

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

LICENCIATURA QUÍMICA FARMACEÚTICA BIOLÓGICA

**Reactivación, conservación e identificación del cepario del laboratorio N-101 de la
Universidad Autónoma Metropolitana**

ALUMNA: Silvia Ponce García

MATRÍCULA: 2142031956

Asesora

Dra. Ana Laura Esquivel Campos

No. Económico: 33148

Fecha de inicio: 5 de enero del 2022

Fecha de terminación: 10 de julio del 2022

Diciembre 2022

Índice

	Página
Introducción	3
Marco teórico	5
• <i>Escherichia coli</i>	7
• <i>Pseudomona aeruginosa</i>	8
• <i>Shigella dysenteriae</i>	9
• <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9
• <i>Klebsiella oxytoca</i>	11
• <i>Proteus mirabilis</i>	12
• <i>Salmonella typhi</i>	13
• <i>Staphylococcus aureus</i>	13
• <i>Enterococcus faecalis</i>	14
• <i>Candida albicans</i>	14
• <i>Candida krusei</i>	15
• <i>Candida glabrata</i>	15
• <i>Candida tropicalis</i>	16
Objetivo general	17
Objetivos particulares	17
Justificación	17
Metodología	17
• Proliferación de bacterias	18
• Lista de bacterias y levaduras ATCC	18
• Bacterias no ATCC	
• Siembra de bacterias y levaduras en agares	19
• Técnica para la observación microscópica	19
• Pruebas bioquímicas de las bacterias	20
• Prueba del tubo germinal o filamentación precoz	21
• Conservación de cepas	22
Actividad antibacteriana	22

Resultados	24
Discusión	33
Conclusión	36
Referencias	37
Anexos	39

INTRODUCCIÓN

Las bacterias son microorganismos muy pequeños que no pueden ser apreciados a simple vista, algunas bacterias pueden desencadenar padecimientos en diferentes órganos del cuerpo humano causando así diferentes enfermedades, pero también hay bacterias que son benéficas y ayudan a mantener un estado de salud óptimo, por tal motivo para la universidad es de suma importancia el poder estudiarlas e ir ampliando los conocimientos de los alumnos. Durante su evolución, las bacterias han adquirido diversos mecanismos de adaptación que les permiten tener éxito en la competencia por nutrientes y espacio en su hábitat. Se denominan bacterias Gram negativas a los microorganismos que tienen una reacción con la tinción Gram en su pared celular diferente a las Gram positivas, pues no se tiñen de color azul oscuro o violeta, sino de color rosa (Jenssen et al., 2006).

Las colecciones microbianas, que en este caso particular corresponde a bacterias, referidas también como “ceparios”, son centros de recursos genéticos que preservan a los microorganismos, garantizando la disponibilidad de dicho material biológico para actividades de docencia, investigación científica y comerciales. Una cepa es un cultivo puro que proviene de un progenitor determinado. En microbiología se aplica el aislamiento de un microorganismo de un medio natural determinado (García, 2013). Contar con un cepario permite a los alumnos experimentar y poner en práctica sus conocimientos, otra de las ventajas de tener un cepario es poder tener material de estudio, se sabe que las bacterias van cambiando de acuerdo con las necesidades de su entorno, por lo que su constante estudio permite identificar como es que van evolucionando y cual sería la mejor forma de contrarrestarlas cuando provocan o desencadenan algún padecimiento.

El desarrollo y la propagación de cepas bacterianas resistentes a los fármacos antibacterianos se ha convertido en un problema mundial. La aparición de bacterias resistentes a los antibióticos en las últimas décadas se ha considerado como una respuesta genética inevitable a la fuerte presión selectiva impuesta por la quimioterapia antimicrobiana, que juega un papel crucial en la evolución de las bacterias resistentes a los antibióticos (Chakraborty et al., 2011).

Las bacterias no son los únicos microorganismos que pueden provocar enfermedades, las levaduras también son microorganismos que pueden desencadenar algunas enfermedades. Conocer su metabolismo, como desarrollan, en que medio proliferan mejor, observar su morfología, ayudara a conocer las enfermedades, sus síntomas y como poder contrarrestarlas. Las especies de *Candida* son la causa más común de infecciones fúngicas invasivas y están asociadas con altas tasas de mortalidad y morbilidad entre huéspedes inmunocomprometidos y no inmunocomprometidos (Gamal, et al., 2021).

El estudio bioquímico que se lleva a cabo como complemento de otros estudios bacteriológicos es posible gracias a las reacciones fisiológicas y químicas que llevan a cabo los microorganismos. Para esto se emplean medios de cultivo enriquecidos con productos útiles para el metabolismo celular, los cuales además contienen algún indicador que hace cambiar el color del medio al efectuar dichos microorganismos sus funciones. Las pruebas bioquímicas son muy útiles en el campo de la microbiología clínica, ya que determina que microorganismo es el causante de cierto padecimiento que pueda sufrir un paciente y de esta forma atacarlo correctamente (Romero & Polo, 2005). La preservación de cepas microbianas no es tarea fácil y debe garantizar la viabilidad, pureza y estabilidad de los cultivos, características que coinciden con los objetivos de un buen método de conservación a corto (resiembración periódica), mediano (esferas de alginato) y largo plazo (congelación), (García, 2013). La conservación de cepas en el presente trabajo se llevó a cabo a largo plazo, es decir, se congelaron en viales pequeños de 1 mL para que cuando se usen, se tome lo necesario y no haya desperdicio, también de esa manera se evita que se contaminen. En conclusión, es importante el estudio continuo de los microorganismos, ya que estos van evolucionando y se van volviendo más resistentes.

MARCO TEORICO

Las bacterias son microorganismos unicelulares, con un tamaño medido en micrómetros (entre 0.5 a 5). Presentan una variedad de formas que incluyen hélices, esferas y barras. Las bacterias son procariontes, lo que quiere decir que no poseen un núcleo ni presentan orgánulos internos. Algunas de ellas poseen sistemas de desplazamiento que les permiten movilidad y diseminación. Por lo general, también cuentan con una pared celular, en la cual el peptidoglicano se considera como componente característico y propio de éstas. La capacidad de adaptación de las bacterias, a pesar de su simplicidad estructural en ese periodo, les dio la posibilidad de desarrollarse en ambientes bastante adversos y carentes de oxígeno. A medida que las condiciones atmosféricas cambiaron, las bacterias desarrollaron capacidades que llevaron a una acelerada producción de oxígeno, la cual desencadenó, a su vez, en el desarrollo de más formas de vida (Jenssen & Hancock, 2006).

Existen varias maneras de clasificar a las bacterias, según su forma se clasifican en: cocos (esféricos), espirilos (en forma de espiral) y bacilos (bastones), según su óptimo de temperatura en: termófilas, mesófilas y psicrófilas, según el pH en el que se desarrollan: acidófilas, neutrófilas y basófilas, etc. La mayoría de las bacterias se clasifican en dos grandes categorías: Gram positivas y Gram negativas. Estas categorías se basan en la composición de la pared celular y la reacción a la prueba de tinción de Gram, las bacterias gram negativas poseen forma de vara o barra o cocos gram positivos forma esférica son aquellas que se caracterizan porque no se tiñen de azul oscuro o de violeta una vez que se les aplica la prueba de coloración o tinción de Gram, sino que lo hacen de un color rosado tenue. Esto se debe a que, tienen una membrana celular exterior, es decir, presentan una doble membrana celular (una es externa y la otra citoplasmática) lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. Las bacterias gram negativas poseen espacio periplasmático es decir, un espacio entre la superficie externa de la membrana citoplasmática y la interna de la membrana externa. Además, en los bacilos gram negativos la red de mureína o trama glucopeptídica que envuelve a las membranas

plasmáticas presenta una sola capa. La mayoría de las bacterias Gram negativas son patógenas, es decir, pueden causar enfermedades a los seres humanos y por lo general, son más resistentes a los antibióticos o desarrollan resistencia a estos de manera más rápida que las Gram positivas (Basaldúa, 2016). Las bacterias Gram positivas (forma de barra) o cocos gram positivos (de forma esférica), se caracterizan por mostrar un color violeta o azul cuando se les aplica la prueba de coloración o tinción de Gram. Esto se debe a que, no tienen membrana celular exterior, sino que, en su lugar, contienen una pared de peptidoglucano (también llamado peptidoglicano), un exoesqueleto que da consistencia y forma esencial para replicación y supervivencia de la bacteria y que es responsable de que la coloración violeta se mantenga. En las bacterias Gram positivas la red de mureína o trama glucopeptídica que envuelve a las membranas plasmáticas está muy desarrollada y llega a tener hasta 40 capas. Otra característica importante es que, muchos de los bacilos o cocos gram positivos no son agentes patógenos, es decir, no son causantes de enfermedades; incluso forman parte de los microbiomas comensales humanos que se encuentran en la boca, la piel, el intestino y el tracto respiratorio (Mollinedo & González, 2014).

Escherichia coli

Escherichia coli es una bacteria perteneciente a la familia Enterobacteriaceae (gammaprotobacteria). Es un bacilo Gram negativo, el cual se encuentra principalmente en el intestino humano. Aparte, también es capaz de colonizar el tracto urinario, ya que puede sobrevivir en multitud de entornos, debido a su rápido crecimiento, tanto en condiciones aerobias como anaerobias, y a su capacidad para metabolizar una gran variedad de fuentes de carbono. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas. La vía de exposición principal es el consumo de alimentos contaminados, carne cruda o mal cocinada, leche cruda o productos frescos. Tanto los animales, como las personas infectadas, pueden liberar de 10^6 a 10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de heces; esta liberación

será independiente de la gravedad o ausencia de síntomas de la enfermedad, ya que también se producirá a través de portadores asintomáticos. Esta bacteria es de carácter mesófilo, es decir, su óptimo de desarrollo está en torno a la temperatura corporal de los animales de sangre caliente (entre 35 y 43°C). Aproximadamente, un 82.82% de los aislamientos de *E. coli* aparece en muestras de orina, un 7.76% en exudados, un 3.46% en muestras de biopsias y tejidos, un 4.36% en hemocultivo, un 1.54% en esputo y sólo un 0.06% en muestras fecales. Por esto, se puede afirmar que presumiblemente un 82.82% de los aislamientos representa infecciones de orina, sin distinguir entre vías altas y bajas, un 7.76% infecciones de piel y partes blandas, un 3.46% infecciones abdominales, un 4.36% bacteriemia, un 1.54% infecciones respiratorias y un 0.06% diarrea. Tratamiento farmacológico: Fosfomicina (Monurol) en monodosis, fluoroquinolonas tipo Ciprofloxacino durante 3 días, nitrofurantoínas durante 5-7 días, cefalosporinas orales durante 3 días, en caso de recidivas, se recomienda la administración de probióticos, así como de arándano rojo, ya que, por su contenido en proantocianidinas, impide la fijación de las fimbrias de la bacteria a las paredes de la vejiga (Lobete).

Pseudomona aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo gramnegativo no fermentador que afecta principalmente a pacientes con alteraciones locales o generales de los mecanismos de defensa frente a las infecciones, de ahí que pueda ser considerado de alguna forma como un patógeno oportunista. Principalmente es causante de infecciones intrahospitalarias y concretamente de infecciones adquiridas en las unidades de cuidados intensivos (UCI), entre las que destaca la neumonía asociada a ventilación mecánica (NAV). *P. aeruginosa* produce un elevado número de toxinas y tiene en su superficie diversos componentes que lo hacen especialmente virulento comparado con otros microorganismos.

La vía más común de infección en los pacientes ventilados mecánicamente es a través de la aspiración de secreciones procedentes del tracto respiratorio superior y previamente colonizadas debido a la manipulación de la vía respiratoria artificial o a través de las manos contaminadas del personal sanitario. Actualmente se dispone

de nuevos antimicrobianos como carbapenem, betalactámicos asociados a inhibidores de betalactamasas y fluoroquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacina), que permiten una mayor variabilidad en el tratamiento, pero en todos los casos, se sigue recomendando que, a diferencia de las infecciones por *Pseudomonas* spp., en otras localizaciones, cuando se trata de una neumonía con o sin bacteriemia el tratamiento combinado parece ser más seguro, para evitar la aparición de resistencias durante el tratamiento (Vallés & Mariscal, 2005).

Shigella dysenteriae

Shigella es un bacilo gramnegativo, pequeño, inmóvil, no capsulado, que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Se clasifica en 4 grupos, A, B, C y D que corresponden a *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*), *Shigella flexneri* (*S. flexneri*), *Shigella boydii* y *Shigella sonnei* (*S. sonnei*), respectivamente. Más del 75% de las infecciones en países industrializados se atribuyen a *S. sonnei*. Sin embargo, *S. flexneri* es la predominante en Asia, África y Sudamérica. Los cuadros más graves de shigelosis se deben a *S. dysenteriae* del serotipo 1, endémica y epidémica en la India. Su principal reservorio es el intestino del ser humano. En países desarrollados, el modo de transmisión más frecuente es de persona a persona. Se considera el enteropatógeno bacteriano más transmisible por esta vía. De forma esporádica se describen brotes asociados al consumo de agua o alimentos contaminados (González & Alós, 2005).

