



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

*Estandarización de la práctica de Microbiología general:
"Evaluación de antibióticos mediante la técnica de
microdilución"*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

P R E S E N T A:
ALFREDO DE JESUS MARTINEZ DE LA ROSA

ASESORA: QFB. LETICIA CUBILLO CARRILLO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis y examen profesional**

Estandarización de la práctica de Microbiología General: Evaluación de antibióticos mediante la técnica de microdilución

Que presenta el pasante: **Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa**
Con número de cuenta: **309293352** para obtener el título de: **Licenciado en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 10 de diciembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. Guadalupe Hernández Torres	
VOCAL	M. en C. Erik González Ballesteros	
SECRETARIO	Q.F.B. Leticia Cubillo Carrillo	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Alma Susana García Barrón	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. David Ladislao Sánchez	

NOTA: los sindonales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

LMCF/lmcf*



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis y examen profesional**

Estandarización de la práctica de Microbiología General: Evaluación de antibióticos mediante la técnica de microdilución

Que presenta el pasante: **Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa**
Con número de cuenta: **309293352** para obtener el título de: **Licenciado en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 10 de diciembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Q.F.B. Guadalupe Hernández Torres</u>	_____
VOCAL	<u>M. en C. Erik González Ballesteros</u>	<u>Erik Gonzalez Ballesteros</u>
SECRETARIO	<u>Q.F.B. Leticia Cubillo Carrillo</u>	_____
1er. SUPLENTE	<u>Q.F.B. Alma Susana García Barrón</u>	_____
2do. SUPLENTE	<u>Q.F.B. David Ladislao Sánchez</u>	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

LMCF/lmcf*



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTÁZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis y examen profesional**


Estandarización de la práctica de Microbiología General: Evaluación de antibióticos mediante la técnica de microdilución

Que presenta el pasante: **Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa**
Con número de cuenta: **309293352** para obtener el título de: **Licenciado en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 10 de diciembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. Guadalupe Hernández Torres	_____
VOCAL	M. en C. Erik González Ballesteros	_____
SECRETARIO	Q.F.B. Leticia Cubillo Carrillo	_____
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Alma Susana García Barrón	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. David Ladislao Sánchez	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

LMCF/lmcf*



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTÁZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis y examen profesional**


Estandarización de la práctica de Microbiología General: Evaluación de antibióticos mediante la técnica de microdilución

Que presenta el pasante: **Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa**
Con número de cuenta: **309293352** para obtener el título de: **Licenciado en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 10 de diciembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. Guadalupe Hernández Torres	_____
VOCAL	M. en C. Erik González Ballesteros	_____
SECRETARIO	Q.F.B. Leticia Cubillo Carrillo	_____
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Alma Susana García Barrón	_____
2do. SUPLENTE	Q.F.B. David Ladislao Sánchez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

LMCF/lmcf*

DEDICATORIAS:

A LOS COMPAÑEROS QUE PERDIMOS EN LA PANDEMIA, QUE JUNTOS ME DEMOSTRARON QUE NO IMPORTABA, NI IMPORTO, PERDER LA VIDA EN LA “TRINCHERA”, POR AYUDAR AL QUE LO NECESITABA.

A LOS QUE ME TUVIERON PACIENCIA Y A TODOS USTEDES POR SUPUESTO...

SIEMPRE FIRMES Y DIGNOS.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTIBIÓTICOS	
• 2.1. Antibióticos	3
• 2.2. Clasificación de antibióticos	4
• 2.3. Mecanismos de acción	6
• 2.4. Resistencias a antibióticos	18
3. ANTIBIOGRAMA	
• 3.1. Definición y utilidad	19
• 3.2. Metodología	20
• 3.3. Perfiles: sensibilidad y resistencia	24
4. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA	
• 4.1. Definición y utilidad	27
• 4.2. Descripción de la técnica	27
5. CEPAS UTILIZADAS	
• 5.1. <i>Escherichia coli</i>	29
• 5.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	31
6. OBJETIVOS	
• 6.1. Objetivo general	33
• 6.2. Objetivos específicos	33
7. JUSTIFICACION	34
8. HIPOTESIS	35
9. METODOLOGIA	36
10. RESULTADOS	39
11. DISCUSION	48
12. CONCLUSIONES	49
13. ANEXOS	50
14. REFERENCIAS	56

