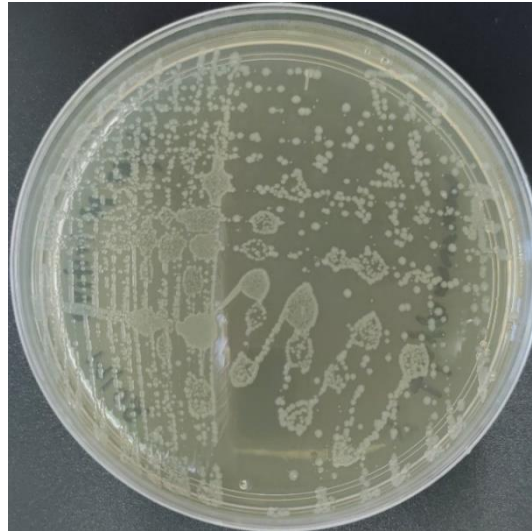
<b>Tabla 1-a. Pruebas bioquímicas de <i>Klebsiella sp.</i></b>						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Figuras</b>  (23-27)		 Reacción ácida- ácida: lactosa (+), glucosa (+).			No aplica	

Para realizar la interpretación de las pruebas bioquímicas se consultó literatura para realizar la comparativa con los resultados obtenidos en el laboratorio, a continuación, se muestra la “Tabla 1-b. Pruebas bioquímicas de *Klebsiella spp.*” con los datos recopilados.

<b>Tabla 1-b. Pruebas bioquímicas de <i>Klebsiella sp.</i></b>						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Interpretación en literatura</b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>H2S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Negativo(-) <b>H2S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)
<b>Interpretación en laboratorio</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H2S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Negativo(-) <b>H2S:</b> Negativo(-) <b>Indol:</b> Negativo(-)	Positivo (+)	No determinada	Negativo (-)

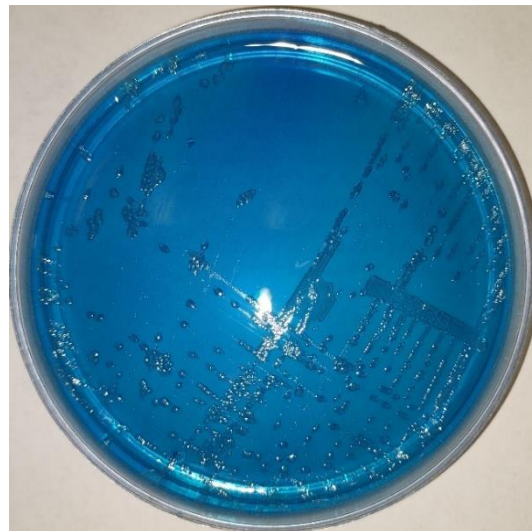
*Salmonella thipymurium*

En la Figura 28 se observa a colonias de *Salmonella thipymurium* aisladas en medio agar nutritivo presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



**Figura 28.** Colonias de *Salmonella thipymurium* en agar nutritivo

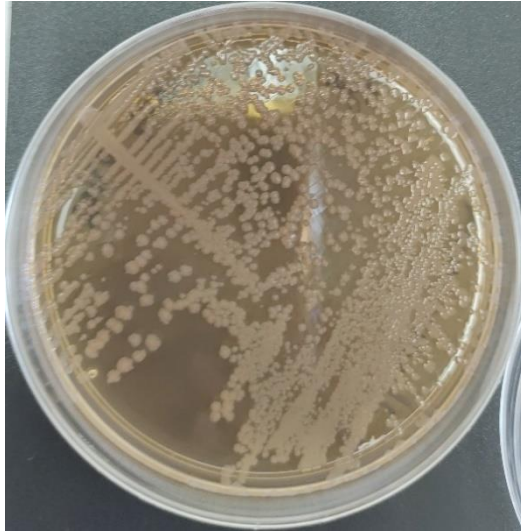
En la Figura 29 se observa a colonias de *Salmonella thipymurium* aisladas en medio agar de bilis verde brillante presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma fusiforme, borde ondulado, opacas, planas, con una consistencia suave, color rosa y brillosas.



**Figura 29.** Colonias de *Salmonella thipymurium* en agar de bilis verde brillante

En la Figura 30 se observa a colonias de *Salmonella thipymurium*. aisladas en medio agar MacConckey presentan un tamaño mediano (2 mm), con forma irregular, borde ondulado,

opacas, planas, con una consistencia suave, color café y brillosas, además, el medio presenta un cambio de coloración que va de rojo a naranja café.








**Figura 30.** Colonias de *Salmonella thipymurium* en agar MacConkey

En la Figura 31 se observa a colonias de *Salmonella thipymurium*. aisladas en medio Agar EMB presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma fusiforme, borde ondulado, opacas, planas, con una consistencia suave, color café y brillosas.



**Figura 31.** Colonias de *Salmonella thipymurium* en agar EMB

Pruebas bioquímicas

Tabla 2-a. Pruebas bioquímicas de <i>Salmonella thipymurium</i> .						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Figuras</b>  (32-36)		 Reacción alcalina-ácida: lactosa (-), glucosa (+).			No aplica	

Para realizar la interpretación de las pruebas bioquímicas se consultó literatura para realizar la comparativa con los resultados obtenidos en el laboratorio, a continuación, se muestra la “Tabla 2-b. Pruebas bioquímicas de *Salmonella thipymurium*.” con los datos recopilados.

Tabla 2-b. Pruebas bioquímicas de <i>Salmonella thipymurium</i> .						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Interpretación en literatura</b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Negativo(-) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b>Interpretación en laboratorio</b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Negativo(-) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo(+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Positivo (+)	No determinado	Negativo (-)

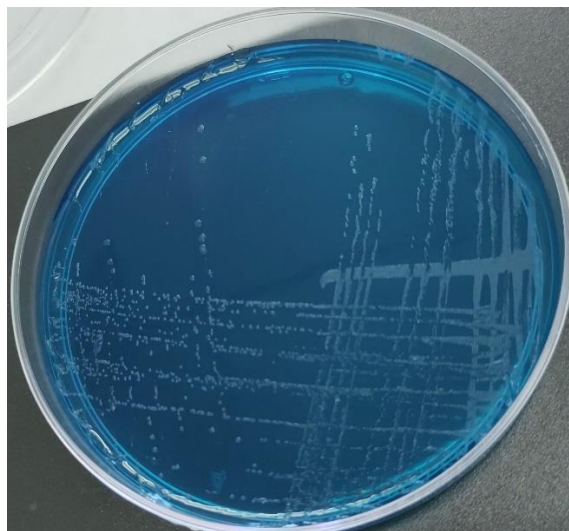
*Salmonella sp.*

En la Figura 37 se observa a colonias de *Salmonella sp.* aisladas en medio agar nutritivo presentan un tamaño puntiforme (menores a 1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, convexas, con una consistencia dura, color blanco y sin brillo.



**Figura 37.** Colonias de *Salmonella sp.* en agar nutritivo

En la Figura 38 se observa a colonias de *Salmonella sp.* aisladas en medio agar de bilis verde brillante presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, convexas, con una consistencia dura, color blanco y sin brillo.



**Figura 38.** Colonias de *Salmonella sp.* en agar de bilis verde brillante

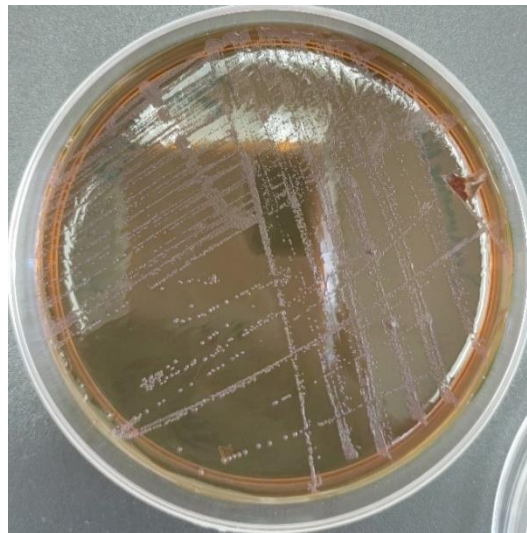
En la Figura 39 se observa a colonias de *Salmonella sp.* aisladas en medio agar MacConckey presentan un tamaño grande (3 mm), con forma irregular, borde ondulado,

opacas, planas, con una consistencia dura, color café y brillosas, además, el medio presenta un cambio de coloración que va de rojo a naranja café.



**Figura 39.** Colonias de *Salmonella sp.* en agar MacConkey

En la Figura 40 se observa a colonias de *Salmonella sp.* aisladas en medio Agar EMB presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia dura, color violeta y sin brillo.


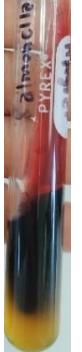





**Figura 40.** Colonias de *Salmonella sp.* en agar EMB

#### Pruebas bioquímicas

Para la caracterización bioquímica se usaron los siguientes medios: Citrato de Simmons, Kligler, SIM, MR – VP y ureasa, a continuación, se muestran las figuras con los resultados obtenidos.



Tabla 3-a. Pruebas bioquímicas de <i>Salmonella sp.</i>						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Figuras</b>  <b>(41-45)</b>		 Reacción alcalina-ácida: lactosa (-), glucosa (+).			No aplica	

Para realizar la interpretación de las pruebas bioquímicas se consultó literatura para realizar la comparativa con los resultados obtenidos en el laboratorio, a continuación, se muestra la “Tabla 3-b. Pruebas bioquímicas de *Salmonella sp.*” con los datos recopilados.