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae pertenece a la familia *enterobacteriaceae* y se describe como un encapsulado gramnegativo Y bacteria no móvil. La virulencia de la bacteria es proporcionada por una amplia gama de factores que pueden conducir a la infección y a la resistencia a los antibióticos. La cápsula de polisacáridos del organismo es el factor de virulencia más importante y permite que las bacterias eludan la opsonofacocitosis Y la eliminación del suero por parte del organismo huésped. Hasta la fecha, se han estudiado 77 tipos capsulares diferentes, y aquellas especies de *klebsiella* sin cápsula tienden a ser menos virulentas. Un segundo factor

de virulencia es el lipopolisacárido que recubren la superficie exterior de una bacteria gramnegativa. la detección del lipopolisacárido libera una cascada inflamatoria en el organismo huésped y ha sido uno de los principales culpables de las secuelas de sepsis y shock séptico. Otro factor de virulencia, las fimbrias, permite que el organismo se adiera a las células huésped. Los sideróforos Son otro factor de virulencia que el organismo necesita para causar infección en los huéspedes. Los sideróforos adquieren hierro del huésped para permitir la propagación del organismo infectante. *Klebsiella pneumoniae* es una de las pocas bacterias que ahora están experimentando una alta tasa de resistencia secundaria a los antibióticos.

Los seres humanos sirven como reservorio primario de *K. pneumoniae*. en la comunidad general del 5% al 38% de las personas portan el organismo en sus heces y del 1% al 6% en la nasofaringe. Los principales reservorios de infección son el tubo digestivo del paciente y las manos del personal hospitalario. En pacientes hospitalizados, la tasa de portadores de *K. pneumoniae* es mucho mayor que la encontrada en la comunidad. en un estudio, se pueden observar tasas de portadores de hasta el 77% en las heces de los hospitalizados y están relacionadas con la cantidad de antibióticos administrados. La neumonía causada por *K. pneumoniae* se puede dividir en 2 categorías: neumonía adquirida en la comunidad o adquirida en el hospital. aunque la neumonía adquirida en la comunidad es un diagnóstico bastante común, la infección por *K. pneumoniae* es poco común. En general, *K. pneumoniae* representa aproximadamente el 11.8% de todas las neumonías adquiridas en los hospitales del mundo. en aquellos que desarrollan neumonía mientras están en un ventilador, entre el 8% y el 12% son causados por *K. pneumoniae*, mientras que sólo el 7% ocurre en aquellos pacientes que no están ventilados. La mortalidad varía del 50% al 100% en pacientes con alcoholismo y septicemia.

Dada la baja incidencia de *K. pneumoniae* en la comunidad, el tratamiento de la neumonía debe seguir las pautas estándar para la terapia con antibióticos. una vez

que se sospecha se confirma la infección por *K. pneumoniae*, el tratamiento antibiótico debe adaptarse a las sensibilidades antibióticas locales. los regímenes actuales para la neumonía por *K. pneumoniae* adquirida en la comunidad incluyen un tratamiento de 14 días con una cefalosporina de tercera o cuarta generación como monoterapia o una quinolona respiratoria como monoterapia o cualquiera de los regímenes anteriores junto con un aminoglucósido. Si el paciente es alérgico a la penicilina, debe iniciarse un ciclo de aztreonam o una quinolona respiratoria. para infecciones nosocomiales, se puede usar un carbapenem como monoterapia hasta que se notifiquen sensibilidad. Cuando se diagnostica betalactamasa de espectro extendido, se debe iniciar la terapia con carbapenem debido a su tasa de sensibilidad en todo el mundo. cuando se diagnostica enterobacteria resistente a carbapenem, se debe obtener una consulta de enfermedades infecciosas para guiar el tratamiento. varias opciones de antibióticos para tratarla incluyen antibióticos de la clase de las polimixinas, tigeciclina, fosfomicina, aminoglucósidos o carbapenémicos de terapia dual. la terapia de combinación de 2 o más de los agentes, como se mencionó anteriormente, puede disminuir la mortalidad en comparación con la monoterapia sola (Ashurst & Dawson, 2018).

Klebsiella oxytoca

Klebsiella oxytoca es una especie gramnegativa de bacteria, redondeadas, estrechamente relacionadas con *K. pneumoniae*, de la que se distingue por ser indol positivo; y por tener ligeras diferencias en relación con los medios en que puede crecer. Es una bacteria patógena que puede ocasionar infección y enfermedad en humanos. *Klebsiella oxytoca*, es una bacteria que se aísla en raras ocasiones en casos de bacteriemia, a diferencia de su pariente *Klebsiella pneumoniae* que es causa frecuente de enfermedad en humanos. La mayor parte de las infecciones por *Klebsiella oxytoca* son infecciones urinarias o de vías biliares, en muchas ocasiones son infecciones polimicrobianas o adquiridas en el hospital, especialmente en pacientes diabéticos, tratados con antibióticos anteriormente o que presentan alguna enfermedad previa de gravedad. La ampicilina/sulbactam, las cefalosporinas de segunda y tercera generación, el aztreonam, el imipenem, los

aminoglucósidos y las quinolonas podrían considerarse fármacos potencialmente eficaces para el tratamiento de infecciones causadas por *K. oxytoca* (Lin et al., 1997).

Proteus mirabilis

Proteus mirabilis, parte de la familia de bacilos Enterobacteriácea, es un anaerobio facultativo gramnegativo con capacidad para fermentar maltosa e incapacidad para fermentar lactosa. *P. mirabilis* también tiene motilidad de enjambre y la capacidad de auto alargarse y secretar un polisacárido cuando entra en contacto con superficies solidas; esto permite la fijación y la motilidad fácil a lo largo de las superficies (ejemplo, equipo médico). Los flagelos de *P. mirabilis* son los que permiten su motilidad, esto no solo ayuda a apoyar la colonización, sino que también se ha asociado con su capacidad para formar biopelículas y se sugiere que contribuye a la resistencia a las defensas del huésped y a ciertos antibióticos.

P. mirabilis se encuentra abundantemente en el suelo y el agua, y aunque es parte de la flora intestinal humana normal (junto con las especies de *klebsiella* y *E. coli*) se sabe que causa infecciones graves en humanos. Las personas con una infección por *Proteus* pueden presentar uretritis, cistitis, prostatitis o pielonefritis. Un historial de cálculos renales frecuentes puede ser indicativo de una infección crónica por *Proteus*. El tratamiento empírico para una infección del tracto urinario no complicada causada por *P. mirabilis*, implica un tratamiento ambulatorio con un ciclo de 3 días de trimetoprima/sulfametoxazol, o un tratamiento oral fluoroquinolona (ciprofloxacino). Si un paciente tiene una afección más grave o está hospitalizado, puede comenzar la terapia con antibióticos mediante la administración intravenosa de ceftriaxona, gentamicina, fluoroquinolona, gentamicina más ampicilina o aztreonam hasta que se resuelva la fiebre. En este punto, pueden cambiar a terapia oral con cefalosporina, una fluoroquinolona oral por hasta 14 días adicionales (Jamil, et al., 2017).

Salmonella typhi

Salmonella entérica serotipo *typhi* es una bacteria gramnegativa flagelada con forma de bastón cuyo único reservorio es el cuerpo humano. Es la responsable de la fiebre tifoidea, *salmonella typhi* generalmente se contrae por la ingestión de alimentos o agua que está contaminada con los excrementos de las personas que portan el organismo y debe sobrevivir a la barrera del pH gástrico en el estómago antes de adherirse al intestino delgado. Los síntomas abdominales siempre están presentes durante la progresión de la enfermedad y pueden incluir dolor, náuseas, vómitos, estreñimiento o diarrea. El primer antibiótico que se utilizó para tratar infecciones causadas por *Salmonella* entérica serotipo *typhi* fue el cloranfenicol. Actualmente, la ciprofloxacina o la ofloxacina se han convertido en la base del tratamiento. Cuando se identifica resistencia a una quinolona, se puede utilizar una cefalosporina de espectro extendido como la ceftriaxona. Otra opción a las quinolonas sería la azitromicina. La terapia combinada de fluoroquinolonas, cefalosporinas y macrólidos se han usado en personas que no responden a las terapias estándar (Ashurst, et al., 2021).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) es uno de los microorganismos aislados con mayor frecuencia en patología humana y es agente causal de infecciones de piel y estructuras asociadas (PEA), infecciones endovasculares, neumonías, artritis sépticas, osteomielitis, infecciones asociadas a cuerpos extraños y sepsis. La bacteria se puede propagar de persona a persona por contacto directo, a través de objetos contaminados (tales como aparatos de gimnasia, teléfonos, pomos de puertas, mandos a distancia del televisor o los botones del ascensor) o, menos frecuentemente, por inhalación de gotitas infectadas dispersadas al estornudar o toser. *Staphylococcus aureus* se caracteriza por ser la principal causa de bacteriemia nosocomial en el mundo, debido al incremento en la resistencia, a los diferentes factores de patogenicidad y virulencia y la expresión de una gran variedad de proteínas las cuales pertenecen a las moléculas de la matriz adhesiva (MSCRAMM), presentes en la superficie de la bacteria cuya función es la

colonización e invasión celular al hospedero y favorecer la formación de biopelícula. El conjunto de estos mecanismos de patogenicidad y virulencia, le permiten a la bacteria persistir en el huésped y en el ambiente, sobreviviendo a factores adversos, al sistema inmune y a los antimicrobianos. La infección que se contrae en un hospital se trata con antibióticos que son eficaces contra SARM. Estos antibióticos son vancomicina, linezolid, tedizolid, quinupristina más dalfopristina, ceftarolina, telavancina o daptomicina. Si los resultados de las pruebas posteriores indican que la cepa es sensible a la meticilina y la persona no es alérgica a la penicilina, se utiliza un medicamento relacionado con la meticilina, como nafcilina u oxacilina. Dependiendo de la gravedad de la infección, los antibióticos pueden administrarse durante semanas (Camarena & Sánchez, 1999).

Enterococcus faecalis

Enterococcus faecalis es un microorganismo anaerobio facultativo, Gram positivo, inmóvil, no esporulado que coloniza el tracto gastrointestinal y forma parte de la microbiota normal de la saliva. *Enterococcus faecalis* se ha aislado de infecciones del tracto urinario, bacteriemia, endocarditis, infecciones intrabdominales, pelvianas, infecciones de tejidos blandos, heridas, sepsis neonatal y rara vez meningitis. *E. faecalis* puede propagarse por transmisión fecal-oral, por contacto con fluidos o superficies contaminadas. Los factores condicionantes para la adquisición de infecciones por *Enterococcus faecalis* son generalmente por estados de inmunosupresión. El tratamiento normal para esta bacteria es amoxicilina o ampicilina sola o en combinación con gentamicina o estreptomina. Pero debido a que *Enterococcus faecalis* ha registrado resistencia a las penicilinas, cefalosporinas, y muy especialmente, una resistencia de alto nivel para los aminoglucósidos, esta combinación en ocasiones no es posible, por lo que el tratamiento ideal era la vancomicina (Fernández, et al., 2004).

Candida albicans

Candida albicans es una levadura comensal que reside en las membranas mucosas de las cavidades oral y vaginal, así como en el tracto gastrointestinal de los

humanos. Normalmente es inofensiva en el hospedero sano, pero su patogenicidad se dispara en el hospedero inmunocomprometido. Aunque la invasión inicial depende de los mecanismos inmunes del hospedero, *C. albicans* posee características intrínsecas que promueven su habilidad de causar enfermedad. Se postula que la habilidad de *C. albicans* para formar tubos germinales es su mayor factor de virulencia, se piensa que el tubo germinal es más adherente a las superficies de las mucosas. El antifúngico recomendado por el médico varía de acuerdo con el sitio de proliferación del hongo, perfil de sensibilidad y síntomas presentados, pudiendo ser recomendado el uso de imidazol, nistatina, anfotericina B, miconazol, fluconazol o itraconazol (Panizo & Reviákina, 2001).

Candida krusei

Candida krusei es un mesófilo que solo pueden crecer a temperaturas de hasta 45° C, y es una de las dos especies de *Candida* que pueden crecer en medios que no contienen vitaminas. En condiciones aerobias y semi aerobias, *C. krusei* es uno de los productores de etanol a partir de la glucosa. *Candida krusei* es una especie de levadura que no produce esporas y que generalmente se encuentra creciendo como una sola célula o como pseudohifas. *C. krusei* se considera un patógeno humano oportunista emergente relativamente poco común que infecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos. La infección por *C. krusei* es una fungemia rara. El tratamiento empírico impuesto, posterior al proceder, se basó en la asociación de meropenem más vancomicina, aciclovir y dexametasona cubriendo las posibles etologías más frecuentes (bacterianas y virales) y teniendo en cuenta la sintomatología subaguda. *C. krusei* está ganando reconocimiento en el mundo actual ya que es un patógeno resistente a múltiples fármacos debido a su capacidad para adaptarse rápidamente a los tratamientos antifúngicos y su complejo perfil de susceptibilidad (Lara & Gil, 2018).

Candida glabrata

Candida glabrata es una levadura haploide asexual, es un patógeno exitoso que coloniza las superficies epiteliales (boca, tracto gastrointestinal, vagina, piel y

presente en las heces) como flora microbiana saludable sin especificidad de edad. *C. glabrata* se encuentra comúnmente en el medio ambiente, particularmente en flores, hojas, superficies, agua y suelo. 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, traumatismo o cirugía. Sin embargo, la susceptibilidad a la enfermedad aumenta debido a ciertas condiciones como el SIDA y la tuberculosis, el uso de inmunosupresores y medicamentos contra el cáncer, la terapia prolongada con antibióticos y la hospitalización prolongada.