INDICE DE FIGURAS

• Figura 1. Sitios de acción de las diferentes familias de antibióticos	6
• Figura 2. Estructuras de la PENICILINA y sus derivados.....	7
• Figura 3. Estructura de CEFEPIME y CEFPIROME respectivamente	7
• Figura 4. Estructura básica de las POLIMIXINAS	8
• Figura 5. Estructura química de la RIFAMPICINA	10
• Figura 6. Estructura química del METRONIDAZOL	10
• Figura 7. Estructura química de la TETRACICLINA.....	11
• Figura 8. Estructura química del CLORANFENICOL	11
• Figura 9. Estructura de la ERITROMICINA.....	12
• Figura 10. Estructura química de la AMIKACINA.....	13
• Figura 11. Estructura química del SULFAMETOXAZOL (I), estructura química del TRIMETOPRIM (II)	14
• Figura 12. Estructura química del ACIDO CLAVULANICO	16
• Figura 13. Estructura química del SULBACTAM.....	16
• Figura 14. Selección de colonias completamente aisladas entre si	20
• Figura 15. Estandarización de la suspensión bacteriana al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland	21
• Figura 16. Esquema que ilustra la técnica de sembrado masivo en una placa de agar	22
• Figura 17. Posiciones de los discos impregnados con antibiótico en una placa de agar	23
• Figura 18. Esquema que muestra la forma de realizar las diluciones en la técnica de Concentración mínima inhibitoria	28
• Figura 19. Punto de corte en donde se deja de presentar inhibición bacteriana	28
• Figura 20. <i>E. coli</i> . Crecimiento en agar EMB (Eosina azul de metileno)	30
• Figura 21. Tinción de gram para la <i>S. aureus</i>	32
• Figura 22. Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> en agar Sales y Manitol	32
• Figura 23. Esquema que muestra la metodología para realizar la técnica de CMI en microplaca	38
• Figura 24. Antibiograma por técnica de disco para la cepa de <i>S. aureus</i> ATCC 6538	45
• Figura 25. Antibiograma por técnica de disco para la cepa de <i>E. coli</i> ATCC.....	45
• Figura 26. Punto de corte MIC en micro placa para las cepas <i>E. coli</i> y <i>S aureus</i> ATCC y clínicas.....	46
• Figura 27. Gráfica control de estadístico de MIC	47
• Figura 28. <i>E. coli</i> ATCC 25922 en agar EMB.....	52
• Figura 29. <i>E. coli</i> ATCC 25922 en agar Macconkey	52
• Figura 30. <i>E. coli</i> de aislamiento clínico en agar EMB	53
• Figura 31. <i>E. coli</i> de aislamiento clínico en agar Macconkey	53
• Figura 32. Prueba de coagulasa positiva para <i>S. aureus</i> 6538.....	54
• Figura 33. <i>S. aureus</i> ATCC 6538 en agar sales y manitol	54
• Figura 34. Coagulasa positiva, para <i>S. auerus</i> de aislamiento clínico	55
• Figura 35. <i>S. aureus</i> de aislamiento clínico en agar Sales y Manitol	55

INDICE DE TABLAS

○ Tabla 1 Antibióticos y su mecanismo de acción.....	17
○ Tabla 2: Diámetros críticos para <i>Staphylococcus spp.</i>	24
○ Tabla 3: Diámetros críticos para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
○ Tabla 4: Diámetros críticos para la familia <i>Enterobacteriaceae</i>	26
○ Tabla. 5: Tabla de simbologías descritas en la literatura	35
○ Tabla. 6: Tabla de pruebas de identificación para enterobacterias.....	36
○ Tabla 7: Tabla de identificación para <i>E. coli</i> ATCC y <i>E. coli</i> de aislamiento clínico	37
○ Tabla 8: Tabla de identificación para <i>S. aureus</i>	38
○ Tabla 9: Tabla de identificación para <i>S. aureus</i> ATCC y <i>S. aureus</i> de aislamiento clínico	39
○ Tabla 10: Posiciones por fila de cada cepa utilizada en la micro placa	41
○ Tabla 11: promedio de las MIC obtenidas para cada cepa utilizada en el experimento.....	42
○ Tabla 12: concentración de medicamento por pozo de la microplaca	50

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo de los años las personas de todo el mundo han tratado de encontrar una forma de combatir las diferentes enfermedades que han aquejado al ser humano, este deseo por encontrar una solución a los problemas de salud ha llevado a la humanidad a desarrollar técnicas y tratamientos para lograr que una persona tenga una mejoría, estos han evolucionado a través de la historia con ayuda de la investigación y utilización de sustancias que por medio de observación se demostró que tenían acción en contra de las enfermedades.