Tabla 3-b. Pruebas bioquímicas de <i>Salmonella sp.</i>						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Interpretación en literatura</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Negativo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo(-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b>Interpretación en laboratorio</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Negativo(-) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo(-)	Negativo (-)	N. D.	Negativo (-)

N. D: No determinado.

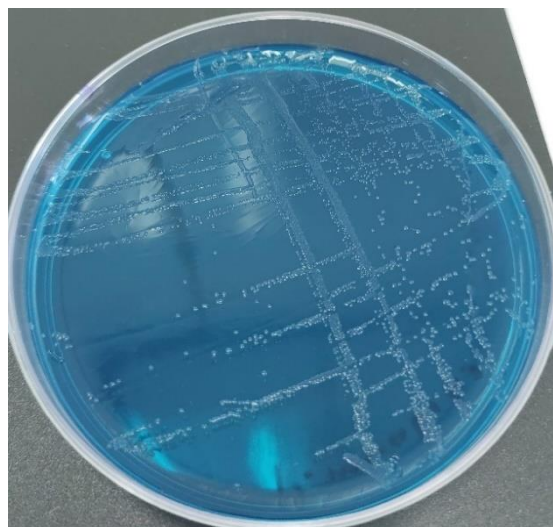
*Proteus mirabilis*

En la Figura 46 se observa a colonias de *Proteus mirabilis* aisladas en medio agar nutritivo presentan un tamaño puntiforme (menores a 1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



**Figura 46.** Colonias de *Proteus mirabilis* en agar nutritivo

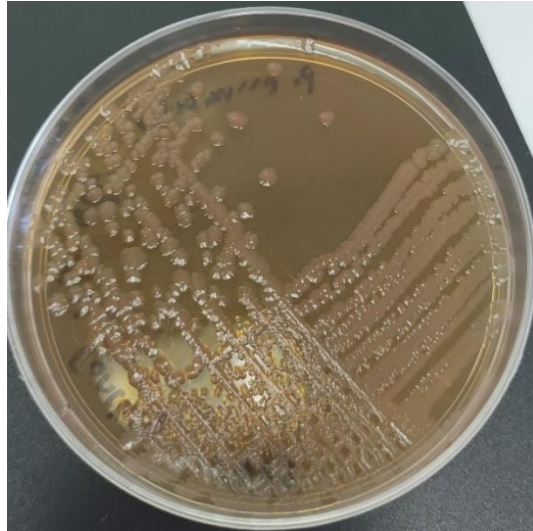
En la Figura 47 se observa a colonias de *Proteus mirabilis* aisladas en medio agar de bilis verde brillante presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color rosa y brillosas.



**Figura 47.** Colonias de *Proteus mirabilis* en agar de bilis verde brillante

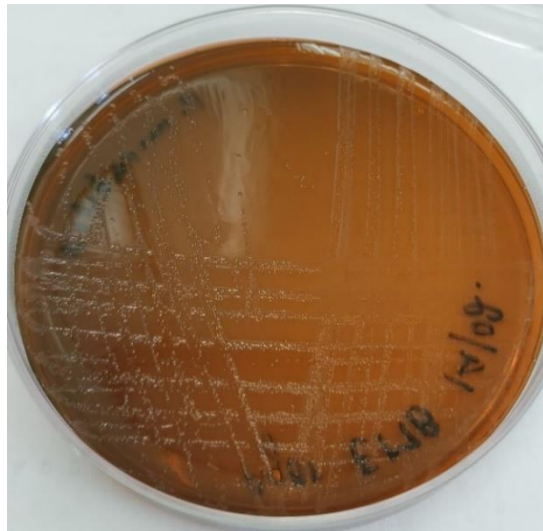
En la Figura 48 se observa a colonias de *Proteus mirabilis* aisladas en medio agar MacConckey presentan un tamaño mediano (2 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, planas, con una consistencia dura, color café y brillosas, además, el medio

presenta un cambio de coloración que va de rojo a amarillo, indicando que las bacterias no fermentan lactosa.



**Figura 48.** Colonias de *Proteus mirabilis* en agar MacConckey

En la Figura 49 se observa a colonias de *Proteus mirabilis* aisladas en medio Agar EMB presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color rosa claro y brillosas.








**Figura 49.** Colonias de *Proteus mirabilis* en agar EMB

#### Pruebas bioquímicas

Para la caracterización bioquímica se usaron los siguientes medios: Citrato de Simmons, Kligler, SIM, MR – VP y ureasa. En la Tabla 4-a se realizó una recopilación de las figuras con los resultados obtenidos, donde se observó que en Citrato de Simmons no hubo

alcalinización del medio, por lo tanto, el microorganismo no es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono. En el medio Kligler hubo una reacción ácido-ácido: el microorganismo fermenta glucosa y lactosa, no hay producción de gas y se observa ennegrecimiento del medio: producción de ácido sulfhídrico.

Tabla 4-a. Pruebas bioquímicas de <i>Proteus mirabilis</i> .						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Figuras</b>  (50-54)		 Reacción ácido-ácido: lactosa (+), glucosa (+).			No aplica	

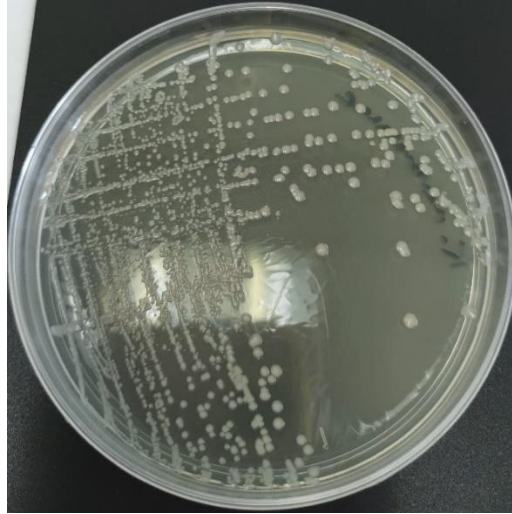
Para realizar la interpretación de las pruebas bioquímicas se consultó literatura para realizar la comparativa con los resultados obtenidos en el laboratorio, a continuación, se muestra la “Tabla 4-b. Pruebas bioquímicas de *Proteus mirabilis*.” con los datos recopilados.

Tabla 4-b. Pruebas bioquímicas de <i>Proteus mirabilis</i> .						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Interpretación en literatura</b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Positivo(+) <b>Lactosa:</b> Negativo(-) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo(+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo(+) <b>Indol:</b> Negativo(-)	Positivo (+)	Negativo (-)	Positivo (+)
<b>Interpretación en laboratorio</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo(+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo(-)	Positivo (+)	N. D.	Positivo (+)

N. D: No determinado.

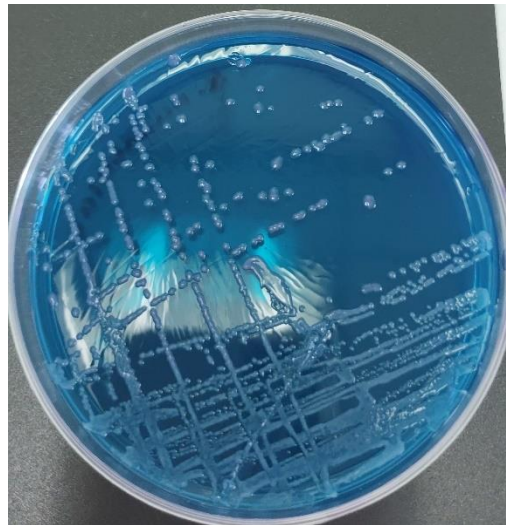
*Klebsiella pneumoniae*

En la Figura 55 se observa a colonias de *Klebsiella pneumoniae* aisladas en medio agar nutritivo presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



**Figura 55.** Colonias de *Klebsiella pneumoniae* en agar nutritivo

En la Figura 56 se observa a colonias de *Klebsiella pneumoniae* aisladas en medio agar de bilis verde brillante presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



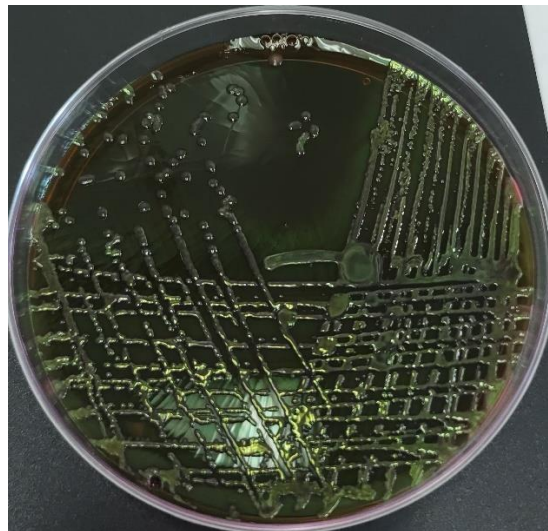
**Figura 56.** Colonias de *Klebsiella pneumoniae* en agar de bilis verde brillante

En la Figura 57 se observa a colonias de *Klebsiella pneumoniae* aisladas en medio agar MacConckey presentan un tamaño grande (3 mm), con forma circular, borde entero, opacas, convexas, con una consistencia mucoide, color rosado y brillosas.



**Figura 57.** Colonias de *Klebsiella pneumoniae* en agar MacConckey






En la Figura 58 se observa a colonias de *Klebsiella pneumoniae* aisladas en medio Agar EMB presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, convexas, con una consistencia suave, color morado verde metálico y brillosas.