Los medicamentos a base de azoles desempeñan un papel fundamental en la práctica clínica, especialmente el fluconazol, el clotrimazol y los imidazoles. El fluconazol es el fármaco de primera línea utilizado para la profilaxis y el tratamiento de muchas infecciones fúngicas (Hassan et al., 2021).

Candida tropicalis

Candida tropicalis emerge como una de las especies de *Candida* más importante en términos de epidemiología y virulencia. Es capaz de producir hifas verdaderas, *C. tropicalis* también se ha considerado una fuerte especie productora de biopelículas y es muy adherente a las células epiteliales y endoteliales. *C. tropicalis* ha sido considerado un microorganismo osmotolerante y esta capacidad de sobrevivir a altas concentraciones de sal, puede ser importante para la persistencia fúngica en ambientes salinos, contribuyendo a la expresión de factores de virulencia in vitro y resistencia a fármacos antifúngicos. Esta propiedad explica el uso potencial de *C. tropicalis* en procesos biotecnológicos como la producción de xilitol a partir de fibra de maíz y etanol a partir de algas marinas. El bajo nivel de resistencia de *C. tropicalis* a las equinocandinas y los menores efectos secundarios, ya que actúan sobre la pared de la célula fúngica, las hacen imprescindibles en casos de resistencia a fluconazol y anfotericina B, con un amplio espectro de acción frente a *C. tropicalis* (Zuza et al., 2017).

OBJETIVO GENERAL

Reactivar, identificar y conservar cepas bacterianas del laboratorio de Biología Experimental (N-101).

OBJETIVOS PARTICULARES

- Descongelar y enriquecer las cepas conservadas para su reactivación
- Sembrar en medios adecuados para identificar su morfología colonial y microscópica
- Evaluar la actividad metabólica de las cepas
- Resembrar las cepas identificadas para conservar en congelación y/o liofilización.

JUSTIFICACIÓN

Es importante el estudio continuo de los microorganismos, debido a que, día con día van evolucionando para sobrevivir ante los cambios del medio que las rodea. Desde tiempos remotos los microorganismos han sido empleados como materiales esenciales de trabajo en la obtención de medicamentos de interés farmacéutico (antibióticos, vitaminas aminoácidos y proteínas), elaboración de alimentos (pan, queso, leche, bebidas y licores) y fabricación de disolventes y reactivos (García, 2013). La preservación de las cepas ayuda a poder tener un cepario, las cepas se congelan para su posterior utilización, de esta manera se garantiza su viabilidad, pureza y estabilidad.

METODOLOGÍA

- **PROLIFERACIÓN DE BACTERIAS:** se preparó caldo enriquecido para el crecimiento de las bacterias y levaduras, en este caso se utilizó BHI (infusión cerebro de corazón), se pesaron 3.7 g de BHI y se pasó a 100 mL de agua destilada, se llevó a calentamiento hasta su completa disolución, se pasan 3 mL a un tubo con taparrosca y se llevan a esterilización.

Para la activación de las bacterias o levaduras, se tenía el liofilizado, teniendo el área de trabajo limpia, desinfectada y los mecheros prendidos, se abre el frasco y con una espátula estéril se toma un poco, se flamea el tubo que contiene el BHI y se deposita el liofilizado, se vuelve a flamear el tubo y se cierra, se lleva a la estufa a una temperatura de 37°C en un tiempo de 24-48 h según sea el caso para que el microorganismo crezca.

- Lista de bacterias y levaduras ATCC que se activaron:

Bacterias	ATCC	Levaduras	ATCC
<i>E. coli</i>	25922	<i>C. albicans</i>	10231
<i>E. coli</i>	25404	<i>C. albicans</i>	18804
<i>E. coli</i>	8739	<i>C. krusei</i>	90878
<i>P. aeruginosa</i>	9027	<i>C. glabrata</i>	32554
<i>P. aeruginosa</i>	27853	<i>C. glabrata</i>	90030
<i>S. aureus</i>	6538	<i>C. tropicalis</i>	750
<i>S. aureus</i>	25923		
<i>E. faecalis</i>	29212		

- Bacterias no ATCC:

Bacterias	
<i>S. dysenteriae</i>	<i>P. mirabilis</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>
<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>

- **SIEMBRA DE BACTERIAS Y LEVADURAS EN AGARES**

Pasado el tiempo de incubación en los caldos enriquecidos se procede a sembrar en agares las bacterias.

La técnica para sembrar es a través de un estriado en el agar realizando cuatro cuadrantes y en el último cuadrante se extiende.

Con el asa estéril se introduce el asa al tubo de BHI donde prolifera la bacteria y se lleva al agar, se realiza el primer estriado, se esteriliza el asa y se realiza el segundo estriado, se esteriliza el asa y se realiza el tercer estriado, se esteriliza el asa por última vez y se realiza el último estriado. Se lleva a incubación a la estufa a una temperatura de 37° C por 24 horas.

AGARES UTILIZADOS PARA CADA BACTERIA

<i>E. COLI</i>	Verde brillante, EMB y MacConkey
<i>P. AERUGINOSA</i>	MacConkey y agar EMB
<i>S. AUREUS</i>	Sal y manitol, agar sangre y agar estafilo
<i>E. FAECALIS</i>	Nutritivo y agar soya y tripticaseína
<i>S. DYSENTERIAE</i>	MacConkey y agar salmonella-shigella
<i>K. PNEUMONIAE</i>	MacConkey y agar EMB.
<i>K. OXYTOCA</i>	MacConkey y agar EMB.
<i>P. MIRABILIS</i>	MacConkey y agar EMB.
<i>S. TYPHI</i>	MacConkey y agar verde brillante
<i>CANDIDAS</i>	Agar Sabouraud

Se llevan a la estufa a una temperatura de 37° C por 24 horas para su incubación.

Transcurrido este tiempo se les hace descripción macroscópica y microscópica a las colonias.

- **TÉCNICA PARA LA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA:**

1. Con un asa estéril se toma una pequeña cantidad de bacteria directamente del agar, se frota en un portaobjetos limpio hasta que la

bacteria se desprege del asa, posteriormente se deposita una gota de agua destilada.

2. Se fija la muestra al calor (en el mechero) a una distancia donde no queme, se pasa varias veces sobre la flama hasta que el agua se seque por completo.
3. Se agrega de 1 a 2 gotas del reactivo cristal violeta y esperar 1 minuto.
4. Transcurrido el minuto se enjuaga con agua, de tal manera que se retire el exceso de reactivo, se sacude un poco el portaobjetos con la intención de secar.
5. Agregar 1 o 2 gotas del reactivo Lugol y esperar 1 minuto.
6. Transcurrido el minuto se enjuaga con agua y se sacude un poco para quita el exceso de agua.
7. Decolorar con el reactivo alcohol-cetona agregando de 1 a 2 gotas.
8. Enjuagar con agua y sacudir para secar.
9. Se agrega 1 o 2 gotas del reactivo safranina y se espera 1 minuto.
10. Transcurrido el minuto de enjuaga con agua y se sacude para secar.
11. Se agrega 1 gota del aceite de inmersión y se observa al microscopio a 100x.

- **PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE LAS BACTERIAS**

Se preparo agar de citrato de Simmons, agar hierro-kligler, agar SIM, caldo urea y caldo MR/VP.

Una vez preparado el material y con los mecheros prendidos se procede a sembrar en el tubo de agar citrato de Simmons, se esteriliza el asa y se toma una colonia, se lleva al tubo, se pica la gelatina sin llegar al fondo del tubo y se hace un estriado en el pico del agar.

Se utiliza la misma técnica para el agar hierro-Kligler.

Para el agar SIM se esteriliza el asa, se toma una colonia y se lleva al tubo, picando la gelatina sin llegar al fondo del tubo y sin mover el asa se saca.

Para los caldos de urea y MR/VP, se esteriliza el asa, se toma una colonia y se lleva al tubo, hay que mover un poco el asa dentro del caldo para asegurarse de que la bacteria no se quede en el asa.

Una vez sembrados todos los tubos se llevan a incubación a la estufa, a una temperatura de 37° C por 24 horas.

Las pruebas bioquímicas se realizaron a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. dysenteriae*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *S. typhi*.

Para *S. aureus*, se realizó coagulasa, catalasa y oxidasa. Mientras que para *E. faecalis* se realizó catalasa y oxidasa.

Prueba de coagulasa: se utiliza el plasma de la sangre de humano, con un asa estéril se toma una colonia de la bacteria y se re suspende en el plasma, se lleva a incubación a una temperatura de 37° C por 4 horas.

Prueba de catalasa: con un asa estéril se toma una colonia del agar y se lleva a un portaobjetos, se colocan 1 o 2 gotas de solución de peróxido de hidrogeno sobre el portaobjetos donde se colocó la bacteria, la reacción es inmediata.

Prueba de oxidasa: con un asa estéril tomar una colonia y depositarla en un portaobjetos, adicionar 2 o 3 gotas de reactivo Kovacs sobre el portaobjetos donde está la bacteria, esperar unos 15 segundos para notar la reacción.

- PRUEBA DEL TUBO GERMINAL O FILAMENTACIÓN PRECOZ: con un asa estéril se toma una colonia de la levadura, se resuspende en un tubo con suero humano, se deja incubar en la estufa a una temperatura de 37° C durante 2 horas. Transcurrido el tiempo depositar una gota de la emulsión sobre un portaobjetos, colocar 1 gota de azul de algodón y poner un cubreobjetos encima. Visualizar en el microscopio a x100.

- CONSERVACIÓN DE CEPAS

Tomar 300 μ L del caldo de BHI donde proliferaron las bacterias o levaduras y pasarlas a un caldo de 8 mL de BHI, se lleva a incubación a la estufa a una temperatura de 37° C por 24 horas para su proliferación. Transcurrido el tiempo se añaden 2 mL de glicerol al tubo, se agita y se procede a poner 1 mL en tubos ependorf. Posteriormente se llevan al revco para su congelación.

- ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Se prepararon dos inóculos para la actividad antimicrobiana, se inoculo *E. coli* y *S. aureus*, se inocularon 300 μ L de cada bacteria en tubos con 3 mL de BHI, se incubaron a 37° C por 24 horas. Se preparo agar Mueller Hinton para sembrar posteriormente las bacterias.

Antes de sembrar las bacterias se le hacen cinco orificios al agar con una pipeta de vidrio, se esteriliza la pipeta en el mechero y se pincha la gelatina, los pozos se etiquetarán como "A, B, C, D y E". Posteriormente con un asa estéril se introduce en el caldo de BHI donde prolifero la bacteria, se lleva al agar y se hace un estriado masivo tratando de cubrir todo el agar, una vez sembrada la bacteria con mucha precaución y manteniendo la esterilidad se adicionan 100 μ L de amikacina a una concentración de 500 μ g en el pozo "A", en el pozo "B" se adicionan 100 μ L de extracto metanólico de piquería a una concentración de 250 μ g, en el pozo "C" se agregan 100 μ L de extrado de metanólico de piquería a una concentración de 150 μ g, en el pozo "D" se agregan 100 μ L a una concentración de 50 μ g y en el pozo "E" se agregan 100 μ L a una concentración de 12.5 μ g.

Se repite el mismo procedimiento en otro agar sabouraud, ahora agregando en el pozo "A" 100 μ L de gentamicina a una concentración de 500 μ g, en el pozo "B" se adicionan 100 μ L de extracto metanólico de piquería a una concentración de 250 μ g, en el pozo "C" se agregan 100 μ L de extrado de metanólico de piquería a una concentración de 150 μ g, en el pozo "D" se

agregan 100 μL a una concentración de 50 μg y en el pozo "E" se agregan 100 μL a una concentración de 12.5 μg .

Se repite el mismo procedimiento en otro agar sabouraud, agregando la misma concentración de cada antibiótico, es decir, 500 μg de amikacina en un agar con el resto de las concentraciones correspondientes de "B a "E" y 500 μg de gentamicina, pero ahora con el extracto diclorometano de piquería.

En otro agar sabouraud ya con los pozos realizados y la siembra de la bacteria, ahora se agregarán 100 μL de antibiótico de amikacina en las siguientes concentraciones: 500, 125, 31.25, 7.81 y 1.95 μg . Mientras que en otro agar realizando el mismo procedimiento, pero cambiando el antibiótico, se agregara en las mismas concentraciones 100 μL de gentamicina.

Se realizarán los mismos pasos, ahora solo se cambiarán los extractos, será extracto metanólico de grindelia y extracto de diclorometano de grindelia.

Una vez sembrado, los agares se llevan a incubación a una temperatura de 37° C por 24 horas.