Estas sustancias provenientes de las plantas del entorno se llamaron elixires y se hacían con un fin específico ya fuera mejorar infecciones o aminorar el dolor. (Jackson, 2011)

Con la invención del microscopio, se tuvo un avance gigantesco en las ciencias biológicas y por consiguiente en las ciencias de la salud, porque por fin se pudo demostrar que los padecimientos de la época eran causados por microorganismos presentes en el ambiente, y con el paso de los años se pudo comprobar que los elixires tenían una función sobre estas bacterias, aquí nacen los “padres” de los antibióticos.

Años de investigación bastaron para que la humanidad pudiera entender que en aquellas infusiones de hierbas existían principios activos extraíbles que tenían una función bactericida, pero no fue hasta 1928 que se descubrió y se extrajo un compuesto bactericida por Alexander Fleming, que fue usado ampliamente como antibiótico, naciendo así el primer antibiótico de la historia, el que ha sido utilizado más ampliamente a nivel mundial. (López Tricas, 2015)

Con estos descubrimientos se generó un movimiento en las ciencias de la salud, una revolución que hizo posible la creación de nuevos equipos, nuevos antibióticos y técnicas de aislamiento bacteriano, pero con tantos principios activos surgió la necesidad de tener una técnica que permitiera probar la efectividad en contra de las bacterias causantes de infecciones en todos los pacientes, para evitar administrar un tratamiento incorrecto o saber que antibiótico tenía una acción más potente en contra del microorganismo de interés, dichas técnicas evolucionaron hasta lo que hoy se conoce como antibiograma.

El camino que han llevado las ciencias de la salud en el campo de la microbiología y el combate de las infecciones ha sido largo, desde la antigüedad en donde solo existía una limitada clase de medicamentos primitivos que se sabía que funcionaban por mera observación, hasta las técnicas más avanzadas de aislamiento e identificación bacteriana de nuestros días, pasando por todos los nuevos antibióticos que existen para combatir las resistencias generadas a base de un uso inadecuado de las primeras sustancias he aquí la importancia de la microbiología clínica, que radica en realizar un buen trabajo de laboratorio, previniendo la generación de microorganismos multirresistentes por el uso inadecuado de estos antibióticos. (López Tricas, 2015)

2. ANTIBIÓTICOS

2.1. Antibióticos

Un antimicrobiano se define como un compuesto químico ya sea natural o sintético con la capacidad de detener el crecimiento bacteriano en alguna superficie determinada. (Koolman 2004)

Los antimicrobianos pueden ser de 3 tipos:

- Desinfectantes: se refiere a toda sustancia química capaz de eliminar la viabilidad microbiana, aplicándolos solo a superficies inanimadas, un ejemplo muy común: el hipoclorito de sodio.
- Antisépticos: sustancias que reducen y controlan la población bacteriana en piel o mucosas, estos tienen acción también sobre las células del paciente, un ejemplo común: la solución de iodopovidona.
- De uso clínico: son fármacos que tienen la capacidad de controlar y disminuir la presencia de bacterias patógenas que han invadido los tejidos del individuo. (Saenz Peña, en Agrovvet Market Animal Health 2010)

Dentro de estos últimos nos interesan 2 tipos de fármacos: los antimicrobianos y los quimioterápicos.