**Figura 58.** Colonias de *Klebsiella pneumoniae* en agar EMB

#### Pruebas bioquímicas

Para la caracterización bioquímica se usaron los siguientes medios: Citrato de Simmons, Kligler, SIM, MR – VP y ureasa, a continuación, se muestran las figuras con los resultados obtenidos.

Tabla 5-a. Pruebas bioquímicas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Figuras</b>  (59-63)		 Reacción ácido-ácido: lactosa (+), glucosa (+).			No aplica	

Para realizar la interpretación de las pruebas bioquímicas se consultó literatura para realizar la comparativa con los resultados obtenidos en el laboratorio, a continuación, se muestra la “Tabla 5-b. Pruebas bioquímicas de *Klebsiella pneumoniae*.” con los datos recopilados.

Tabla 5-b. Pruebas bioquímicas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Interpretación en literatura</b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b>	<b>Movilidad:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Negativo (-)	Positivo (+)	Positivo (+)
<b>Interpretación en laboratorio</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	N. D.	Negativo (-)

N. D: No determinado.

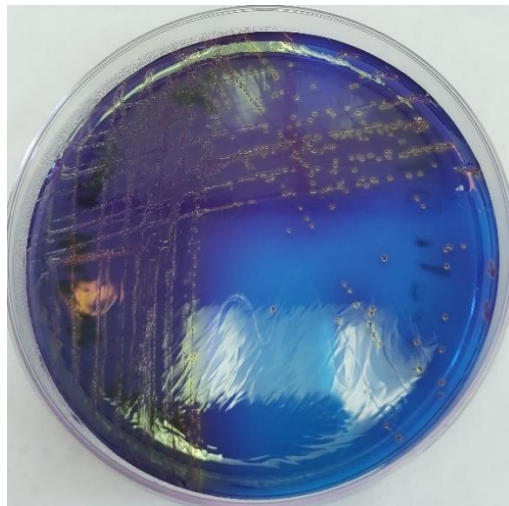
*Escherichia coli* ATCC 8739

En la Figura 64 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 8739 aisladas en medio agar nutritivo presentan un tamaño mediano (2 a 3 mm), con forma irregular, borde ondulado, transparentes, planas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



**Figura 64.** Colonias de *E. coli* ATCC 8739 en agar nutritivo

En la Figura 65 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 8739 aisladas en medio agar de bilis verde brillante presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma irregular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color violeta metálico y brillosas, además, el medio presenta un cambio de coloración.



**Figura 65.** Colonias de *E. coli* ATCC 8739 en agar de bilis verde brillante

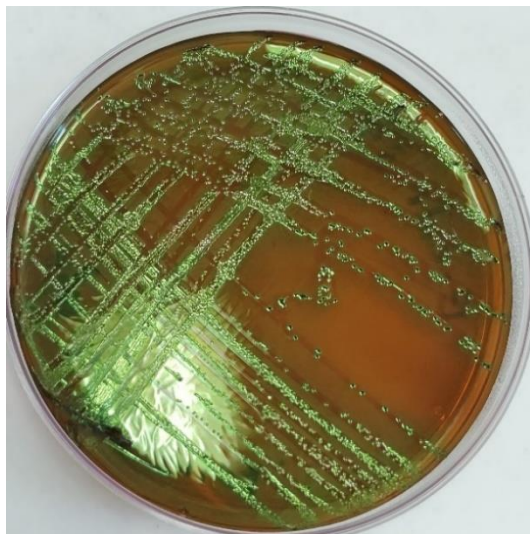


En la Figura 66 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 8739 aisladas en medio agar MacConckey presentan un tamaño grande (3 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, planas, con una consistencia suave, color rosado y sin brillo.



**Figura 66.** Colonias de *E. coli* ATCC 8739 en agar MacConckey






En la Figura 67 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 8739 aisladas en medio Agar EMB presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma irregular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color verde metálico y brillosas.



**Figura 67.** Colonias de *E. coli* ATCC 8739 en agar EMB

## Pruebas bioquímicas

Para la caracterización bioquímica se usaron los siguientes medios: Citrato de Simmons, Kligler, SIM, MR – VP y ureasa, a continuación, se muestran las figuras con los resultados obtenidos.

Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Figuras</b>  <b>(68-72)</b>		 Reacción ácido-ácido: lactosa (+), glucosa (+).			No aplica	

Para realizar la interpretación de las pruebas bioquímicas se consultó literatura para realizar la comparativa con los resultados obtenidos en el laboratorio, a continuación, se muestra la “Tabla 6-b. Pruebas bioquímicas de *E. coli* ATCC 8739.” con los datos recopilados.

Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Interpretación en literatura</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b>Interpretación en laboratorio</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo(-)	Positivo (+)	N. D.	Negativo (-)

N. D: No determinado.

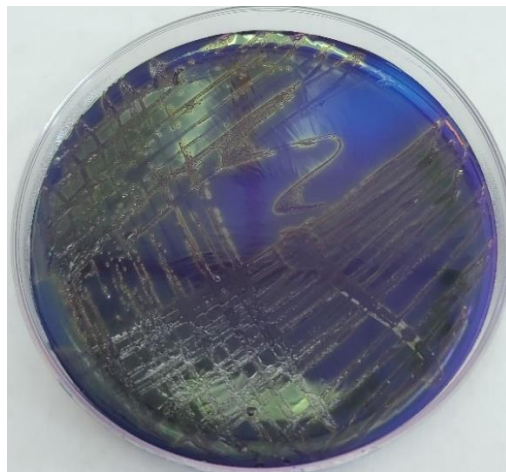
*Escherichia coli* ATCC 25404

En la Figura 73 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25404 aisladas en medio agar nutritivo presentan un tamaño mediano (2 a 3 mm), con forma irregular, borde ondulado, transparentes, elevadas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



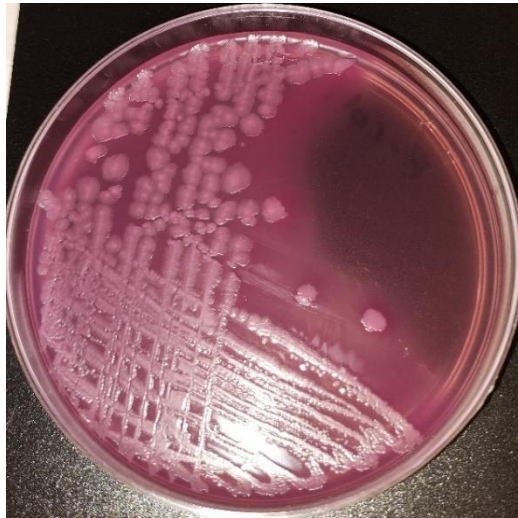
**Figura 73.** Colonias de *E. coli* ATCC 25404 en agar nutritivo

En la Figura 74 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25404 aisladas en medio agar de bilis verde brillante presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color violeta metálico y brillosas, además, el medio presenta un cambio de coloración que va de azul a púrpura.



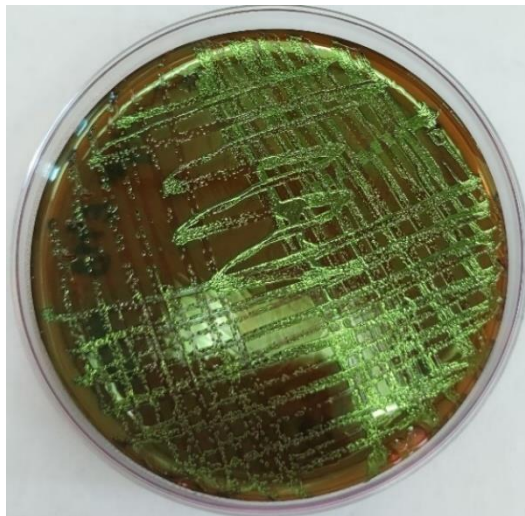
**Figura 74.** Colonias de *E. coli* ATCC 25404 en agar de bilis verde brillante

En la Figura 75 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25404 aisladas en medio agar MacConckey presentan un tamaño grande (3 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, planas, con una consistencia suave, color rosado y sin brillo.



**Figura 75.** Colonias de *E. coli* ATCC 25404 en agar MacConckey






En la Figura 76 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25404 aisladas en medio Agar EMB presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma irregular, borde entero, opacas, elevadas, con una consistencia suave, color verde metálico y brillosas.



**Figura 76.** Colonias de *E. coli* ATCC 25404 en agar EMB

#### Pruebas bioquímicas

Para la caracterización bioquímica se usaron los siguientes medios: Citrato de Simmons, Kligler, SIM, MR – VP y ureasa, a continuación, se muestran las figuras con los resultados obtenidos.

Tabla 7-a. Pruebas bioquímicas de <i>E. coli</i> ATCC 25404.						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Figuras</b>  (77-81)		 Reacción ácido-ácido: lactosa (+), glucosa (+).			No aplica	

Para realizar la interpretación de las pruebas bioquímicas se consultó literatura para realizar la comparativa con los resultados obtenidos en el laboratorio, a continuación, se muestra la “Tabla 7-b. Pruebas bioquímicas de *E. coli* ATCC 25404.” con los datos recopilados.

Tabla 7-b. Pruebas bioquímicas de <i>E. coli</i> ATCC 25404.						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Interpretación en literatura</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b>Interpretación en laboratorio</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	No determinado	Negativo (-)

*Escherichia coli* ATCC 25922

En la Figura 82 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25922 aisladas en medio agar nutritivo presentan un tamaño grande (3 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, planas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



**Figura 82.** Colonias de *E. coli* ATCC 25922 en agar nutritivo

En la Figura 83 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25922 aisladas en medio agar verde brillante presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, planas, con una consistencia suave, color violeta metálico y brillosas, además, el medio presenta un cambio de coloración que va de azul a púrpura.