RESULTADOS

- **Tabla 1.** Observación macroscópica de bacterias gram positivas

Bacterias	Descripción macroscópica	
<i>S. aureus</i> <i>ATCC 6538</i> <i>ATCC 25923</i>	Agar sal y manitol: colonias de color transparentes-amarillas, tienen un aspecto cremoso, puntiformes de tamaño regular.	Agar sangre: colonias blancas opacas, con una consistencia cremosa, de tamaño regular, planas de forma circular.
<i>E. faecalis</i> <i>ATCC 29212</i>	Agar nutritivo: colonias blancas, de tamaño muy pequeño, de forma circular puntiformes, con aspecto cremoso.	Agar soya y tripticaseína: colonias blancas, de tamaño muy pequeño, de forma circular puntiformes, con aspecto opaco.

- **Tabla 2.** Observación microscópica de bacterias gram positivas

Bacterias	ATCC	Descripción microscópica
<i>S. aureus</i>	<i>25923</i> <i>6538</i>	Formación de cocos, diplococos o racimos. Bacteria gram positiva.
<i>E. faecalis</i>	<i>29212</i>	Formación de coco o diplococos. Bacteria gram positiva.

- **Tabla 3.** Pruebas bioquímicas de bacterias gram positivas

Bacterias	ATCC	Pruebas bioquímicas		
<i>S. aureus</i>	<i>25923</i> <i>6538</i>	Catalasa: positiva	Coagulasa: negativa	Oxidasa: negativa
<i>E. faecalis</i>	<i>29212</i>	Catalasa: negativa	Oxidasa: negativa	

• **Tabla 4.** Observación macroscópica de bacterias gram negativas

Bacterias	ATCC	Descripción macroscópica	
<i>E. coli</i>	25922	Agar macconkey: se observan colonias de color rosado opaco, convexas, con tamaño y forma irregular.	Agar verde brillante: colonias color amarillo-verdosas (brillan en el agar), circulares, puntiformes de tamaño regular.
	25404		
	8739		
<i>P. aeruginosa</i>	27853	Agar macconkey: se observan colonias de transparentes-amarillas, de tamaño irregular, planas.	Agar EMB: colonias de color rosadas, con aspecto cremoso, son de forma circular y puntiformes.
	9027		
<i>S. dysenteriae</i>		Agar macconkey: colonias transparentes, de tamaño regular, con forma circular planas, con aspecto cremoso.	Agar salmonella-shigella: colonias transparentes, de tamaño pequeño, con forma circular puntiformes.
<i>K. pneumoniae</i>		Agar macconkey: colonias rosas-purpuras, de tamaño regular, circulares puntiformes, con aspecto cremoso.	Agar EMB: colonias transparentes con centro negro, son de tamaño regular, circulares puntiformes, con aspecto cremoso.
<i>K. oxytoca</i>		Agar macconkey: colonias transparentes, de tamaño regular, circulares convexas, con aspecto cremoso.	Agar EMB: colonias transparentes, de tamaño regular, colonias planas con forma irregular.
<i>P. mirabilis</i>		Agar macconkey: colonias transparentes, de forma circular planas, colonias de tamaño regular, con aspecto cremoso.	Agar EMB: colonias transparentes, de forma irregular planas, colonias con tamaño pequeño.
<i>S. typhi</i>		Agar macconkey: colonias transparentes, de tamaño regular, con forma circular y aspecto cremoso.	Agar verde brillante: colonias transparentes, con forma circular, colonias de tamaño pequeño.

- **Tabla 5.** Observación microscópica de bacterias gram negativas

Bacterias	ATCC	Descripción microscópica
<i>E. coli</i>	25922 25404 8739	Bacilos gram negativos. No forma esporas
<i>P. aeruginosa</i>	27853 9027	Bacilos gram negativos
<i>S. dysenteriae</i>		Bacilos delgados gram negativos. No forma esporas.
<i>K. pneumoniae</i>		Bacilos gram negativos. No forma esporas.
<i>K. oxytoca</i>		Bacilos pequeños gram negativos. No forma esporas.
<i>P. mirabilis</i>		Bacilos gram negativos. Posee flagelo. No forma esporas.
<i>S. typhi</i>		Bacilos gram negativos. Posee flagelo. No forma esporas.

- **Tabla 6.** Pruebas bioquímicas de bacterias gram negativas

Bacterias	Pruebas bioquímicas							
	Citrato de Simmons	Hierro/Kligler		SIM		Urea	Rojo de metilo	Voges Proskauer
<i>E. coli</i>	Negativo	A/A	Producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Negativo
<i>P. aeruginosa</i>	Positivo	K/K	No hay producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Positivo
<i>S. dysenteriae</i>	Negativo	K/A	No hay producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Positivo
<i>K. pneumoniae</i>	Positivo	A/A	Producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Negativo
<i>K. oxytoca</i>	Negativo	H/K	Producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Positivo
<i>P. mirabilis</i>	Negativo	H/K	Producción de H ₂ S	Móvil	Indol positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>S. typhi</i>	Negativo	H/K	Producción de gas	Móvil	Indol negativo	Negativo	Positivo	Positivo

A: reacción ácida (color amarillo); K: reacción alcalina (color rojo)

- Citrato de Simmons: positivo (el agar vira a color azul), negativo (no hay cambio de color).
- Hierro Kligler:
 1. Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rojo, fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta glucosa.

2. Superficie ácida/profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa y lactosa.
 3. Superficie alcalina/profundidad alcalina (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es NO fermentador de azúcares.
 4. La presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas.
 5. El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.
- SIM: movilidad positiva (presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra). Negativa (crecimiento solamente en la línea de siembra).
Producción de SH₂ positivo (ennegrecimiento del medio de cultivo a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio). Negativo (el medio permanece sin cambio de color).
Prueba de indol positivo (color rojo), negativo (incolore-amarillento).
 - Ureasa: microorganismo que hidroliza la urea, el medio vira de color rosa-rojizo. Mientras que el microorganismo que NO hidroliza la urea el medio es color amarillo.
 - Rojo de metilo: positivo (color rojo), negativo (color amarillo).
Voges Proskauer: positivo (rojo en pocos minutos), negativo (ausencia de color).

- **Tabla 7.** Observación macroscópica de levaduras

Levaduras	ATCC	Descripción macroscópica
<i>C. albicans</i>	10231 18804	Agar dextrosa sabouraud: colonias blancas, de tamaño regular circulares, con forma puntiforme, de aspecto cremoso.
<i>C. krusei</i>	90878	Agar dextrosa sabouraud: colonias blancas, de forma circular puntiformes, aspecto aterciopelado, colonias de tamaño grande.
<i>C. glabrata</i>	32554 90030	Agar dextrosa sabouraud: colonias blancas, de forma circular puntiformes, con aspecto mucoso, colonias de tamaño pequeño.
<i>C. tropicalis</i>	750	Agar dextrosa sabouraud: colonias blancas, de forma circular puntiformes, con aspecto mucoso, colonias de tamaño pequeño.

- **Tabla 8.** Observación microscópica de levaduras

Levaduras	ATCC	Observación microscópica
<i>C. albicans</i>	10231 18804	Levadura de forma oval. Se observan hifas y pseudohifas.
<i>C. krusei</i>	90878	Levadura de forma oval alargada. Formación de pseudomicelios.
<i>C. glabrata</i>	32554 90030	Levadura con formas individuales ovoides. No forma pseudohifas.
<i>C. tropicalis</i>	750	Levadura dismórfica, de forma oval alargada. Formación de blastoconidios unicelulares.

- **Tabla 9.** Prueba del tubo germinal o filamentación precoz

Levadura	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. albicans</i> ATCC 18804	<i>C. krusei</i> ATCC 90878	<i>C. glabrata</i> ATCC 32554	<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750
Tubo germinal	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Filamentación precoz	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo

Fundamento

El tubo germinal es una extensión filamentosa de la levadura, sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces mayor que la célula madre.

Solo *C. albicans* es capaz de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales, pero con una zona de constricción característica adyacente a la célula madre.

- ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Tabla 10. Actividad antimicrobiana de *E. coli*

<i>E. coli</i>	Inhibición de antibiótico en cm	
	Amikacina	Gentamicina
500 μg	4.5 cm	2 cm
125 μg	3 cm	1.5 cm
31.25 μg	2.5 cm	1 cm
7.81 μg	2 cm	0.7 cm
1.95 μg	0.8 cm	0.5 cm

Tabla 11. Actividad antimicrobiana de *S. aureus*

<i>S. aureus</i>	Inhibición de antibiótico en cm	
	Amikacina	Gentamicina
500 μg	4 cm	2.6 cm
125 μg	3.5 cm	2 cm
31.25 μg	3 cm	1.8 cm
7.81 μg	2.5 cm	1.6 cm
1.95 μg	2 cm	1 cm

Tabla 12. Actividad antimicrobiana de *E. coli* con extractos de piquería y una concentración de antibióticos.

<i>E. coli</i>	Extracto de piquería		Antibiótico e inhibición en cm	
	Diclorometano	Metanólico	Amikacina	Gentamicina
250 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
150 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
50 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
12.5 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
7.81 μg			No presento inhibición	No presento inhibición

Tabla 13. Actividad antimicrobiana de *S. aureus* con extractos de piquería y una concentración de antibióticos.

<i>S. aureus</i>	Extracto de piquería		Antibiótico e inhibición en cm	
	Diclorometano	Metanólico	Amikacina	Gentamicina
250 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
150 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
50 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
12.5 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
7.81 μg			No presento inhibición	No presento inhibición

Tabla 14. Actividad antimicrobiana de *E. coli* con extractos de piquería y tres concentraciones de antibióticos.

<i>E. coli</i>	Extracto de piquería		Antibiótico e inhibición en cm	
	Diclorometano	Metanólico	Amikacina	Gentamicina
Concentración de extracto				
250 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
150 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
50 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
12.5 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
Concentración de antibiótico				
500 μg			0.5 cm	2.5 cm
125 μg			No presento inhibición	2 cm
31.25 μg			No presento inhibición	1.5 cm

Tabla 15. Actividad antimicrobiana de *E. coli* con diferentes antibióticos.

<i>E. coli</i>	Inhibición en cm				
	500 μg	125 μg	30 μg	10 μg	5 μg
Concentración de antibióticos					
Amikacina	2.5 cm	1.8 cm			
Gentamicina	2.5 cm	1.7 cm			
Ac. Nalidixico			1.8 cm		
Ac. Clavulánico/ amoxicilina					
Estreptomina				1.3 cm	
Ciprofloxacino					1.5 cm

Tabla 16. Actividad antimicrobiana de *E. coli* con extractos de piquería a diferentes concentraciones y dos concentraciones de antibióticos.

<i>E. coli</i>	Extracto de piquería		Antibiótico e inhibición en cm	
	Diclorometano	Metanólico	Amikacina	Gentamicina
Concentración de extracto				
30000 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		

15000 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
7500 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
3750 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
1875 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
937.5 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
234.25 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
117.125 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
Concentración de antibiótico				
500 μg			2.5 cm	2.5 cm
125 μg			2 cm	2 cm

Tabla 17. Actividad antimicrobiana de *E. coli* con extractos de grindelia a diferentes concentraciones y dos concentraciones de antibióticos.

<i>E. coli</i>	Extracto de grindelia		Antibiótico e inhibición en cm	
	Diclorometano	Metanólico	Amikacina	Gentamicina
Concentración de extracto				
30000 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
15000 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
7500 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
3750 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
1875 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
937.5 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
234.25 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
117.125 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
Concentración de antibiótico				
500 μg			2.5 cm	2.3 cm
125 μg			1.8 cm	1.8 cm

Tabla 18. Actividad antimicrobiana de *E. coli* con extractos de partenium a diferentes concentraciones y dos concentraciones de antibióticos.

<i>E. coli</i>	Extracto de partenium		Antibiótico e inhibición en cm	
	Diclorometano	Metanólico	Amikacina	Gentamicina
Concentración de extracto				
30000 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
15000 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
7500 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
3750 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
1875 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
937.5 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
234.25 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
117.125 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
Concentración de antibiótico				
500 μg			2.5 cm	2 cm
125 μg			2 cm	1.6 cm

Tabla 19. Actividad antimicrobiana de *S. aureus* con extractos de partenium a diferentes concentraciones y dos concentraciones de antibióticos.

<i>S. aureus</i>	Extracto de partenium		Antibiótico e inhibición en cm	
	Diclorometano	Metanólico	Amikacina	Gentamicina
Concentración de extracto				
30000 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
15000 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
7500 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
3750 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
1875 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		
937.5 μg	No presente inhibición	No presente inhibición		

234.25 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
117.125 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
Concentración de antibiótico				
500 μg			2.3 cm	2 cm
125 μg			1.8 cm	1.7 cm

DISCUSIÓN

Un cepario es una colección de especies de microorganismos que se mantienen en el laboratorio, por diversos métodos de conservación, durante un tiempo determinado. En la industria farmacéutica algunos microorganismos son seleccionados de ceparios y utilizados para la producción de algún metabolito importante, el conocimiento, conservación y uso de la diversidad microbiana contribuyen al desarrollo de la microbiología clínica la cual se encarga del estudio de microorganismos patógenos para el ser humano, por lo que para conformar un cepario es necesario conservarlas por distintas técnicas que ayuden a prevenir algún posible cambio metabólico o genético manteniendo así las características de cada cepa (García, 2013). En el presente trabajo se llevó a cabo la reactivación de cepas ATCC y cepas extraídas de agares diferenciales respectivamente. En la tabla 1, 2 y 3 se pueden observar las características microscópicas, macroscópicas y las pruebas de identificación para las bacterias *S. aureus* (ATCC 6538 y ATCC 25923) y *E. faecalis* (ATCC 29212), son bacterias gram positivas que derivan diferentes enfermedades, entre ellas neumonía en caso de *S. aureus* e infecciones del tracto urinario en el caso de *E. faecalis*. Mientras que en las tablas 4 y 5 se encuentran las características macroscópicas y microscópicas de las bacterias gram negativas, como se puede observar en la tabla 4 todas las bacterias crecen satisfactoriamente en agar macconkey, aunque cada una tiene ciertas características que las diferencia entre ellas, además se sembraron en agares selectivos para una mejor diferenciación.