El concepto de antibiótico se refiere a una sustancia que es sintetizada por un organismo vivo que tiene potencial antimicrobiano, diferente de un quimioterápico que es una sustancia de preparación sintética con el mismo potencial antimicrobiano, ambos se usan como tratamiento en caso de alguna infección bacteriana. (Saenz Peña en Agrovvet Market Animal Health 2010)

2.2. Clasificación de antibióticos

Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico, ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo, tienen elevada potencia biológica actuando a bajas concentraciones, y la toxicidad es selectiva con un mínimo daño para las células de nuestro organismo. (Koolman, 2004)

Existen distintos tipos de clasificaciones para agrupar a estas moléculas:

1. De acuerdo a la interacción microorganismo-antibiótico estos fármacos pueden dividirse en:

- Bactericidas: su acción es letal, llevando a la lisis bacteriana; (Bado, 2010)
- Bacteriostáticos: a las concentraciones que alcanzan en el suero o tejidos impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana, pero sin llegar a destruirlas.(Bado, 2010)

Según el espectro de acción se pueden agrupar en:

- Antibióticos de espectro amplio: Aquellos antibióticos que son activos sobre un amplio número de géneros y especies bacterianas diferentes (aminoglucósidos y carbapenemes). (Bado, 2010)
- Antibióticos de espectro reducido: Aquellos que solo son activos sobre un grupo reducido de especies bacterianas, (penicilina).(Bado, 2010)

Según el mecanismo de acción:

Es el mecanismo por el cual un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana.

Se dividen en:

- Inhibidores de la formación de la pared bacteriana
- Inhibidores de la síntesis proteica
- Inhibidores de la duplicación del DNA
- Inhibidores de la membrana citoplasmática
- Inhibidores de vías metabólicas. (Fac.Med.UNAM, 2015)

Otra clasificación muy utilizada agrupa a los antibióticos sobre la base de su estructura química y los denomina como familias:

- Aminoglucósidos
- Cefalosporinas
- Cloranfenicol
- Macrólidos y lincomicinas
- Quinolonas y fluoroquinolonas
- Penicilinas o betalactámicos
- Sulfonamidas
- Tetraciclinas (Fac. Med. UNAM, 2015)

2.3. Mecanismos de acción

- Los agentes antimicrobianos pueden interferir diferentes funciones que lleva a cabo la bacteria, se dividen en inhibidores de la formación de la pared bacteriana, de la síntesis proteica, de la duplicación del DNA, de la membrana citoplasmática y de vías metabólicas. (Fac.Med.UNAM, 2015)