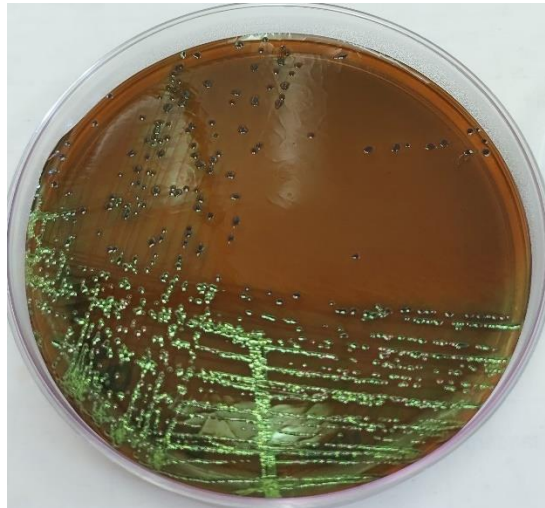
**Figura 83.** Colonias de *E. coli* ATCC 25922 en agar de bilis verde brillante

En la Figura 84 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25922 aisladas en medio Agar MacConckey presentan un tamaño grande (3 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, elevadas, con una consistencia suave, color rosado y sin brillo.



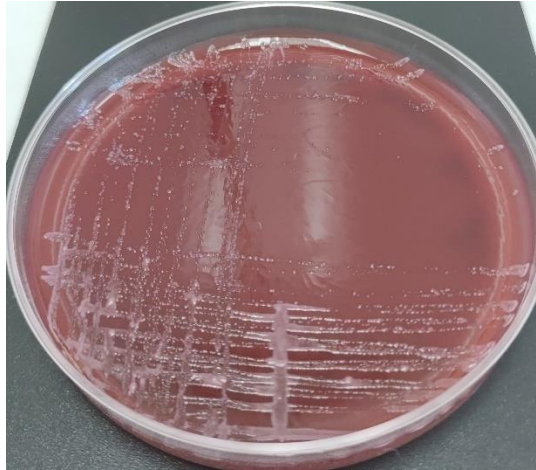
**Figura 84.** Colonias de *E. coli* ATCC 25922 en agar MacConckey

En la Figura 85 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25922 aisladas en medio Agar EMB presentan un tamaño mediano (2 mm), con forma fusiforme, borde lobulado, opacas, planas, con una consistencia suave, color rosado y brillosas.



**Figura 85.** Colonias de *E. coli* ATCC 25922 en agar EMB

En la Figura 86 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25922 aisladas en medio Agar de bilis rojo violeta presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color rosado y brillosas.



**Figura 86.** Colonias de *E. coli* ATCC 25922 en agar de rojo bilis violeta

En la Figura 87 se observa a colonias de *E. coli* ATCC 25922 aisladas en medio Agar XLD presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma circular, borde entero, opacas, elevadas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.









**Figura 87.** Colonias de *E. coli* ATCC 25922 en agar XLD

#### Pruebas bioquímicas

Para la caracterización bioquímica se usaron los siguientes medios: Citrato de Simmons, Kligler, SIM, MR – VP y ureasa, a continuación, se muestran las figuras con los resultados obtenidos.



Tabla 8-a. Pruebas bioquímicas de <i>E. coli</i> ATCC 25922.						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Figuras</b>  (88-93)		 Reacción ácido-ácido: lactosa (+), glucosa (+).				

Para realizar la interpretación de las pruebas bioquímicas se consultó literatura para realizar la comparativa con los resultados obtenidos en el laboratorio, a continuación, se muestra la “Tabla 8-b. Pruebas bioquímicas de *E. coli* ATCC 25922.” con los datos recopilados.

Tabla 8-b. Pruebas bioquímicas de <i>E. coli</i> ATCC 25922.						
Medios	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Interpretación en literatura</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b>Interpretación en laboratorio</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)

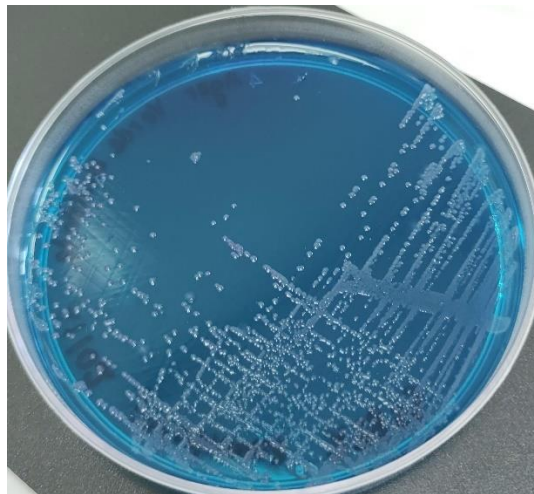
*Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853

En la Figura 94 se observa a colonias de *P. aeruginosa* ATCC 27853 aisladas en medio agar nutritivo presentan un tamaño mediano (2 a 3 mm), con forma circular, borde entero, transparentes, planas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



**Figura 94.** Colonias de *P. aeruginosa* ATCC 27853 en agar nutritivo

En la Figura 95 se observa a colonias de *P. aeruginosa* aisladas en medio agar verde brillante presentan un tamaño pequeño (1 mm), con forma irregular, borde entero, opacas, planas, con una consistencia suave, color violeta metálico y brillosas.



**Figura 95.** Colonias de *P. aeruginosa* ATCC 27853 en agar de bilis verde brillante

En la Figura 96 se observa a colonias de *P. aeruginosa* ATCC 27853 aisladas en medio Agar MacConckey presentan un tamaño grande (3 mm), con forma irregular, borde rizado,

transparente, planas, con una consistencia suave, color café y sin brillo, además, se puede observar que hay un cambio de coloración del medio, que va de rojo a naranja café.



**Figura 96.** Colonias de *P. aeruginosa* ATCC 27853 en agar MacConkey

En la Figura 97 se observa a colonias de *P. aeruginosa* ATCC 27853 aisladas en medio Agar EMB presentan un tamaño puntiforme (menor a 1 mm), con forma circular, borde entero, opaca, planas, con una consistencia suave, color violeta y brillosas.



**Figura 97.** Colonias de *P. aeruginosa* ATCC 27853 en agar EMB







En la Figura 98 se observa a colonias de *P. aeruginosa* ATCC 27853 aisladas en medio Agar XLD presentan un tamaño mediano (2 mm), con forma irregular, borde ondulado, opacas, planas, con una consistencia suave, color blanco y brillosas.



**Figura 98.** Colonias de *P. aeruginosa* ATCC 27853 en agar XLD

### Pruebas bioquímicas

Para la caracterización bioquímica se usaron los siguientes medios: Citrato de Simmons, Kligler, SIM, MR – VP y ureasa, a continuación, se muestran las figuras con los resultados obtenidos.

<b>Tabla 9-a. Pruebas bioquímicas de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853.</b>						
<b>Medios</b>	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Figuras</b>  (99-104)		 Reacción alcalina-alcalina: lactosa (-), glucosa(-).				

Para realizar la interpretación de las pruebas bioquímicas se consultó literatura para realizar la comparativa con los resultados obtenidos en el laboratorio, a continuación, se muestra la “Tabla 9-b. Pruebas bioquímicas de *P. aeruginosa* ATCC 27853.” con los datos recopilados.

<b>Tabla 9-b. Pruebas bioquímicas de <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853.</b>						
<b>Medios</b>	Citrato de Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b>Interpretación en literatura</b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Negativo(-) <b>Lactosa:</b> Negativo(-) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-) <b>Indol:</b> Negativo(-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Positivo (+)
<b>Interpretación en laboratorio</b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Negativo(-) <b>Lactosa:</b> Negativo(-) <b>Gas:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-)	<b>Movilidad:</b> Negativo(-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo(-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)

## 8. DISCUSIÓN

Desde el punto de vista farmacológico, las propiedades de los aceites esenciales son muy variables, por ello se han utilizado mucho en algunas áreas de investigación como la farmacéutica (López, 2004), ya que representan una alternativa ante la urgente necesidad de hallar compuestos que combatan a candidas resistentes a los antimicóticos, ya que las infecciones fúngicas ocasionadas por levaduras son más frecuentes en las últimas décadas (Alfonso *et al.*, 2010).

Los aceites esenciales de *Zaluzania triloba*, *Tagetes parryi*, *Trixis angustifolia*, *Dalea bicolor* y *Eupatorium glabrata* mostraban inhibición a primera vista, sin embargo, al realizar el experimento se analizó que la inhibición fue mínima ante algunas candidas o nula para otras. El efecto inhibitorio pudo verse afectado por el inadecuado almacenamiento de los aceites, pues se sabe que los compuestos que se encuentran en estos suelen oxidarse (López, 2004).

La evaluación macroscópica, microscópica y metabólica desempeña un papel crucial en la diferenciación de cepas de enterobacterias, permitiendo identificar y clasificar de manera precisa estas bacterias (Farias, 2015). El uso conjunto de estas técnicas proporciona un

enfoque integral para diferenciar las cepas de enterobacterias. Esto es fundamental para la investigación epidemiológica, detección de brotes de enfermedades y selección de terapias adecuadas (Riedel *et al.*, 2020). Además, esta diferenciación es esencial para comprender la diversidad y evolución de las enterobacterias, así como para el monitoreo de la resistencia a los antimicrobianos y el desarrollo de estrategias de control y prevención de infecciones.