Existen varias maneras de clasificar a las bacterias, por ejemplo, según su forma se clasifican en: cocos (esféricos), espirilos (en forma de espiral) y bacilos (bastones),

según su óptimo de temperatura en: termófilas, mesófilas y psicrófilas, según el pH en el que se desarrollan: acidófilas, neutrófilas y basófilas, etc., pero es más didáctico clasificar a las bacterias, en este caso Gram negativas, según su requerimiento de oxígeno para poder permanecer con vida (Mollinedo & González, 2014). En la tabla 5 de la observación microscópica de las bacterias gram negativas indica que poseen una forma de bacilos, las bacterias que destacan son *P. mirabilis* y *S. typhi*, ya que estas poseen flagelos. Sin embargo, las bacterias gram positivas se caracterizan por tener una forma de cocos, diplococos o racimos, como se puede observar en la tabla 2 de la observación microscópica de *S. aureus* y *E. faecalis*.

La identificación bioquímica se fundamenta en las características metabólicas específicas de cada microorganismo, en la detección de la actividad de ciertas enzimas ya que usan la capacidad catalítica de las enzimas que pueden poseer las bacterias en estudio la forma usual de detectar una enzima se basa en el principio de que, si está presente, utilizara un sustrato determinado que ha sido puesto adrede en el medio de cultivo o en una prueba bioquímica determinada. Los productos terminales de la acción enzimática son detectados a través de indicadores de pH o por el apareamiento de pigmentos que hacen virar el color del medio, algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas. Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48h. (Romero & Polo, 2005). En el presente trabajo se aplicaron las pruebas bioquímicas a las bacterias gram negativas, algunas de las bacterias utilizadas provenían de cepas ATCC, pero otras no, como en el caso de *S. dysenteriae*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis* y *S. typhi*, estas bacterias fueron extraídas de viales previamente conservados, por lo que era importante poder identificar que correspondiera con el nombre de la bacteria que tenía escrito, hubo algunas variaciones con las klebsiellas, por lo que se hicieron varias aisladas hasta poder obtener una colonia limpia, procediendo después con las pruebas de identificación, en la tabla 6 se muestran los resultados de cada bacteria con sus respectivas bioquímicas, corroborando con la literatura que los datos obtenidos correspondían a las bacterias. Como se puede identificar en la tabla

6 las bacterias *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* viraron el color de la prueba citrato de Simmons, lo que indica que utilizan amonio dihidrogenado y citrato sódico como fuente de nitrógeno y carbono respectivamente. Mientras que *P. mirabilis* se destaca por generar H₂S (caracterizado por virar a un color negro los agares) y por producir urea positiva.

Candida albicans es la especie de *Candida* aislada de humanos con mayor prevalencia, aunque las infecciones por *Candida glabrata* han aumentado significativamente en las últimas dos décadas y ahora son unas de las principales causas de candidemia, representando más de un tercio de todas las candidemias aisladas (Gamal, et al., 2021). En la tabla 7 se describe la morfología de las levaduras, donde la morfología de *Candida krusei* es muy diferente a las demás, ya que esta presenta colonias muy grandes y aterciopeladas, mientras que las demás son colonias pequeñas. En la tabla 8 la observación microscópica de las levaduras se puede diferenciar las *Candidas* por su formación de hifas o pseudohifas, micelios y la forma que tiene cada *Candida*. Aunque la prueba del tubo germinal o filamentación precoz es más exacta para poder identificar *C. albicans*, ya que esta prueba es exclusiva de *C. albicans* al ser la única que produce verdaderos tubos germinales, *C. tropicalis* en esta prueba puede producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales.

Si bien desde 1997 se habían detectado cepas de *S. aureus* que mostraban cierta tolerancia (clasificada como resistencia intermedia) a la vancomicina, fundamentada en el atípico engrosamiento de su pared celular, la resistencia estafilocócica más efectiva (o resistencia total) a la vancomicina surgió mediante la conjugación de un plásmido, en el contexto de algunas infecciones mixtas ocasionadas conjuntamente por *Enterococcus faecalis* (Chakraborty et al., 2011). En la presente investigación se llevó a cabo un estudio de actividad antimicrobiana probando extractos metanólico y diclorometano de piquería y grindelia, donde no se obtuvo inhibición en ninguna de las concentraciones probadas. Sin embargo, con los antibióticos probados si hubo inhibición, amikacina y gentamicina fueron los antibióticos utilizados, se hicieron varias repeticiones ya que hubo casos donde los antibióticos

no presentaron inhibición, haciendo una retrospectiva se concluyó que se debió a que el caldo donde proliferó *S. aureus* había sido activado días atrás, por lo que para montar los siguientes experimentos se preparaba el caldo con la cepa un día antes, obteniendo así la inhibición.

Otras alternativas incluyen el desarrollo de nuevos antimicrobianos, el estudio de la posibilidad de incrementar la concentración de los antibióticos conocidos y el establecimiento de terapias múltiples consistentes en administrar simultáneamente dos, tres o más fármacos a los enfermos. Estas últimas opciones representan la posibilidad de mayores efectos colaterales, aunque también una alta probabilidad de rebasar la capacidad de los microorganismos para neutralizar la acción de los antimicrobianos (Rayner & Munckhof, 2005).

CONCLUSIÓN

Es importante el estudio continuo de los microorganismos, ya que estos evolucionan con su entorno para poder sobrevivir, lo que los hace resistentes a los antibióticos actuales.

REFERENCIAS

1. Basaldúa, I. Y. C. (2016). Las bacterias: estudio y cambios a lo largo de la historia. 17, 5.
2. Mollinedo, M., González C. (2014). Bacterias Gram Negativas. Revistas Bolivianas, v.49 (ISSN 2304-3768). Revista de Actualización Clínica Investiga - Bacterias Gram Negativas (revistasbolivianas.org.bo).
3. López, J. E., Ochoa, A., Santoyo, G., Anaya, J. L., Medina, E., Martínez, M., & Loeza, P. D. (2008). Bacteriocinas de bacterias Gram positivas: una fuente potencial de nuevos tratamientos biomédicos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39(3), 49-57.
4. Lobete, V. S. TRABAJO FIN DE GRADO Escherichia coli.
5. Vallés, J., & Mariscal, D. (2005). Neumonía por Pseudomonas aeruginosa. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23, 30-36.
6. González-Torralba, A., & Alós, J. I. (2015). Shigelosis, la importancia de la higiene en la prevención. *Enferm. infecc. microbiol. clín. (Ed. impr.)*, 143-144.
7. Ashurst, J. V., & Dawson, A. (2018). Klebsiella pneumonia.
8. Lin, R. D., Hsueh, P. R., Chang, S. C., Chen, Y. C., Hsieh, W. C., & Luh, K. T. (1997). Bacteremia due to Klebsiella oxytoca: clinical features of patients and antimicrobial susceptibilities of the isolates. *Clinical infectious diseases*, 24(6), 1217-1222.
9. Jamil, R. T., Foris, L. A., & Snowden, J. (2017). Proteus mirabilis infections.
10. Ashurst, J. V., Truong, J., & Woodbury, B. (2021). Salmonella typhi. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
11. Camarena, J., & Sánchez, R. (1999). Infección por Staphylococcus aureus resistente a meticilina. *Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia*, 1.
12. Fernández, M. Á., Fernández, F. F., de la Fuente Aguado, J., González, M. R., Fernández, S. P., Germiñas, A. N., ... & Vázquez, C. M. (2004). Bacteriemia por Enterococcus faecalis. *Revista clínica española*, 204(5), 244-250.

13. Panizo, M. M., & Reviákina, V. (2001). Candida albicans y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 21(2), 38-45.
14. Lara, A. E., & Gil, L. D. (2018). Meningoencefalitis por Candida krusei. *La Ciencia al Servicio de la Salud*, 8(2), 7-12.
15. Hassan, Y., Chew, S. Y., & Than, L. T. L. (2021). Candida glabrata: pathogenicity and resistance mechanisms for adaptation and survival. *Journal of Fungi*, 7(8), 667.
16. 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.
17. Chakraborty, S. P., KarMahapatra, S., Bal, M., & Roy, S. (2011). Isolation and identification of vancomycin resistant Staphylococcus aureus from post operative pus sample. *Al Ameen J Med Sci*, 4(2), 152-68.
18. Jenssen, H., Hamill, P., & Hancock, R. E. (2006). Peptide antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 19(3), 491-511.
19. BIÓLOGO, Q. F. (2013). *DIRECTOR DE TESIS: Mtra. Yolanda Flores Cabrera ASESOR DE TESIS: Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara MÉXICO, DF 25 2013* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Autónoma de México).
20. Mollinedo Patzi, M. A., & Gonzáles Villalobos, C. (2014). Bacterias gram negativas. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 49, 2609.
21. Romero, E., Melendres, K. P., & Polo, L. Á. T. PRUEBAS BIOQUÍMICAS.
22. Rayner, C., & Munckhof, W. J. (2005). Antibiotics currently used in the treatment of infections caused by Staphylococcus aureus. *Internal medicine journal*, 35, S3-16.
23. Gamal, A., Chu, S., McCormick, T. S., Borroto-Esoda, K., Angulo, D., & Ghannoum, M. A. (2021). Ibrefafungerp, a novel oral triterpenoid antifungal in development: overview of antifungal activity against Candida glabrata. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 642358.

ANEXOS

Escherichia coli

ATCC 25922

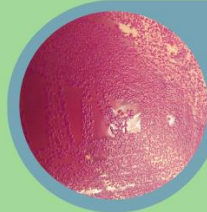


E. coli

- Es una bacteria anaerobia facultativa.
- Bacteria mesófila, temperatura óptima de crecimiento 37° C, en 24 horas.
- Caldos donde prolifera *E. coli*: nutritivo, caldo lactosado bilis verde brillante, caldo teogicolate, caldo BHI.

Agar macconkey

- Colonias rosadas opacas, irregulares.
- Colonias convexas.



Agar verde brillante

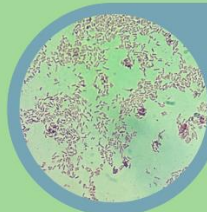
- Colonias amarillo-verdosas, circulares.
- Colonias puntiformes.

NOTA: Se pueden utilizar los siguientes agares: agar EMB, agar bilis y rojo violeta, agar nutritivo, agar soya y tripticaseína.



Microscopio

- Bacilos gram negativos.
- No forma esporas.



Pruebas bioquímicas

- Fermenta glucosa y lactosa con producción de gas.
- Indol positivo.
- No utiliza citrato como fuente de carbono.
- Ureasa negativa.
- Rojo de metilo positivo y voges proskauer negativo.



Para más información ingresa a
@micro.biologia101 • Fotos y videos de Instagram

Escherichia coli

ATCC 25404

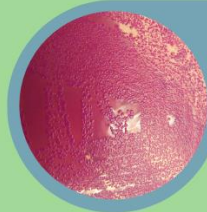


E. coli

- Es una bacteria anaerobia facultativa.
- Bacteria mesófila, temperatura óptima de crecimiento 37° C, en 24 horas.
- Caldos donde prolifera *E. coli*: nutritivo, caldo lactosado bilis verde brillante, caldo teogicolate, caldo BHI.

Agar macconkey

- Colonias rosadas opacas, irregulares.
- Colonias convexas.



Agar verde brillante

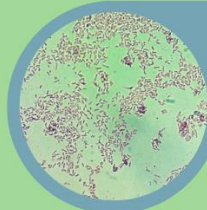
- Colonias amarillo-verdosas, circulares.
- Colonias puntiformes.

NOTA: Se pueden utilizar los siguientes agares: agar EMB, agar bilis y rojo violeta, agar nutritivo, agar soya y tripticaseína.



Microscopio

- Bacilos gram negativos.
- No forma esporas.



Pruebas bioquímicas

- Fermenta glucosa y lactosa con producción de gas.
- Indol positivo.
- No utiliza citrato como fuente de carbono.
- Ureasa negativa.
- Rojo de metilo positivo y voges proskauer negativo.



Para más información ingresa a [micro.biologia101](https://www.instagram.com/micro.biologia101) • Fotos y videos de Instagram

Escherichia coli

ATCC 8739

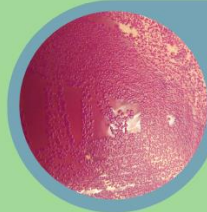


E. coli

- Es una bacteria anaerobia facultativa.
- Bacteria mesófila, temperatura óptima de crecimiento 37° C, en 24 horas.
- Caldos donde prolifera *E. coli*: nutritivo, caldo lactosado bilis verde brillante, caldo teogicolate, caldo BHI.