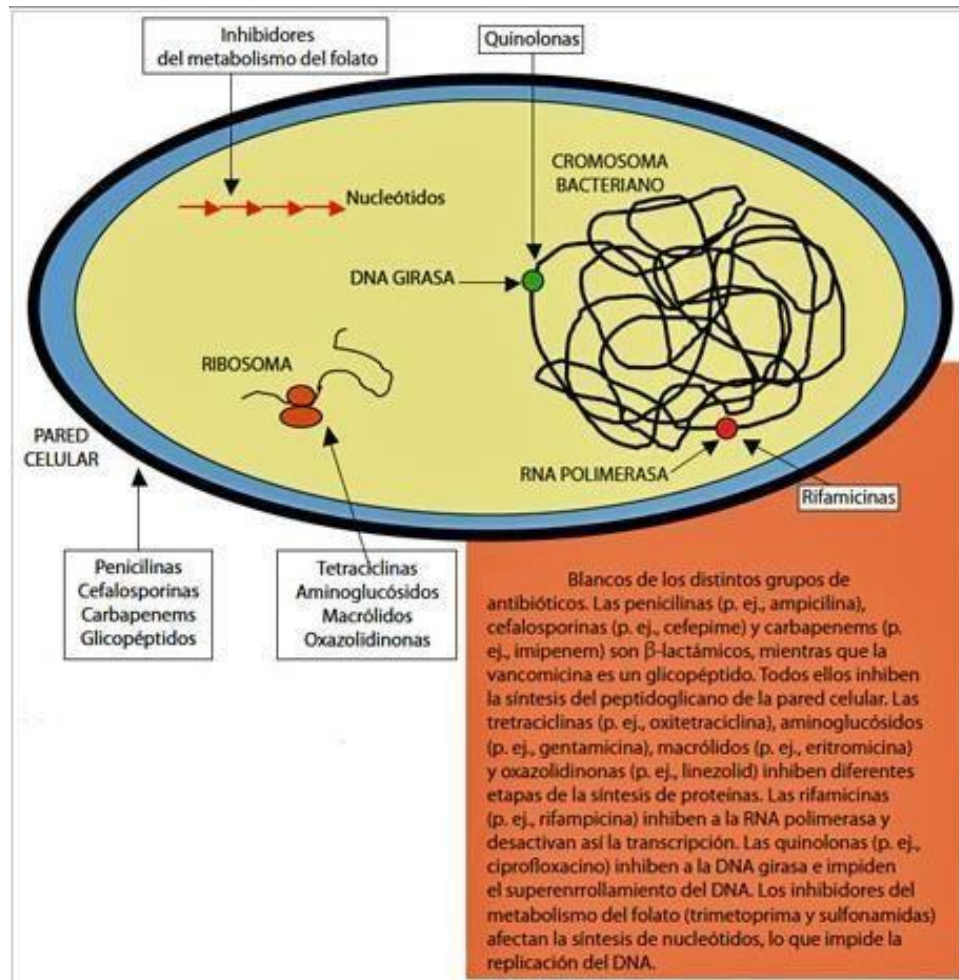


Figura 1. Sitios de acción de las diferentes familias de antibióticos (Tomado de: Fac. Med. UNAM 2015)

Antibióticos de actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular

Este grupo de antibióticos ataca la síntesis del peptidoglucano en alguna de sus tres etapas de formación, esencial para la supervivencia de las bacterias, produciendo daño por la pérdida de la rigidez de la célula bacteriana que puede causarle la muerte; por lo tanto son considerados como agentes bactericidas, los representantes de este grupo son las penicilinas y las cefalosporinas. (Bado, 2010)

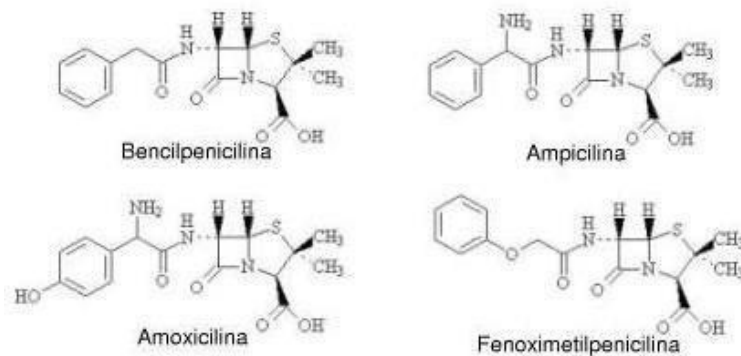


Figura 2 Estructuras de la PENICILINA y sus derivados (Tomado de: Fac. Med. UNAM 2015)

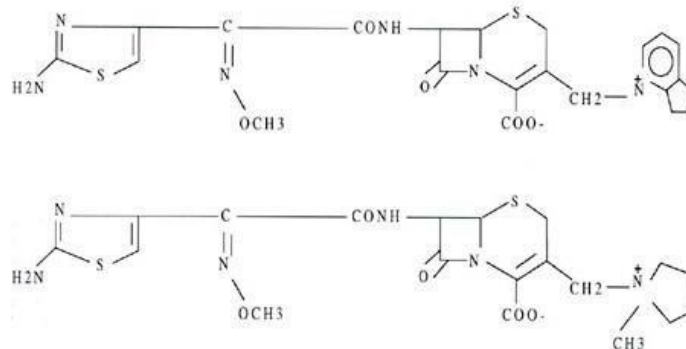


Figura 3. Estructura de CEFEPIME y CEFPIROME respectivamente (Tomado de: Fac. Med. UNAM 2015)

Antibióticos que dañan la membrana citoplásmica

Se trata de agentes catiónicos y aniónicos pueden causar la desorganización de la membrana causando problemas permeabilidad teniendo como consecuencia la salida de cationes y posterior lisis de la célula bacteriana.