## 9. CONCLUSIÓN

El aceite esencial que no mostró actividad antimicótica fue *Zaluzania triloba*, por otro lado, *C. albicans* y *C. krusei* manifestaron resistencia ante *Tagetes parryi*. Además *Trixis angustifolia*, *Dalea bicolor* y *Eupatorium glabrata* mostraron inhibición a una concentración de 250 µg/mL.

## 10. REFERENCIAS

Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & S Gupta, R. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 66(12), 5575–5599. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001485>

Alfonso, C., López, M., Arechavala, A., Perrone, M. del C., Guelfand, L., & Bianchi, M. (2010). Identificación presuntiva de *Candida* spp. y de otras levaduras de importancia clínica: utilidad de Brilliance *Candida* Agar. Revista Iberoamericana de Micología, 27(2), 90–93. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.01.008>

Bassetti, M., Vena A., Croxatto A., Righi E., Guery B. (2018) Cómo manejar las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*. Contexto de drogas 7:1–18. <https://doi.org/10.7573/dic.212527>

Behrends V., Ryall B., Zlosnik JEA., Speert DP., Bundy JG., Williams HD. (2013) Adaptaciones metabólicas de *Pseudomonas aeruginosa* durante infecciones pulmonares crónicas con fibrosis quística. Environ Microbiol 15(2):398–408. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02840.x>

Bendiak, G. N., & Ratjen, F. (2009). The approach to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. Seminars in respiratory and critical care medicine, 30(5), 587–595. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1238917>

Breidenstein, E. B., de la Fuente-Núñez, C., & Hancock, R. E. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends in microbiology*, 19(8), 419–426. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.04.005>

Brisse, S., Grimont, F., Grimont, PAD (2006). El Género *Klebsiella*. En: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, KH., Stackebrandt, E. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Nueva York, NY. [https://doi.org/10.1007/0-387-30746-X\\_8](https://doi.org/10.1007/0-387-30746-X_8)

Chandra, J., Kuhn, DM, Mukherjee, PK, Hoyer, LL, McCormick, T. y Ghannoum, MA (2001). Formación de biopelículas por el patógeno fúngico *Candida albicans*: desarrollo, arquitectura y resistencia a los medicamentos. *Revista de Bacteriología*, 183(18), 5385–5394. doi:10.1128/jb.183.18.5385-5394.2001

Chew, K. L., Lin, R. T. P., & Teo, J. W. P. (2017). *Klebsiella pneumoniae* in Singapore: Hypervirulent Infections and the Carbapenemase Threat. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 515. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00515>

Colombo, A. L., Nucci, M., Park, B. J., Nouér, S. A., Arthington-Skaggs, B., da Matta, D. A., Warnock, D., Morgan, J., & Brazilian Network Candidemia Study (2006). Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *Journal of clinical microbiology*, 44(8), 2816–2823. <https://doi.org/10.1128/JCM.00773-06>

Crump, J. A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M. A., & Parry, C. M. (2015). Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clinical microbiology reviews*, 28(4), 901–937. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-15>

Diekema, D. J., Messer, S. A., Brueggemann, A. B., Coffman, S. L., Doern, G. V., Herwaldt, L. A., & Pfaller, M. A. (2002). Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. *Journal of clinical microbiology*, 40(4), 1298–1302. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.4.1298-1302.2002>

Douglas L. J. (2003). *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in microbiology*, 11(1), 30–36. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(02\)00002-1](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(02)00002-1)

Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S, Ramsey B, Gibson RL (2002) *Pseudomonas aeruginosa* y otros predictores de mortalidad y morbilidad en niños pequeños con fibrosis quística. *Pediatría Pulmonol* 34:91–100. <https://doi.org/10.1002/ppul.10127>

Escolà-Vergé, L., Los-Arcos, I., & Almirante, B. (2020). New antibiotics for the treatment of infections by multidrug-resistant microorganisms. Nuevos antibióticos para el tratamiento de las infecciones por microorganismos multirresistentes. *Medicina clínica*, 154(9), 351–357. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2019.11.002>

Farias, E. M. (2015). *Fundamentos de bacteriología. Atlas a color de las bacterias más comunes*.

Ferrari, R. G., Rosario, D. K. A., Cunha-Neto, A., Mano, S. B., Figueiredo, E. E. S., & Conte-Junior, C. A. (2019). Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-

Based Foods: a Meta-analysis. *Applied and environmental microbiology*, 85(14), e00591-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.00591-19>

García Palomo, J. D., Agüero Balbín, J., Parra Blanco, J. A., & Santos Benito, M. F. (2010). Enfermedades infecciosas. Concepto. Clasificación. Aspectos generales y específicos de las infecciones. Criterios de sospecha de enfermedad infecciosa. Pruebas diagnósticas complementarias. Criterios de indicación. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(49), 3251–3264. doi:10.1016/s0304-5412(10)70027-5

Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and infection*, 18(5), 310–321. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002>

Hendrik, T. C. Voor In't Holt AF, Vos MC (2015) Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella* spp.: a systematic review and metaanalyses. *PLoS One*, 10(10), e0140754.

Hendriksen, R. S., Vieira, A. R., Karlsmose, S., Lo Fo Wong, D. M., Jensen, A. B., Wegener, H. C., & Aarestrup, F. M. (2011). Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne pathogens and disease*, 8(8), 887–900. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0787>

Herikstad, H., Motarjemi, Y., & Tauxe, R. V. (2002). *Salmonella* surveillance: a global survey of public health serotyping. *Epidemiology and infection*, 129(1), 1–8. <https://doi.org/10.1017/s0950268802006842>

Holt, K. E., Wertheim, H., Zadoks, R. N., Baker, S., Whitehouse, C. A., Dance, D., Jenney, A., Connor, T. R., Hsu, L. Y., Severin, J., Brisse, S., Cao, H., Wilksch, J., Gorrie, C., Schultz, M. B., Edwards, D. J., Nguyen, K. V., Nguyen, T. V., Dao, T. T., Mensink, M., Thomson, N. R. (2015). Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(27), E3574–E3581. <https://doi.org/10.1073/pnas.1501049112>

Jacobsen, S. M., Stickler, D. J., Mobley, H. L., & Shirtliff, M. E. (2008). Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical microbiology reviews*, 21(1), 26–59. <https://doi.org/10.1128/CMR.00019-07>

Jamiu, A. T., Albertyn, J., Sebolai, O. M., & Pohl, C. H. (2021). Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. *Medical mycology*, 59(1), 14–30. <https://doi.org/10.1093/mmy/myaa031>

Johnson, J. R., & Russo, T. A. (2002). Uropathogenic *Escherichia coli* as agents of diverse non-urinary tract extraintestinal infections. *The Journal of infectious diseases*, 186(6), 859–864. <https://doi.org/10.1086/342490>

Johnson, J. R., Delavari, P., Kuskowski, M., & Stell, A. L. (2001). Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. *The Journal of infectious diseases*, 183(1), 78–88. <https://doi.org/10.1086/317656>



Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews. Microbiology*, 2(2), 123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>

Kojic, E. M., & Darouiche, R. O. (2004). *Candida* infections of medical devices. *Clinical microbiology reviews*, 17(2), 255–267. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.2.255-267.2004>

Kosorok M, Zeng L, West S, Rock M, Splaingard M, Laxova A, Green C, Collins J, Farrell P (2003) Aceleración de la enfermedad pulmonar en niños con fibrosis quística después de la adquisición de *Pseudomonas aeruginosa*. *Pediatría Pulmonol* 32:277–287. <https://doi.org/10.1002/ppul.2009>

Li, X., Zhao, H., Lockett, C. V., Drachenberg, C. B., Johnson, D. E., & Mobley, H. L. (2002). Visualization of *Proteus mirabilis* within the matrix of urease-induced bladder stones during experimental urinary tract infection. *Infection and immunity*, 70(1), 389–394. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.1.389-394.2002>

López, L. M. (2004). Los aceites esenciales (23)7: 88-91.

López-Ávila, K., Dzul-Rosado, K. R., Lugo-Caballero, C., Arias-León, J. J., & Zavala-Castro, J. E. (2016). Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *Revista biomédica*, 27(3), 127-136.

Lotfali, E., Fattahi, A., Sayyahfar, S., Ghasemi, R., Rabiei, M. M., Fathi, M., Vakili, K., Deravi, N., Soheili, A., Toreyhi, H., & Shirvani, F. (2021). A Review on Molecular Mechanisms of Antifungal Resistance in *Candida glabrata*: Update and Recent Advances. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 27(10), 1371–1388. <https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0235>

Marchetti, M., L., Errecalde, J., O. y Mestorino, N. (2011). Resistencia bacteriana a los antimicrobianos ocasionada por bombas de eflujo. Impacto en la multirresistencia. [Trabajo de revisión]. *Analecta Vet* 2011; 31(2): 40-53

Massinga, A. J., Garrine, M., Messa, A., Jr, Nobela, N. A., Boisen, N., Massora, S., Cossa, A., Varo, R., Siteo, A., Hurtado, J. C., Ordi, J., Mucavele, H., Nhampossa, T., Breiman, R. F., Whitney, C. G., Blau, D. M., Bassat, Q., & Mandomando, I. (2021). *Klebsiella* spp. cause severe and fatal disease in Mozambican children: antimicrobial resistance profile and molecular characterization. *BMC infectious diseases*, 21(1), 526. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06245-x>

Moreno, C., González, R. y Beltrán, C. (2009). Mecanismos de Resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. [Artículo]. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello* 2009;69: 185-192.