Agar macconkey

- Colonias rosadas opacas, irregulares.
- Colonias convexas.



Agar verde brillante

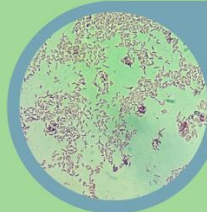
- Colonias amarillo-verdosas, circulares.
- Colonias puntiformes.

NOTA: Se pueden utilizar los siguientes agares: agar EMB, agar bilis y rojo violeta, agar nutritivo, agar soya y tripticaseina.



Microscopio

- Bacilos gram negativos.
- No forma esporas.



Pruebas bioquímicas

- Fermenta glucosa y lactosa con producción de gas.
- Indol positivo.
- No utiliza citrato como fuente de carbono.
- Ureasa negativa.
- Rojo de metilo positivo y voges proskauer negativo.

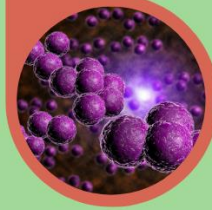


Para más información ingresa a [micro.biologia101](https://www.instagram.com/micro.biologia101) • Fotos y videos de Instagram

Staphylococcus aureus

ATCC 25923

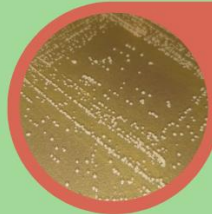
S. aureus



- Es una bacteria anaerobia facultativa.
- Es un coco inmóvil de 0.5 a 1 μm de diámetro.
- Gram positiva.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C de 24 a 48 horas en incubación.
- Caldos para proliferación de *S. aureus*: caldo BHI, caldo nutritivo.

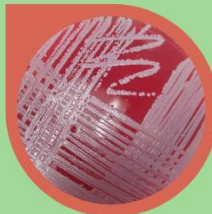
Agar sal y manitol

- Colonias transparentes-amarillas.
- Consistencia cremosa.
- Colonias puntiformes



Agar sangre

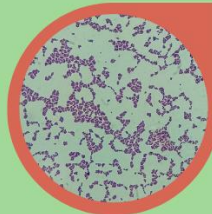
- Colonias planas, medio opacas, circulares
- Consistencia cremosa.



NOTA: otros agares a utilizar: agar soya y tripsinaseína, agar vogel Johnson, agar nutritivo, agar estafilococos.

Microscopio

- Formación de cocos.
- Se pueden observar en diplococos, racimos o cadenas.



Pruebas bioquímicas

- Catalasa positiva.
- Coagulasa negativa.
- Oxidasa negativa.



Para más información ingresa a [emicro.biologia101](https://www.instagram.com/emicro.biologia101) • Fotos y videos de Instagram

Staphylococcus aureus

ATCC 6538

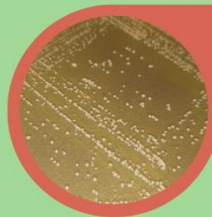
S. aureus



- Es una bacteria anaerobia facultativa.
- Es un coco inmóvil de 0.5 a 1 μm de diámetro.
- Gram positiva.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C de 24 a 48 horas en incubación.
- Caldos para proliferación de *S. aureus*: caldo BHI, caldo nutritivo.

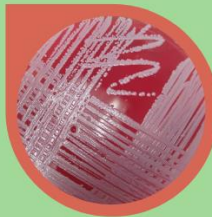
Agar sal y manitol

- Colonias transparentes-amarillas.
- Consistencia cremosa.
- Colonias puntiformes



Agar sangre

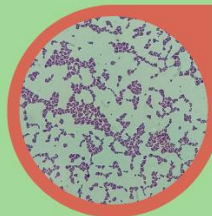
- Colonias planas, medio opacas, circulares
- Consistencia cremosa.



NOTA: otros agares a utilizar: agar soya y triplicaseína, agar vogel Johnson, agar nutritivo, agar estafilococos.

Microscopio

- Formación de cocos.
- Se pueden observar en diplococos, racimos o cadenas.



Pruebas bioquímicas

- Catalasa positiva.
- Coagulasa negativa.
- Oxidasa negativa.



Para más información ingresa a [micro.biologia101](https://www.instagram.com/micro.biologia101) • Fotos y videos de Instagram

Pseudomonas aeruginosa

ATCC 27853



P. aeruginosa

- Es una bacteria aeróbica.
- Es una bacteria móvil.
- Gram negativa.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C, 24 horas de incubación.
- Caldos para proloferación de *P. aeruginosa*: caldo BHI, caldo nutritivo.

Agar macconkey

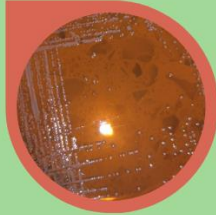
- Colonias transparentes-amarillas.
- Forma irregular.
- Colonias planas.



Agar EMB

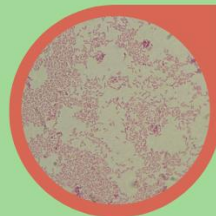
- Colonias rosadas, cremosas.
- Forma circular, puntiformes.

NOTA: Otros agares a utilizar: agar soya y triptocaseína, agar nutritivo, agar bilis y rojo violeta.



Microscopio

- Se observan en forma de bacilos.



Pruebas bioquímicas

- Citrato de Simmons positivo (pico de color azul).
- No fermenta azúcares.
- Indol positivo.
- Ureasa negativa.
- Rojo de metilo y voges proskauer positivo.



Para más información ingresa a [emicro.biologia101](https://www.instagram.com/emicro.biologia101) • Fotos y videos de Instagram

Pseudomonas aeruginosa

ATCC 9027

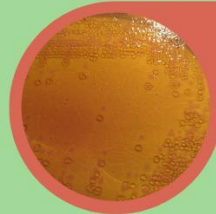


P. aeruginosa

- Es una bacteria aeróbica.
- Es una bacteria móvil.
- Gram negativa.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C, 24 horas de incubación.
- Caldos para proloferación de *P. aeruginosa*: caldo BHI, caldo nutritivo.

Agar macconkey

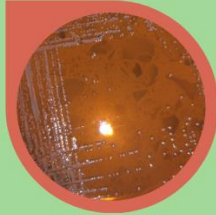
- Colonias transparentes-amarillas.
- Forma irregular.
- Colonias planas.



Agar EMB

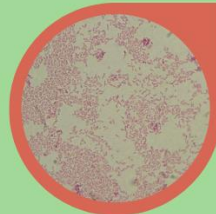
- Colonias rosadas, cremosas.
- Forma circular, puntiformes.

NOTA: Otros agares a utilizar: agar soya y triptocaseína, agar nutritivo, agar bilis y rojo violeta.



Microscopio

- Se observan en forma de bacilos.



Pruebas bioquímicas

- Citrato de Simmons positivo (pico de color azul).
- No fermenta azúcares.
- Indol positivo.
- Ureasa negativa.
- Rojo de metilo y voges proskauer positivo.



Para más información ingresa a [emicro.biologia101](https://www.instagram.com/emicro.biologia101) • Fotos y videos de Instagram

Enterococcus faecalis

ATCC 29212

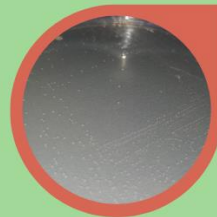


E. faecalis

- Es una bacteria anaerobia facultativa.
- Es una bacteria inmóvil.
- Gram positiva.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C, de 24 a 48 horas de incubación.
- Caldos para proliferación de *E. faecalis*: caldo BHI, caldo nutritivo.

Agar nutritivo

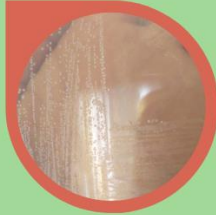
- Colonias blancas, circulares.
- Colonias muy pequeñas.
- Colonias puntiformes, opacas.



Agar soya y tripticaseína

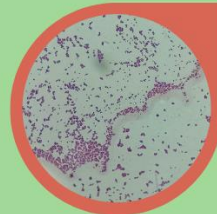
- Colonias blancas, opacas.
- Forma circular, puntiformes.
- Colonias muy pequeñas.

NOTA: otros agares a utilizar: agar bilis y rojo violeta, agar EMB.



Microscopio

- Se observan en forma de cocos o diplococos.



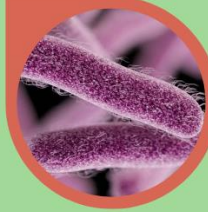
Pruebas bioquímicas

- Catalasa negativa.
- Oxidasa negativa.



Para más información ingresa a [emicro.biologia101](https://www.instagram.com/emicro.biologia101) • Fotos y videos de Instagram

Shigella dysenteriae



S. dysenteriae

- Es una bacteria gram negativa, anaerobia facultativa, no móvil.
- Temperatura óptima de crecimiento 37° C en 24 horas.
- Caldo BHI, caldo nutritivo para su proliferación.

Agar macconkey

- Colonias circulares transparentes.
- Tamaño regular, planas.
- Aspecto cremoso.



Agar salmonella-shigella

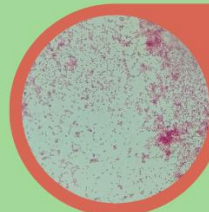
- Colonias muy pequeñas, circulares.
- Colonias transparentes, puntiformes.

NOTA: otros agares a utilizar: agar EMB, agar verde brillante, agar XLD.



Microscopio

- Se observa en bacilos delgados.
- No forma esporas.



Pruebas bioquímicas

- El microorganismo fermenta glucosa.
- Es indol positivo pero no presenta movilidad.
- No utiliza citrato como fuente de carbono.
- Ureasa negativa.
- Rojo de metilo y Vogues Proskauer positivo.



PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Klebsiella pneumoniae



K. pneumoniae

- Es una bacteria gram negativa, anaerobia facultativa, no móvil.
- Temperatura óptima de crecimiento 37° C en 24 horas.
- Caldo BHI, caldo nutritivo para su proliferación.

Agar macconkey

- Colonias circulares, rosas-púrpura.
- Tamaño regular, puntiformes.
- Aspecto cremoso.



Agar EMB

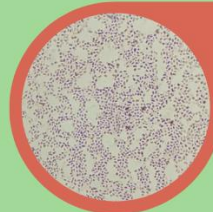


- Colonias de tamaño regular, circulares.
- Colonias transparentes, puntiformes, con centro negro.

NOTA: otros agares a utilizar: agar verde brillante, agar XLD.

Microscopio

- Se observan bacilos.
- No forma esporas.



Pruebas bioquímicas



- El microorganismo fermenta glucosa.
- Es indol positivo pero no presenta movilidad.
- Utiliza citrato como fuente de carbono.
- Ureasa negativa.
- Rojo de metilo positivo, Vogues Proskauer negativo.

PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Klebsiella oxytoca



K. oxytoca

- Es una bacteria gram negativa, anaerobia facultativa, no móvil.
- Temperatura óptima de crecimiento 37° C en 24 horas.
- Caldo BHI, caldo nutritivo para su proliferación.

Agar macconkey

- Colonias circulares, transparentes.
- Tamaño regular, convexas.
- Aspecto cremoso.



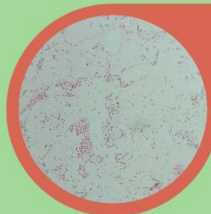
Agar EMB

- Colonias de tamaño regular.
 - Colonias transparentes, planas, irregulares.
- NOTA: otros agares a utilizar: agar verde brillante, agar XLD.

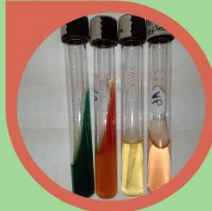


Microscopio

- Se observan en bacilos pequeños.
- No forma esporas.



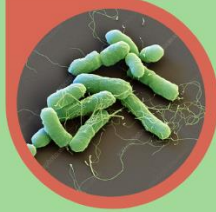
Pruebas bioquímicas



- El microorganismo fermenta glucosa.
- Es indol positivo pero no presenta movilidad.
- No utiliza citrato como fuente de carbono.
- Ureasa negativa.
- Rojo de metilo positivo, Vogues Proskauer positivo.

PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Proteus mirabilis



P. mirabilis

- Es una bacteria gram negativa, anaerobia facultativa, móvil.
- Temperatura óptima de crecimiento 37° C en 24 horas.
- Caldo BHI, caldo nutritivo para su proliferación.

Agar macconkey

- Colonias circulares, transparentes.
- Tamaño regular, planas.
- Aspecto cremoso.



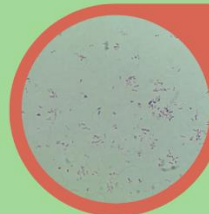
Agar EMB

- Colonias pequeñas.
 - Colonias transparentes, planas, irregulares.
- NOTA: otros agares a utilizar: agar verde brillante, agar XLD.



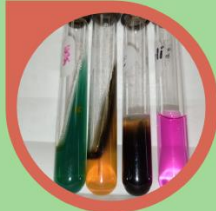
Microscopio

- Se observan en bacilos.
- Posee flagelo.
- No forma esporas.



Pruebas bioquímicas

- El microorganismo produce ácido sulfhídrico.
- Es indol positivo, presenta movilidad y producción de ácido sulfhídrico.
- No utiliza citrato como fuente de carbono.
- Ureasa positiva.
- Rojo de metilo positivo, Vogues Proskauer negativo.



PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Salmonella typhi



S. typhi

- Es una bacteria gram negativa, anaerobia facultativa, móvil.
- Temperatura óptima de crecimiento 37° C en 24 horas.
- Caldo BHI, caldo nutritivo para su proliferación.

Agar macconkey

- Colonias circulares, transparentes.
- Tamaño regular.
- Aspecto cremoso.



Agar verde brillante

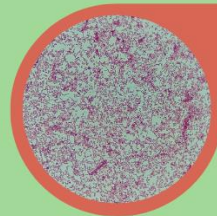
- Colonias pequeñas, transparentes, circulares.

NOTA: otros agares a utilizar: agar EMB, agar XLD.



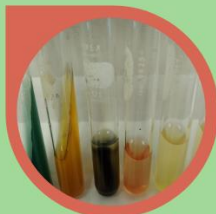
Microscopio

- Se observan en bacilos.
- Posee flagelo.
- No forma esporas.



Pruebas bioquímicas

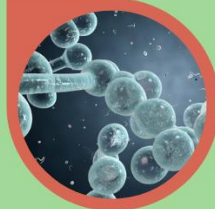
- El microorganismo fermenta glucosa y lactosa.
- Es indol positivo, presenta movilidad y producción de ácido sulfhídrico.
- No utiliza citrato como fuente de carbono.
- Ureasa negativa.
- Rojo de metilo positivo, Vogues Proskauer positivo.



PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Candida albicans

ATCC 10231



C. albicans

- Es un hongo diploide en forma de levadura.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C de 24 a 48 horas.
- Caldo BHI y caldo sabouraud para la proliferación de *Candida*.

Agar dextrosa sabouraud

- Colonias blancas de tamaño regular.
- Forma circular con un aspecto cremoso.

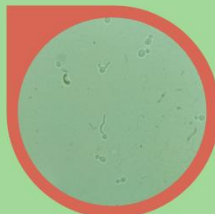
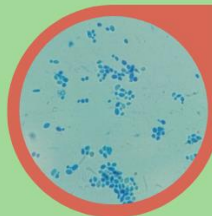


Agares para C. albicans

- Agar sangre
- Agar cromogénico
- Agar candida

Microscopio

- Hongo levaduriforme con forma oval.
- Es una levadura con hifas y pseudohifas.



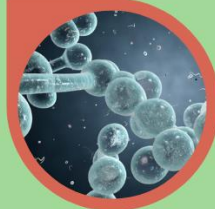
Identificación de Candidas

- Formación de tubos germinales.

PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Candida albicans

ATCC 18804



C. albicans

- Es un hongo diploide en forma de levadura.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C de 24 a 48 horas.
- Caldo BHI y caldo sabouraud para la proliferación de *Candida*.

Agar dextrosa sabouraud

- Colonias blancas de tamaño regular.
- Forma circular con un aspecto cremoso.

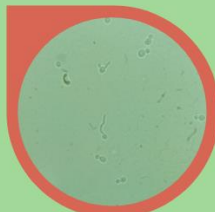
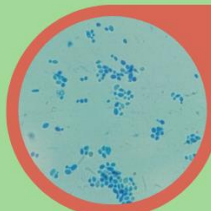


Agares para C. albicans

- Agar sangre
- Agar cromogénico
- Agar candida

Microscopio

- Hongo levaduriforme con forma oval.
- Es una levadura con hifas y pseudohifas.



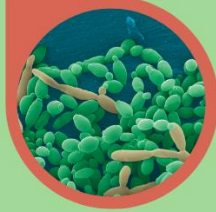
Identificación de Candidas

- Formación de tubos germinales.

PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Candida krusei

ATCC 90878

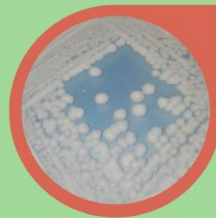


C. krusei

- Es una levadura diploide.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C de 24 a 48 horas.
- Caldo BHI y caldo sabouraud para la proliferación de *Candida*.

Agar dextrosa sabouraud

- Colonias blancas muy grandes.
- Forma circular, puntiformes con un aspecto aterciopelado.

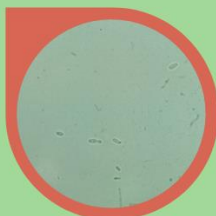
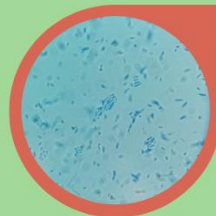


Agares para C. krusei

- Agar sangre
- Agar cromogénico
- Agar candida

Microscopio

- Hongo levaduriforme con forma oval alargada.
- Formación de pseudomicelios.



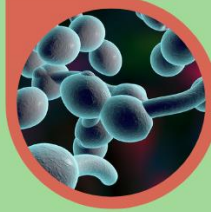
Identificación de Candidas

- No se observa la formación de tubos germinales.

PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Candida glabrata

ATCC 90030

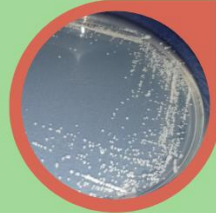


C. glabrata

- Es una levadura haploide.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C de 24 a 48 horas.
- Caldo BHI y caldo sabouraud para la proliferación de *Candida*.

Agar dextrosa sabouraud

- Colonias blancas pequeñas.
- Forma circular, puntiformes con un aspecto mucoso.

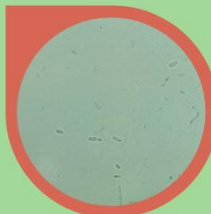


Agares para C. glabrata

- Agar sangre
- Agar cromogénico
- Agar candida

Microscopio

- Hongo levaduriforme con formas individuales ovoides.
- No forma pseudohifas.



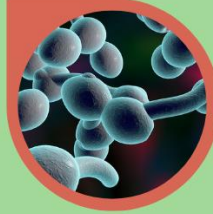
Identificación de Candidas

- No se observa la formación de tubos germinales.

PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Candida glabrata

ATCC 32554



C. glabrata

- Es una levadura haploide.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C de 24 a 48 horas.
- Caldo BHI y caldo sabouraud para la proliferación de *Candida*.

Agar dextrosa sabouraud

- Colonias blancas pequeñas.
- Forma circular, puntiformes con un aspecto mucoso.

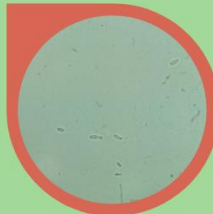
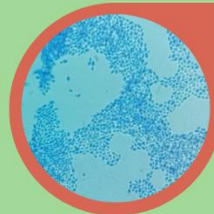


Agares para C. glabrata

- Agar sangre
- Agar cromogénico
- Agar candida

Microscopio

- Hongo levaduriforme con formas individuales ovoides.
- No forma pseudohifas.



Identificación de Candidas

- No se observa la formación de tubos germinales.

PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

Candida tropicalis

ATCC 750

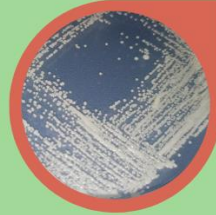


C. tropicalis

- Es una levadura de reproducción asexual.
- Temperatura óptima de crecimiento 37°C de 24 a 48 horas.
- Caldo BHI y caldo sabouraud para la proliferación de *Candida*.

Agar dextrosa sabouraud

- Colonias blancas pequeñas.
- Forma circular, puntiformes con un aspecto mucoso.

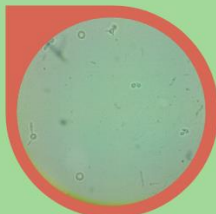
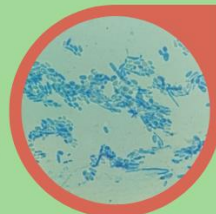


Agares para C. tropicalis

- Agar sangre
- Agar cromogénico
- Agar candida

Microscopio

- Forma oval alargada.
- Es una levadura dismórfica, formando blastoconidios unicelulares.



Identificación de Candidas

- Puede producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales.

PARA MÁS INFORMACIÓN INGRESA A
@MICRO.BIOLOGIA101 • FOTOS Y VIDEOS DE INSTAGRAM

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
LICENCIATURA QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

PROYECTO: Reactivación, conservación e identificación del cepario del laboratorio N-101 de la Universidad Autónoma Metropolitana

PROYECTO GENÉRICO: Evaluación de productos relacionados con la salud

ALUMNA: Silvia Ponce García

MATRÍCULA: 2142031956

DIRECCIÓN: Calle norte 14 #910 col. Santa Cruz, Valle de Chalco, EDOMEX, C.P 56617

Teléfono: 5589409873

Teléfono celular: 5610996401

CORREO ELECTRÓNICO: pgs.2312@gmail.com

Asesor interno

Dra. Ana Laura Esquivel Campos

No. Económico: 33148

Fecha de inicio: 5 de enero del 2022

Fecha de terminación: 10 de julio del 2022

Fecha de entrega: Diciembre 2022

RESUMEN

Las bacterias son microorganismos muy pequeños que no pueden ser apreciados a simple vista, existen bacterias que pueden desencadenar diferentes enfermedades, aunque también hay bacterias que son benéficas y ayudan a mantener un estado de salud óptimo. Es importante el estudio continuo de bacterias y levaduras, conocer su metabolismo, como desarrollan, en que medio proliferan mejor, observar su morfología, ayudara a conocer las enfermedades, sus síntomas y como poder contrarrestarlas. El estudio bioquímico que se lleva a cabo como complemento de otros estudios bacteriológicos es posible gracias a las reacciones fisiológicas y químicas que llevan a cabo los microorganismos. Para esto se emplean medios de cultivo enriquecidos con productos útiles para el metabolismo celular. En conclusión, es importante el estudio continuo de los microorganismos, ya que estos van evolucionando y se van volviendo más resistentes.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias son microorganismos muy pequeños que no pueden ser apreciados a simple vista, algunas bacterias pueden desencadenar padecimientos en diferentes órganos del cuerpo humano causando así diferentes enfermedades, pero también hay bacterias que son benéficas y ayudan a mantener un estado de salud óptimo, por tal motivo para la universidad es de suma importancia el poder estudiarlas e ir ampliando los conocimientos de los alumnos. Durante su evolución, las bacterias han adquirido diversos mecanismos de adaptación que les permiten tener éxito en la competencia por nutrientes y espacio en su hábitat (Jenssen et al., 2006). Contar con un cepario permite a los alumnos experimentar y poner en práctica sus conocimientos, otra de las ventajas de tener un cepario es poder tener material de estudio, se sabe que las bacterias van cambiando de acuerdo con las necesidades de su entorno, por lo que su constante estudio permite identificar como es que van evolucionando y cuál sería la mejor forma de contrarrestarlas cuando provocan o desencadenan algún padecimiento. El desarrollo y la propagación de cepas bacterianas resistentes a los fármacos antibacterianos se ha convertido en un problema mundial (Chakraborty et al., 2011).

Las bacterias no son los únicos microorganismos que pueden provocar enfermedades, las levaduras también son microorganismos que pueden desencadenar algunas enfermedades. Conocer su metabolismo, como desarrollan, en que medio proliferan mejor, observar su morfología, ayudara a conocer las enfermedades, sus síntomas y como poder contrarrestarlas. Las especies de *Candida* son la causa más común de infecciones fúngicas invasivas y están asociadas con altas tasas de mortalidad y morbilidad entre huéspedes inmunocomprometidos y no inmunocomprometidos (Gamal, et al., 2021).

El estudio bioquímico que se lleva a cabo como complemento de otros estudios bacteriológicos es posible gracias a las reacciones fisiológicas y químicas que llevan a cabo los microorganismos. Para esto se emplean medios de cultivo enriquecidos con productos útiles para el metabolismo celular (Romero & Polo, 2005). La preservación de cepas microbianas no es tarea fácil y debe garantizar la viabilidad, pureza y estabilidad de los cultivos, características que coinciden con los objetivos de un buen método de conservación a corto (resiembra periódica), mediano (esferas de alginato) y largo plazo (congelación), (García, 2013). La conservación de cepas en el presente trabajo se llevó a cabo a largo plazo, es decir, se congelaron en viales pequeños de 1mL para que cuando se usen, se tome lo necesario y no haya desperdicio, también de esa manera se evita que se contaminen. En conclusión, es importante el estudio continuo de los microorganismos, ya que estos van evolucionando y se van volviendo más resistentes.

OBJETIVO GENERAL

Reactivar, identificar y conservar cepas bacterianas del laboratorio de Biología Experimental (N-101).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descongelar y enriquecer las cepas conservadas para su reactivación
- Sembrar en medios adecuados para identificar su morfología colonial y microscópica
- Evaluar la actividad metabólica de las cepas

- Resembrar las cepas identificadas para conservar en congelación y/o liofilización.

METODOLOGIA



RESULTADOS

- Tabla 1. Observación microscópica de bacterias gram positivas

Bacterias	ATCC	Descripción microscópica
<i>S. aureus</i>	25923 6538	Formación de cocos, diplococos o racimos. Bacteria gram positiva.
<i>E. faecalis</i>	29212	Formación de coco o diplococos. Bacteria gram positiva.