- Dentro de los antibióticos que actúan a este nivel, está la POLIMIXINA B y la COLISTINA (POLIMIXINA E), inhibidores de bacterias gram negativas (Fac.Med.UNAM, 2015)

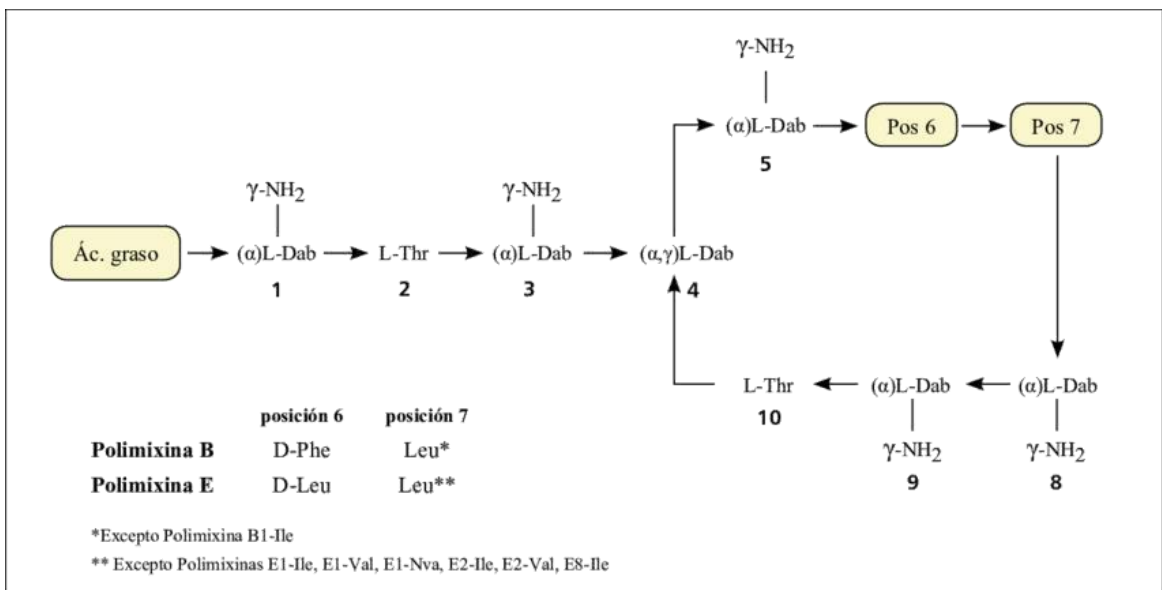


Figura 4. Estructura básica de las POLIMIXINAS. L: levógiro; D: dextrógiro; Dab: ácido diaminobutírico; Thr: treonina; Phe: fenilalanina; Leu: leucina; Ile: isoleucina; Val: valina; Nva: norvalina. (Tomado de: Fac. Med. UNAM 2015)

Antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos:

Muchos agentes antimicrobianos pueden interferir a diferentes niveles en la síntesis de los ácidos nucleicos. Pueden inhibir la síntesis de nucleótidos o pueden interferir con polimerasas involucradas en la replicación y transcripción del ADN.

Estos antibióticos pueden funcionar de diferentes formas, inhibiendo la actividad de la RNA polimerasa bacteriana, uniéndose a esta misma y bloqueando la unión a un cofactor que confiere especificidad para el reconocimiento de los sitios promotores específicos para iniciar la transcripción del RNA, interfiriendo con la iniciación del proceso. (Ingraham, 2010)

De otra forma, los medicamentos que se clasifican dentro de este apartado funcionan por inhibición del DNA, esta puede provocarse por la inhibición de la actividad de la DNA girasa, involucrada en el rompimiento y reunión de tiras de material genético. (Bailey&Scott, 2007)

Los medicamentos que poseen este mecanismo de acción son:

- Por inhibición de la replicación y de la transcripción
 - RIFAMPICINA
 - METRONIDAZOL
- Por inhibición de la traducción
 - TETRACICLINAS
 - CLORANFENICOL
 - MACROLIDOS

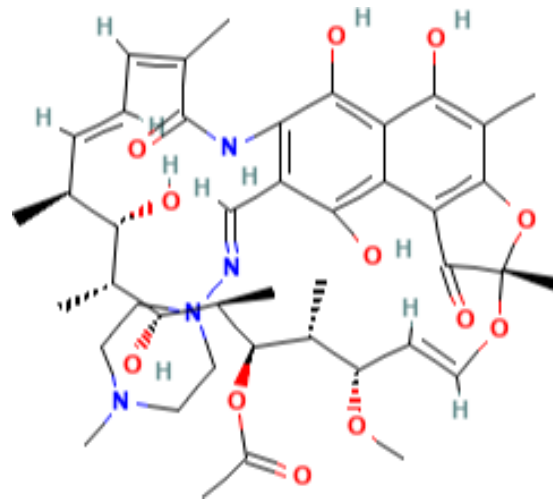


Figura 5. Estructura química de la RIFAMPICINA, (Tomado de www.pubchem.com, 2022)