Morkel, G., Bekker, A., Marais, B. J., Kirsten, G., van Wyk, J., & Dramowski, A. (2014). Bloodstream infections and antimicrobial resistance patterns in a South African neonatal intensive care unit. *Paediatrics and international child health*, 34(2), 108–114. <https://doi.org/10.1179/2046905513Y.0000000082>

Nixon GM, Armstrong DS, Carzino R, Carlin JB, Olinsky A, Robertson CF, Grimwood K (2001) Resultado clínico después de la infección temprana por *Pseudomonas aeruginosa* en la fibrosis quística. *J Pediatr* 138:699–704. <https://doi.org/10.1067/mpd.2001.112897>

Nobile, CJ, Fox, EP, Nett, JE, Sorrells, TR, Mitrovich, QM, Hernday, AD, ... Johnson, AD (2012). Una red transcripcional recientemente desarrollada controla el desarrollo de biopelículas en *Candida albicans*. *Celda*, 148(1-2), 126–138. doi:10.1016/j.cell.2011.10.048

Nobile, CJ, Schneider, HA, Nett, JE, Sheppard, DC, Filler, SG, Andes, DR y Mitchell, AP (2008). Función de adhesina complementaria en la formación de biopelículas de *C. albicans*. *Biología actual*, 18(14), 1017–1024. doi:10.1016/j.cub.2008.06.034

Peix A, Ramírez-Bahena MH, Velázquez E (2018) Revisión del estado actual de la taxonomía de *Pseudomonas*: una actualización. *Infectar genet envol* 57:106–116. <https://doi.org/10.1016/j.meeqid.2017.10.026>

Perlin, DS (2015). Antifúngicos: de la genómica a la resistencia y el desarrollo de nuevos agentes. *Enfermedades infecciosas clínicas*, 61(7), 1213–1214. doi:10.1093/cid/civ548

Pfaller, M. A., Boyken, L., Hollis, R. J., Kroeger, J., Messer, S. A., Tendolkar, S., & Diekema, D. J. (2007). In Vitro Susceptibility of Invasive Isolates of *Candida* spp. to Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin: Six Years of Global Surveillance. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(1), 150–156. doi:10.1128/jcm.01901-07

Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical microbiology reviews*, 11(4), 589–603. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.4.589>

Reygaert, W, C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiol.* 2018 Jun 26;4(3):482-501

Riedel, S., Morse, A. S., Mietzner, A. T., & Miller, S. (2020). *Microbiología médica de Jawetz, Melnick & Adelberg.*

Russo, T. A., & Johnson, J. R. (2000). Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *The Journal of infectious diseases*, 181(5), 1753–1754. <https://doi.org/10.1086/315418>

Sachivkina, N., Podoprigora, I., & Bokov, D. (2021). Morphological characteristics of *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, and *Candida glabrata* biofilms, and response to farnesol. *Veterinary world*, 14(6), 1608–1614. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1608-1614>

Salazar R & Pignone M. (2022). *Prevención de enfermedades infecciosas.* Papadakis M.A., & McPhee S.J., & Rabow M.W., & McQuaid K.R.(Eds.), *Diagnóstico clínico y tratamiento* 2022. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3153&sectionid=276391579>

Serra, V., M., A. (2017). La resistencia microbiana en el context actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas [revista en Internet].* 2017;16(3):[402-419].

Sigaúque, B., Roca, A., Mandomando, I., Morais, L., Quintó, L., Sacarlal, J., Macete, E., Nhamposa, T., Machevo, S., Aide, P., Bassat, Q., Bardají, A., Nhalungo, D., Soriano-Gabarró, M., Flannery, B., Menendez, C., Levine, M. M., & Alonso, P. L. (2009). Community-acquired bacteremia among children admitted to a rural hospital in Mozambique. *The Pediatric infectious disease journal*, 28(2), 108–113. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e318187a87d>

Sudbery, P. (2011) Crecimiento de hifas de *Candida albicans*. *Nat Rev Microbiol* 9, 737–748. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2636>

Snydman D. R. (2003). Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial *Candida* infections. *Chest*, 123(5 Suppl), 500S–3S. [https://doi.org/10.1378/chest.123.5\\_suppl.500s](https://doi.org/10.1378/chest.123.5_suppl.500s)

Tambyah, P. A., & Maki, D. G. (2000). Catheter-associated urinary tract infection is rarely symptomatic: a prospective study of 1,497 catheterized patients. *Archives of internal medicine*, 160(5), 678–682. <https://doi.org/10.1001/archinte.160.5.678>

Treviño, N. P., & Molina, N. B. (2022). Antibióticos: mecanismos de acción y resistencia bacteriana.

Vázquez, T. Ó., Campos, R. T. (2014) Candidemia. *Acta Pediátrica de México Instituto Nacional de Pediatría*; 27(1):30-35.

Wang, D., An, N., Yang, Y., Yang, X., Fan, Y., & Feng, J. (2021). *Candida tropicalis* distribution and drug resistance is correlated with ERG11 and UPC2 expression. *Antimicrobial resistance and infection control*, 10(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s13756-021-00890-2>

Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. (2020). The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *International journal of environmental research and public health*, 17(17), 6278. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>

Warren J. W. (1997). Catheter-associated urinary tract infections. *Infectious disease clinics of North America*, 11(3), 609–622. [https://doi.org/10.1016/s0891-5520\(05\)70376-7](https://doi.org/10.1016/s0891-5520(05)70376-7)

Warren, J. W., Tenney, J. H., Hoopes, J. M., Muncie, H. L., & Anthony, W. C. (1982). A prospective microbiologic study of bacteriuria in patients with chronic indwelling urethral catheters. *The Journal of infectious diseases*, 146(6), 719–723. <https://doi.org/10.1093/infdis/146.6.719>

Winstanley C, O'Brien S, Brockhurst MA (2016) Adaptación evolutiva y diversificación de *Pseudomonas aeruginosa* en infecciones pulmonares crónicas de fibrosis quística. *Trends Microbiol* 24(5):327–337. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.01.008>

Wu, Y., Zhou, H., Wang, J., Li, L., Li, W., Cui, Z., ... Cheng, Y. (2012). Análisis de la clonalidad de cepas de *Candida tropicalis* de un hospital general en Beijing utilizando la tipificación de secuencias multilocus. *PLoS ONE*, 7(11), e47767. doi:10.1371/journal.pone.0047767

Wyres, K. L., Lam, M. M. C., & Holt, K. E. (2020). Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature reviews. Microbiology*, 18(6), 344–359. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0315-1>

Zhang, Y., Wang, Q., Yin, Y., Chen, H., Jin, L., Gu, B., y Wang, H. (2018). Epidemiología de las infecciones por *Enterobacteriaceae* resistentes a los carbapenémicos: informe de China CRE Network. *Agentes antimicrobianos y quimioterapia*, 62 (2), e01882-17.

Zhang, Y., Yao, Z., Zhan, S., Yang, Z., Wei, D., Zhang, J., Li, J., & Kyaw, M. H. (2014). Disease burden of intensive care unit-acquired pneumonia in China: a systematic review and meta-analysis. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 29, 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.05.030>

Zuza-Alves, D. L., Silva-Rocha, W. P., & Chaves, G. M. (2017). An Update on *Candida tropicalis* Based on Basic and Clinical Approaches. *Frontiers in microbiology*, 8, 1927. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01927>

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**UNIDAD XOCHIMILCO**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

**Determinación de actividad antimicótica de aceites esenciales**

Nombre: Avila Juárez María Guadalupe

Matrícula: 20192034005

Dirección: Jazmín s/n, col. Nueva San Juan, Tianguistongo. Hueypoxtla

Teléfono: 04455 4495 0480

maruavilaxd@gmail.com

Asesoras

Dra. Ana Laura Esquivel Campos

Dra. Julia Pérez Ramos

Fecha de inicio: 03 de octubre de 2022

Fecha de termino: 03 de abril de 2023

Fecha de entrega: 08 agosto 2023

Lugar de realización: Departamento de sistemas biológicos, Laboratorio de Biología Experimental, Universidad Autónoma Metropolitana.

## 11. RESUMEN

### INTRODUCCIÓN

Las infecciones fúngicas ocasionadas por levaduras son muy frecuentes en las últimas décadas, y *Candida sp* está en el cuarto lugar entre los microorganismos aislados de hemocultivos en Estados Unidos y en el quinto en España como agente etiológico de sepsis (Alfonso *et al.*, 2010). Las especies de *Candida* pertenecen a la microbiota de la cavidad oral, tracto gastrointestinal y vaginal, son responsables de varias manifestaciones clínicas, sobrecrecimiento mucocutáneo, infecciones del torrente sanguíneo (Sudbery, 2011). En México, en los últimos años, el agente etiológico involucrado en la mayoría de los cuadros clínicos de candidiasis es *Candida albicans* (62%), por lo que se considera a esta especie politrópica, debido a su distribución topográfica (Vázquez *et al.*, 2014). Las infecciones fúngicas generalmente se tratan con cinco clases principales de agentes antifúngicos que incluyen azoles, equinocandinas, polienos, alilaminas y análogos de nucleósidos. Fluconazol, un azol, es el fármaco antimicótico más utilizado debido a su baja toxicidad para el huésped, alta solubilidad en agua y alta biodisponibilidad (Jamiu *et al.*, 2021).