- Tabla 2. Pruebas bioquímicas de bacterias gram positivas

Bacterias	ATCC	Pruebas bioquímicas		
<i>S. aureus</i>	25923 6538	Catalasa: positiva	Coagulasa: negativa	Oxidasa: negativa
<i>E. faecalis</i>	29212	Catalasa: negativa	Oxidasa: negativa	

- Tabla 3. Observación microscópica de bacterias gram negativas

Bacterias	ATCC	Descripción microscópica
<i>E. coli</i>	25922 25404 8739	Bacilos gram negativos. No forma esporas
<i>P. aeruginosa</i>	27853 9027	Bacilos gram negativos
<i>S. dysenteriae</i>		Bacilos delgados gram negativos. No forma esporas.
<i>K. pneumoniae</i>		Bacilos gram negativos. No forma esporas.
<i>K. oxytoca</i>		Bacilos pequeños gram negativos.

	No forma esporas.
<i>P. mirabilis</i>	Bacilos gram negativos. Posee flagelo. No forma esporas.
<i>S. typhi</i>	Bacilos gram negativos. Posee flagelo. No forma esporas.

- Tabla 4. Pruebas bioquímicas de bacterias gram negativas

Bacterias	Pruebas bioquímicas							
	Citrato de Simmons	Hierro/Kligler		SIM	Urea	Rojo de metilo	Voges Proskauer	
<i>E. coli</i>	Negativo	A/A	Producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Negativo
<i>P. aeruginosa</i>	Positivo	K/K	No hay producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Positivo
<i>S. dysenteriae</i>	Negativo	K/A	No hay producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Positivo
<i>K. pneumoniae</i>	Positivo	A/A	Producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Negativo
<i>K. oxytoca</i>	Negativo	H/K	Producción de gas	No móvil	Indol positivo	Negativo	Positivo	Positivo
<i>P. mirabilis</i>	Negativo	H/K	Producción de H ₂ S	Móvil	Indol positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>S. typhi</i>	Negativo	H/K	Producción de gas	Móvil	Indol negativo	Negativo	Positivo	Positivo

A: reacción ácida (color amarillo); K: reacción alcalina (color rojo)

- Citrato de Simmons: positivo (el agar vira a color azul), negativo (no hay cambio de color).
- Hierro Kligler:
 6. Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rojo, fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta glucosa.
 7. Superficie ácida/profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa y lactosa.

8. Superficie alcalina/profundidad alcalina (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es NO fermentador de azúcares.
 9. La presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas.
 10. El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.
- SIM: movilidad positiva (presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra). Negativa (crecimiento solamente en la línea de siembra).
Producción de SH₂ positivo (ennegrecimiento del medio de cultivo a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio). Negativo (el medio permanece sin cambio de color).
Prueba de indol positivo (color rojo), negativo (incoloro-amarillento).
 - Ureasa: microorganismo que hidroliza la urea, el medio vira de color rosa-rojizo. Mientras que el microorganismo que NO hidroliza la urea el medio es color amarillo.
 - Rojo de metilo: positivo (color rojo), negativo (color amarillo).
Voges Proskauer: positivo (rojo en pocos minutos), negativo (ausencia de color).

- Tabla 5. Observación microscópica de levaduras

Levaduras	ATCC	Observación microscópica
<i>C. albicans</i>	10231	Levadura de forma oval.
	18804	Se observan hifas y pseudohifas.
<i>C. krusei</i>	90878	Levadura de forma oval alargada. Formación de pseudomicelios.
<i>C. glabrata</i>	32554	Levadura con formas individuales
	90030	ovoides. No forma pseudohifas.
<i>C. tropicalis</i>	750	Levadura dismórfica, de forma oval alargada. Formación de blastoconidios unicelulares.

- Tabla 6. Prueba del tubo germinal o filamentación precoz

Levadura	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. albicans</i> ATCC 18804	<i>C. krusei</i> ATCC 90878	<i>C. glabrata</i> ATCC 32554	<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750
Tubo germinal	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Filamentación precoz	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo

Fundamento

El tubo germinal es una extensión filamentososa de la levadura, sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces mayor que la célula madre.

Solo *C. albicans* es capaz de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales, pero con una zona de constricción característica adyacente a la célula madre.

Tabla 7. Actividad antimicrobiana de *E. coli* con extractos de piquería a diferentes concentraciones y dos concentraciones de antibióticos.

<i>E. coli</i>	Extracto de piquería		Antibiótico e inhibición en cm	
	Diclorometano	Metanólico	Amikacina	Gentamicina
30000 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
15000 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
7500 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		

3750 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
1875 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
937.5 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
234.25 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
117.125 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
Concentración de antibiótico				
500 μg			2.5 cm	2.5 cm
125 μg			2 cm	2 cm

Tabla 8. Actividad antimicrobiana de *S. aureus* con extractos de partenium a diferentes concentraciones y dos concentraciones de antibióticos.

<i>S. aureus</i>	Extracto de partenium		Antibiótico e inhibición en cm	
	Diclorometano	Metanólico	Amikacina	Gentamicina
Concentración de extracto				
30000 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
15000 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
7500 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
3750 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
1875 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		

937.5 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
234.25 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
117.125 μg	No presento inhibición	No presento inhibición		
Concentración de antibiótico				
500 μg			2.3 cm	2 cm
125 μg			1.8 cm	1.7 cm

DISCUSIÓN

Un cepario es una colección de especies de microorganismos que se mantienen en el laboratorio, por diversos métodos de conservación, durante un tiempo determinado. En la industria farmacéutica algunos microorganismos son seleccionados de ceparios y utilizados para la producción de algún metabolito importante, el conocimiento, conservación y uso de la diversidad microbiana contribuyen al desarrollo de la microbiología clínica la cual se encarga del estudio de microorganismos patógenos para el ser humano, por lo que para conformar un cepario es necesario conservarlas por distintas técnicas que ayuden a prevenir algún posible cambio metabólico o genético manteniendo así las características de cada cepa (García, 2013). En el presente trabajo se llevó a cabo la reactivación de cepas ATCC y cepas extraídas de agares diferenciales respectivamente. En la tabla 1, 2 y 3 se pueden observar las características microscópicas, macroscópicas y las pruebas de identificación para las bacterias *S. aureus* (ATCC 6538 y ATCC 25923) y *E. faecalis* (ATCC 29212), son bacterias gram positivas que derivan diferentes enfermedades, entre ellas neumonía en caso de *S. aureus* e infecciones del tracto urinario en el caso de *E. faecalis*. Mientras que en las tablas 4 y 5 se encuentran las características macroscópicas y microscópicas de las bacterias gram negativas, como se puede observar en la tabla 4 todas las bacterias crecen satisfactoriamente

en agar macconkey, aunque cada una tiene ciertas características que las diferencia entre ellas, además se sembraron en agares selectivos para una mejor diferenciación.

Existen varias maneras de clasificar a las bacterias, por ejemplo, según su forma se clasifican en: cocos (esféricos), espirilos (en forma de espiral) y bacilos (bastones), según su óptimo de temperatura en: termófilas, mesófilas y psicrófilas, según el pH en el que se desarrollan: acidófilas, neutrófilas y basófilas, etc., pero es más didáctico clasificar a las bacterias, en este caso Gram negativas, según su requerimiento de oxígeno para poder permanecer con vida (Mollinedo & González, 2014). En la tabla 5 de la observación microscópica de las bacterias gram negativas indica que poseen una forma de bacilos, las bacterias que destacan son *P. mirabilis* y *S. typhi*, ya que estas poseen flagelos. Sin embargo, las bacterias gram positivas se caracterizan por tener una forma de cocos, diplococos o racimos, como se puede observar en la tabla 2 de la observación microscópica de *S. aureus* y *E. faecalis*.

La identificación bioquímica se fundamenta en las características metabólicas específicas de cada microorganismo, en la detección de la actividad de ciertas enzimas ya que usan la capacidad catalítica de las enzimas que pueden poseer las bacterias en estudio la forma usual de detectar una enzima se basa en el principio de que, si está presente, utilizara un sustrato determinado que ha sido puesto adrede en el medio de cultivo o en una prueba bioquímica determinada. Los productos terminales de la acción enzimática son detectados a través de indicadores de pH o por el apareamiento de pigmentos que hacen virar el color del medio, algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas. Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48h. (Romero & Polo, 2005). En el presente trabajo se aplicaron las pruebas bioquímicas a las bacterias gram negativas, algunas de las bacterias utilizadas provenían de cepas ATCC, pero otras no, como en el caso de *S. dysenteriae*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis* y *S. typhi*, estas bacterias fueron extraídas de viales previamente conservados, por lo que era importante poder identificar que correspondiera con el nombre de la bacteria que

tenía escrito, hubo algunas variaciones con las klebsiellas, por lo que se hicieron varias aisladas hasta poder obtener una colonia limpia, procediendo después con las pruebas de identificación, en la tabla 6 se muestran los resultados de cada bacteria con sus respectivas bioquímicas, corroborando con la literatura que los datos obtenidos correspondían a las bacterias. Como se puede identificar en la tabla 6 las bacterias *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* viraron el color de la prueba citrato de Simmons, lo que indica que utilizan amonio dihidrogenado y citrato sódico como fuente de nitrógeno y carbono respectivamente. Mientras que *P. mirabilis* se destaca por generar H₂S (caracterizado por virar a un color negro los agares) y por producir urea positiva.

Candida albicans es la especie de *Candida* aislada de humanos con mayor prevalencia, aunque las infecciones por *Candida glabrata* han aumentado significativamente en las últimas dos décadas y ahora son unas de las principales causas de candidemia, representando más de un tercio de todas las candidemias aisladas (Gamal, et al., 2021). En la tabla 7 se describe la morfología de las levaduras, donde la morfología de *Candida krusei* es muy diferente a las demás, ya que esta presenta colonias muy grandes y aterciopeladas, mientras que las demás son colonias pequeñas. En la tabla 8 la observación microscópica de las levaduras se puede diferenciar las *Candidas* por su formación de hifas o pseudohifas, micelios y la forma que tiene cada *Candida*. Aunque la prueba del tubo germinal o filamentación precoz es más exacta para poder identificar *C. albicans*, ya que esta prueba es exclusiva de *C. albicans* al ser la única que produce verdaderos tubos germinales, *C. tropicalis* en esta prueba puede producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales.

Si bien desde 1997 se habían detectado cepas de *S. aureus* que mostraban cierta tolerancia (clasificada como resistencia intermedia) a la vancomicina, fundamentada en el atípico engrosamiento de su pared celular, la resistencia estafilocócica más efectiva (o resistencia total) a la vancomicina surgió mediante la conjugación de un plásmido, en el contexto de algunas infecciones mixtas ocasionadas conjuntamente por *Enterococcus faecalis* (Chakraborty et al., 2011). En la presente investigación

se llevó a cabo un estudio de actividad antimicrobiana probando extractos metanólico y diclorometano de piquería y grindelia, donde no se obtuvo inhibición en ninguna de las concentraciones probadas. Sin embargo, con los antibióticos probados si hubo inhibición, amikacina y gentamicina fueron los antibióticos utilizados, se hicieron varias repeticiones ya que hubo casos donde los antibióticos no presentaron inhibición, haciendo una retrospectiva se concluyó que se debió a que el caldo donde proliferó *S. aureus* había sido activado días atrás, por lo que para montar los siguientes experimentos se preparaba el caldo con la cepa un día antes, obteniendo así la inhibición.

Otras alternativas incluyen el desarrollo de nuevos antimicrobianos, el estudio de la posibilidad de incrementar la concentración de los antibióticos conocidos y el establecimiento de terapias múltiples consistentes en administrar simultáneamente dos, tres o más fármacos a los enfermos. Estas últimas opciones representan la posibilidad de mayores efectos colaterales, aunque también una alta probabilidad de rebasar la capacidad de los microorganismos para neutralizar la acción de los antimicrobianos (Rayner & Munckhof, 2005).

CONCLUSION

Es importante el estudio continuo de los microorganismos, ya que estos evolucionan con su entorno para poder sobrevivir, lo que los hace resistentes a los antibióticos actuales.

REFERENCIAS

1. Jenssen, H., Hamill, P., & Hancock, R. E. (2006). Peptide antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 19(3), 491-511.
2. Chakraborty, S. P., KarMahapatra, S., Bal, M., & Roy, S. (2011). Isolation and identification of vancomycin resistant Staphylococcus aureus from post operative pus sample. *Al Ameen J Med Sci*, 4(2), 152-68.
3. Gamal, A., Chu, S., McCormick, T. S., Borroto-Esoda, K., Angulo, D., & Ghannoum, M. A. (2021). Ibrexafungerp, a novel oral triterpenoid antifungal in development: overview of antifungal activity against *Candida glabrata*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 642358.
4. Romero, E., Melendres, K. P., & Polo, L. Á. T. PRUEBAS BIOQUÍMICAS.
5. BIÓLOGO, Q. F. (2013). *DIRECTOR DE TESIS: Mtra. Yolanda Flores Cabrera ASESOR DE TESIS: Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara MÉXICO, DF 25 2013* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Autónoma de México).
6. Mollinedo Patzi, M. A., & Gonzáles Villalobos, C. (2014). Bacterias gram negativas. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 49, 2609.
7. Rayner, C., & Munckhof, W. J. (2005). Antibiotics currently used in the treatment of infections caused by *Staphylococcus aureus*. *Internal medicine journal*, 35, S3-16.