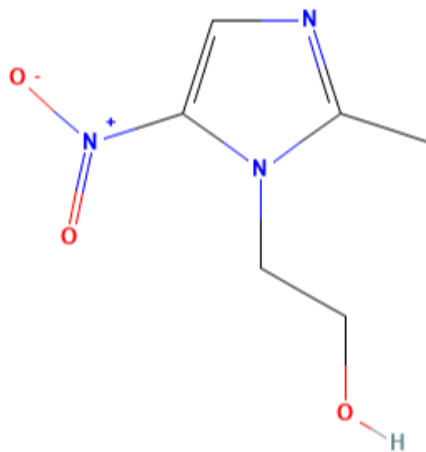


Figura 6. Estructura química del METRONIDAZOL (Tomado de www.pubchem.com, 2022)

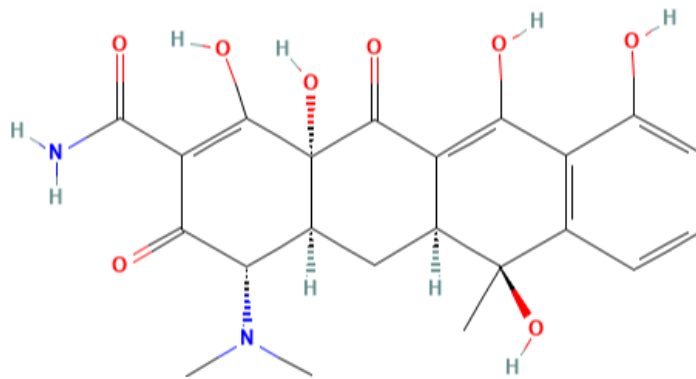


Figura 7. Estructura química de la TETRACICLINA (Tomado de www.pubchem.com, 2022)

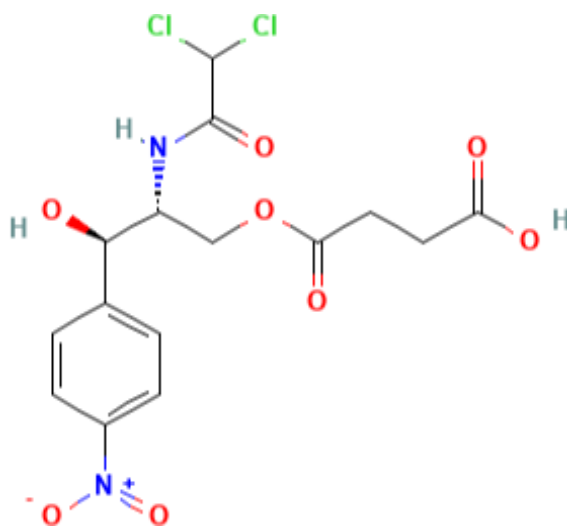


Figura 8. Estructura química del CLORANFENICOL (Tomado de www.pubchem.com, 2022)

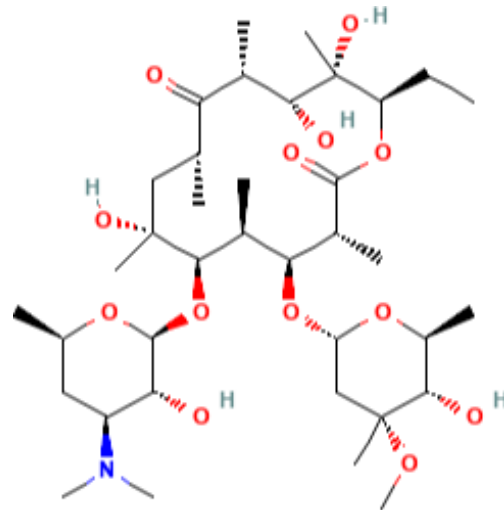


Figura 9. Estructura química de la ERITROMICINA (Tomado de www.pubchem.com, 2022)