### OBJETIVOS

#### GENERAL

- Evaluar la actividad antimicótica de cinco aceites esenciales en *Trixis angustifolia*, *Dalea bicolor*, *Zaluzania triloba*, *Tagetes parry* y *Eupatorium glabrata*.

#### ESPECIFICOS

- Determinar la concentración de inhibición de los aceites *Trixis angustifolia*, *Dalea bicolor*, *Zaluzania triloba*, *Tagetes parry* y *Eupatorium glabrata*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> de los aceites *Trixis angustifolia*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> del aceite *Dalea bicolor*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> del aceite *Zaluzania triloba*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> del aceite *Tagetes parryi*.
- Establecer la IC<sub>50</sub> del aceite *Eupatorium glabrata*.
- Identificar bioquímicamente cepas de enterobacterias.
- Conservar cepas de enterobacterias.

## RESULTADOS

A continuación, en las siguientes figuras 105-108 se muestran las lecturas en ELISA de la actividad antimicótica de los aceites esenciales ante las candidas.

<i>Candida albicans</i>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A - Trixis	0.035	0.035	0.118	0.337	0.236	0.255	0.472	0.379	0.315	0.26	0.335	0.036
B - Dalea	0.044	0.042	0.046	0.218	0.24	0.251	0.329	0.351	0.519	0.305	0.268	0.038
C - Tagetes	0.048	0.145	0.25	0.261	0.244	0.423	0.342	0.376	0.379	0.241	0.204	0.04
D - Eupatorium	0.051	0.053	0.1	0.248	0.265	0.279	0.274	0.431	0.32	0.321	0.388	0.048
E - Etanol	0.034	0.22	0.17	0.284	0.256	0.293	0.352	0.384	0.37	0.255	0.261	0.036
F - Fluconazol	0.031	0.213	0.219	0.235	0.251	0.251	0.45	0.276	0.411	0.3	0.302	0.04
G - Itraconazol	0.016	0.128	0.193	0.206	0.229	0.221	0.243	0.251	0.317	0.269	0.283	0.028
H - Anfotericina	0.034	0.227	0.372	0.327	0.368	0.296	0.213	0.293	0.297	0.478	0.295	0.047

**Figura 105.** Actividad antimicótica de aceites en *Candida albicans*.

<i>Candida krusei</i>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A - Trixis	0.035	0.034	0.166	0.247	0.36	0.283	0.311	0.307	0.324	0.275	0.296	0.037
B - Dalea	0.059	0.061	0.364	0.202	0.25	0.316	0.306	0.389	0.322	0.408	0.273	0.039
C - Tagetes	0.047	0.172	0.238	0.385	0.407	0.321	0.296	0.301	0.312	0.354	0.309	0.041
D - Eupatorium	0.052	0.052	0.128	0.252	0.278	0.315	0.347	0.321	0.314	0.245	0.294	0.054
E - Etanol	0.034	0.268	0.234	0.291	0.257	0.354	0.413	0.389	0.374	0.323	0.279	0.036
F - Fluconazol	0.03	0.225	0.21	0.331	0.293	0.294	0.405	0.324	0.298	0.405	0.318	0.037
G - Itraconazol	0.015	0.264	0.351	0.304	0.267	0.299	0.306	0.283	0.299	0.386	0.308	0.032
H - Anfotericina	0.033	0.193	0.312	0.31	0.421	0.288	0.293	0.528	0.227	0.419	0.338	0.047

**Figura 106.** Actividad antimicótica de aceites en *Candida krusei*.

<i>Candida glabrata</i>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A - Trixis	0.038	0.033	0.098	0.198	0.239	0.266	0.299	0.296	0.312	0.301	0.345	0.037
B - Dalea	0.049	0.043	0.052	0.209	0.281	0.272	0.372	0.312	0.289	0.349	0.341	0.035
C - Tagetes	0.046	0.064	0.046	0.185	0.269	0.296	0.386	0.493	0.48	0.418	0.408	0.039
D - Eupatorium	0.051	0.067	0.051	0.185	0.287	0.41	0.403	0.402	0.588	0.551	0.558	0.046
E - Etanol	0.034	0.232	0.236	0.265	0.491	0.466	0.324	0.454	0.291	0.337	0.43	0.039
F - Fluconazol	0.029	0.254	0.47	0.468	0.315	0.427	0.3	0.411	0.349	0.537	0.332	0.035
G - Itraconazol	0.015	0.283	0.322	0.382	0.299	0.318	0.309	0.298	0.309	0.354	0.443	0.031
H - Anfotericina	0.031	0.283	0.266	0.285	0.309	0.314	0.28	0.407	0.286	0.348	0.299	0.051

**Figura 107.** Actividad antimicótica de aceites en *Candida glabrata*.

<i>Candida tropicalis</i>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A - Trixis	0.035	0.035	0.175	0.267	0.341	0.26	0.303	0.287	0.318	0.26	0.328	0.034
B - Dalea	0.043	0.039	0.125	0.255	0.304	0.368	0.308	0.358	0.306	0.478	0.309	0.034
C - Tagetes	0.047	0.051	0.104	0.217	0.287	0.386	0.36	0.408	0.314	0.423	0.4	0.039
D - Eupatorium	0.052	0.05	0.18	0.229	0.301	0.45	0.405	0.285	0.304	0.318	0.299	0.046
E - Etanol	0.036	0.173	0.273	0.26	0.429	0.324	0.284	0.309	0.289	0.313	0.401	0.035
F - Fluconazol	0.199	0.327	0.314	0.268	0.44	0.283	0.43	0.279	0.362	0.394	0.334	0.03
G - Itraconazol	0.017	0.223	0.308	0.263	0.28	0.293	0.285	0.293	0.271	0.247	0.278	0.025
H - Anfotericina	0.035	0.314	0.287	0.312	0.288	0.287	0.481	0.308	0.263	0.323	0.323	0.045

**Figura 108.** Actividad antimicótica de aceites en *Candida tropicalis*.

Descripción macroscópica de enterobacterias

<b>Tabla 7. Características macroscópicas de <i>Klebsiella</i> spp.</b>				
Medios selectivos				
Característica	Nutritivo	Verde brillante	Mac Conckey	EMB

<b>Tamaño</b>	Pequeña	Pequeña	Mediana	Grande
<b>Forma</b>	Circular	Circular	Circular	Irregular
<b>Borde</b>	Entero	Entero	Entero	Ondulado
<b>Transparencia</b>	Opaca	Opaca	Opaca	Opaca
<b>Elevación</b>	Elevada	Convexa	Convexa	Elevada
<b>Consistencia</b>	Mucoide	Suave	Rosada	Suave
<b>Color</b>	Blanca	Blanca	Mucoide	Violeta
<b>Brillo</b>	Brillosa	Brillosa	Brillosa	Brillosa

**Tabla 8. Características macroscópicas *Salmonella thipymurium*.**

	Medios selectivos			
<b>Característica</b>	Nutritivo	Verde brillante	Mac Conckey	EMB
<b>Tamaño</b>	Pequeña	Pequeña	Mediana	Puntiforme
<b>Forma</b>	Circular	Fusiforme	Irregular	Fusiforme
<b>Borde</b>	Entero	Ondulada	Ondulado	Ondulado
<b>Transparencia</b>	Opaca	Opaca	Opaca	Opaca
<b>Elevación</b>	Plana	Plana	Plana	Plana
<b>Consistencia</b>	Suave	Suave	Suave	Suave
<b>Color</b>	Blanca	Violeta	Café	Café
<b>Brillo</b>	Brillosa	Brillosa	Brillosa	Brillosa

**Tabla 9. Características macroscópicas *Salmonella spp.***

	Medios selectivos			
<b>Característica</b>	Nutritivo	Verde brillante	Mac Conckey	EMB
<b>Tamaño</b>	Puntiforme	Puntiforme	Grande	Ountiforme
<b>Forma</b>	Circular	Irregular	Irregular	Circular
<b>Borde</b>	Entero	Ondulado	Ondulado	Entero
<b>Transparencia</b>	Opaca	Opaca	Opaca	Opaca
<b>Elevación</b>	Convexa	Convexa	Plana	Plana
<b>Consistencia</b>	Dura	Dura	Dura	Dura
<b>Color</b>	Blanca	Blanca	Café	Violeta
<b>Brillo</b>	Sin brillo	Sin brillo	Sin brillo	Sin brillo

**Tabla 10. Características macroscópicas *Proteus mirabilis*.**

	Medios selectivos			
<b>Característica</b>	Nutritivo	Verde brillante	Mac Conckey	EMB
<b>Tamaño</b>	Puntiforme	Puntiforme	Mediana	Puntiforme
<b>Forma</b>	Circular	Circular	Irregular	Circular
<b>Borde</b>	Entero	Entero	Ondulado	Entero
<b>Transparencia</b>	Opaca	Opaca	Opaca	Opaca
<b>Elevación</b>	Plana	Plana	Plana	Plana
<b>Consistencia</b>	Suave	Suave	Suave	Suave
<b>Color</b>	Blanco	Violeta	Café	Café
<b>Brillo</b>	Brillosa	Brillosa	Brillosa	Brillosa

**Tabla 11. Características macroscópicas *Klebsiella pneumoniae*.**

	Medios selectivos			
<b>Característica</b>	Nutritivo	Verde brillante	Mac Conckey	EMB
<b>Tamaño</b>	Pequeño	Pequeña	Grande	Pequeña
<b>Forma</b>	Circular	Circular	Circular	Irregular
<b>Borde</b>	Entero	Entero	Entero	Ondulado



<b>Transparencia</b>	Opaca	Opaca	Opaca	Opaca
<b>Elevación</b>	Plana	Plana	Convexa	Convexa
<b>Consistencia</b>	Suave	Suave	Mucoide	Suave
<b>Color</b>	Blanca	Blanca	Rosada	Vino/verde metálico
<b>Brillo</b>	Brillosa	Brillosa	Brillosa	Brillosa

**Tabla 12. Características macroscópicas Escherichia coli ATCC 8739.**

	Medios selectivos			
<b>Característica</b>	Nutritivo	Verde brillante	Mac Conckey	EMB
<b>Tamaño</b>	Mediana	Pequeña	Grande	Pequeña
<b>Forma</b>	Irregular	Irregular	Irregular	Irregular
<b>Borde</b>	Ondulado	Entero	Ondulado	Entero
<b>Transparencia</b>	Transparente	Opaca	Opaca	Opaca
<b>Elevación</b>	Plana	Plana	Plana	Plana
<b>Consistencia</b>	Suave	Suave	Suave	Suave
<b>Color</b>	Blanca	Violeta metálico	Rosada	Verde metálico
<b>Brillo</b>	Brillosa	Brillosa	Sin brillo	Brillosa

**Tabla 13. Características macroscópicas Escherichia coli ATCC 25404.**

	Medios selectivos			
<b>Característica</b>	Nutritivo	Verde brillante	Mac Conckey	EMB
<b>Tamaño</b>	Mediana	Puntiforme	Grande	Puntiforme
<b>Forma</b>	Irregular	Circular	Irregular	Irregular
<b>Borde</b>	Ondulado	Etero	Ondulado	Entero
<b>Transparencia</b>	Transparente	Opaca	Opaca	Opaca
<b>Elevación</b>	Elevada	Plana	Plana	Elevada
<b>Consistencia</b>	Suave	Suave	Suave	Suave
<b>Color</b>	Blanca	Violeta metálico	Rosada	Verde metálico
<b>Brillo</b>	Brillosa	Brillosa	Sin brillo	Brilloso

**Tabla 14. Características macroscópicas Escherichia coli ATCC 25922.**

	Medios selectivos					
<b>Característica</b>	Nutritivo	Verde brillante	Mac Conckey	EMB	Rojo violeta	XLD
<b>Tamaño</b>	Grande	Pequeña	Grande	Mediana	Puntiforme	Puntiforme
<b>Forma</b>	Irregular	Irregular	Irregular	Fusiforme	Circular	Circular
<b>Borde</b>	Ondulado	Ondulado	Ondulado	Lobulado	Entero	Entero
<b>Transparencia</b>	Opaca	Opaca	Opaca	Opaca	Opaca	Opaca
<b>Elevación</b>	Plana	Plana	Elevada	Plana	Plana	Elevada
<b>Consistencia</b>	Suave	Suave	Suave	Suave	Suave	Suave
<b>Color</b>	Blanca	Violeta metálico	Rosada	Violeta-verde metálico	Rosa	Blanca
<b>Brillo</b>	Brillosa	Brillosa	Sin brillo	Brilloso	Brillosa	Brillosa

**Tabla 15. Características macroscópicas Pseudomona aeruginosa ATCC 27853.**

	Medios selectivos					
<b>Característica</b>	Nutritivo	Verde brillante	Mac Conckey	EMB	Rojo violeta	XLD
<b>Tamaño</b>	Mediana	Pequeña	Grande	Puntiforme	-	Mediana

<b>Forma</b>	Circular	Irregular	Irregular	Circular	-	Irregular
<b>Borde</b>	Entero	Entero	Rizado	Entero	-	Ondulado
<b>Transparencia</b>	Transparente	Opaca	Transparente	Opaca	-	Opaca
<b>Elevación</b>	Plana	Plana	Plana	Plana	-	Plana
<b>Consistencia</b>	Suave	Suave	Suave	Suave	-	Suave
<b>Color</b>	Blanca	Violeta metálico	Violeta café	Violeta	-	Blanca
<b>Brillo</b>	Brillosa	Brillosa	Sin brillo	Brillante	-	Brillosa

Pruebas bioquímicas para identificación de enterobacterias

<b>Tabla 16. Resultados de la búsqueda de pruebas bioquímicas en la literatura</b>						
<b>Enterobacteria</b>	<b>Medios</b>					
	<b>Simmons</b>	<b>Kligler</b>	<b>SIM</b>	<b>RM</b>	<b>VP</b>	<b>Ureasa</b>
<b><i>Klebsiella sp</i></b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)
<b><i>Salmonella thipymurium</i></b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Negativo (-) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b><i>Salmonella sp</i></b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Negativo (-) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b><i>Proteus mirabilis</i></b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Negativo (-) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Positivo (+)	Negativo (-)	Positivo (+)
<b><i>Klebsiella pneumoniae</i></b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b>	<b>Movilidad:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Negativo (-)	Positivo (+)	Positivo (+)
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 8739</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)

		<b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Indol:</b> Positivo (+)			
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 25404</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b><i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853</b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Negativo (-) <b>Lactosa:</b> Negativo (-) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Positivo (+)

**Tabla 17. Resultados de pruebas bioquímicas en laboratorio**

Enterobacteria	Medios					
	Simmons	Kligler	SIM	RM	VP	Ureasa
<b><i>Klebsiella sp</i></b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Positivo (+)	N. D.	Negativo (-)
<b><i>Salmonella thipymurium</i></b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Negativo (-) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Positivo (+)	N. D.	Negativo (-)
<b><i>Salmonella spp</i></b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Negativo (-) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b>	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Negativo (-)	N. D.	Negativo (-)

		Positivo (+)				
<b><i>Proteus mirabilis</i></b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+)	<b>Movilidad:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Positivo (+)	N. D.	Positivo (+)
<b><i>Klebsiella pneumoniae</i></b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	N. D.	Negativo (-)
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 8739</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Positivo (+) <b>Indol:</b> Negativo (-)	Positivo (+)	N. D.	Negativo (-)
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 25404</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Positivo (+) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	N. D.	Negativo (-)
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</b>	Negativo (-)	<b>Glucosa:</b> Positivo (+) <b>Lactosa:</b> Positivo (+) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
<b><i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853</b>	Positivo (+)	<b>Glucosa:</b> Negativo (-) <b>Lactosa:</b> Negativo (-) <b>Gas:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-)	<b>Movilidad:</b> Negativo (-) <b>H<sub>2</sub>S:</b> Negativo (-) <b>Indol:</b> Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)

## DISCUSIÓN

Desde el punto de vista farmacológico, las propiedades de los aceites esenciales son muy variables, por ello se han utilizado mucho en algunas áreas de investigación como la

farmacéutica (López, 2004), ya que representan una alternativa ante la urgente necesidad de hallar compuestos que combatan a candidas resistentes a los antimicóticos, ya que las infecciones fúngicas ocasionadas por levaduras son más frecuentes en las últimas décadas (Alfonso *et al.*, 2010).

Los aceites esenciales de *Zaluzania triloba*, *Tagetes parryi*, *Trixis angustifolia*, *Dalea bicolor* y *Eupatorium glabrata* mostraban inhibición a primera vista, sin embargo, al realizar el experimento se analizó que la inhibición fue mínima ante algunas candidas o nula para otras. El efecto inhibitorio pudo verse afectado por el inadecuado almacenamiento de los aceites, pues se sabe que los compuestos que se encuentran en estos suelen oxidarse (López, 2004).

La evaluación macroscópica, microscópica y metabólica desempeña un papel crucial en la diferenciación de cepas de enterobacterias, permitiendo identificar y clasificar de manera precisa estas bacterias (Farias, 2015). El uso conjunto de estas técnicas proporciona un enfoque integral para diferenciar las cepas de enterobacterias. Esto es fundamental para la investigación epidemiológica, detección de brotes de enfermedades y selección de terapias adecuadas (Riedel *et al.*, 2020). Además, esta diferenciación es esencial para comprender la diversidad y evolución de las enterobacterias, así como para el monitoreo de la resistencia a los antimicrobianos y el desarrollo de estrategias de control y prevención de infecciones.

## CONCLUSIÓN

El aceite esencial que no mostró actividad antimicótica fue *Zaluzania triloba*, por otro lado, *C. albicans* y *C. krusei* manifestaron resistencia ante *Tagetes parryi*. Además *Trixis angustifolia*, *Dalea bicolor* y *Eupatorium glabrata* mostraron inhibición a una concentración de 250 µg/mL.

## REFERENCIAS

- Alfonso, C., López, M., Arechavala, A., Perrone, M. del C., Guelfand, L., & Bianchi, M. (2010). Identificación presuntiva de *Candida* spp. y de otras levaduras de importancia clínica: utilidad de Brilliance *Candida* Agar. *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(2), 90–93.
- Farias, E. M. (2015). *Fundamentos de bacteriología. Atlas a color de las bacterias más comunes*.
- Jamiu, A. T., Albertyn, J., Sebolai, O. M., & Pohl, C. H. (2021). Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. *Medical mycology*, 59(1), 14–30.

López, L. M. (2004). Los aceites esenciales (23)7: 88-91.

Riedel, S., Morse, A. S., Mietzner, A. T., & Miller, S. (2020). Microbiología médica de Jawetz, Melnick & Adelberg.

Sudbery, P. (2011) Crecimiento de hifas de *Candida albicans*. *Nat Rev Microbiol* 9, 737–748.

Vázquez, T. Ó., Campos, R. T. (2014) Candidemia. *Acta Pediátrica de México Instituto Nacional de Pediatría*; 27(1):30-35.