Antibióticos que inhiben la biosíntesis de proteínas

Los ribosomas 70S bacterianos están constituidos por dos subunidades designadas como 30S y 50S. Estas constituyen el sitio de acción de estos antibióticos, localizándose en ellas proteínas específicas a las cuales se unen e interfieren con la función ribosomal bacteriana, específicamente con la subunidad 30S o 50s inhibiendo la unión del aminoacil RNAt al ribosoma, así como la síntesis proteica, gracias a la liberación de cadenas proteicas incompletas e inservibles, algunos ejemplos son:

- TETRACICLINA
- CLORANFENICOL
- Aminoglucósidos

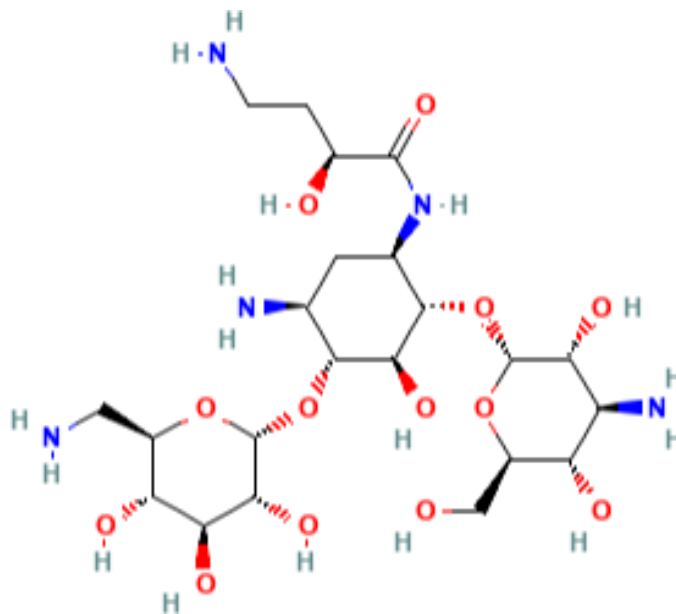


Figura 10. Estructura química de la AMIKACINA, (Tomado de www.pubchem.com, 2022)

Antibióticos del grupo antimetabolitos:

Antibióticos que interfieren en el metabolismo de los folatos, por bloqueo competitivo en la biosíntesis de los tetrahidrofolatos, precursores del ácido fólico. Un ejemplo conocido es el trimetoprim que tiene una gran afinidad con la enzima dehidrofolato reductasa, al unirse a ella inhibe la síntesis de tetrahidrofolatos necesarios para la síntesis de DNA, RNA y proteínas de la pared celular bacteriana. (Moreno, 2014)

Algunos otros ejemplos:

- Sulfonamidas
- TRIMETOPRIM

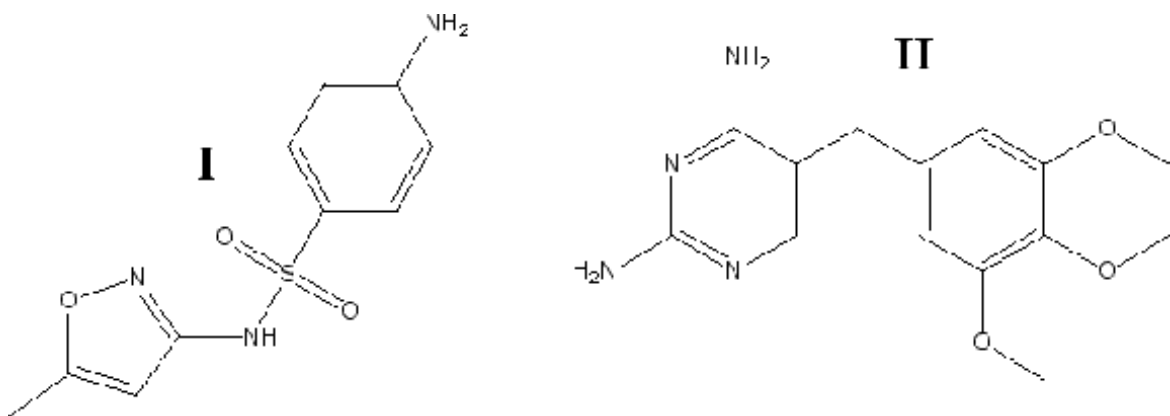


Figura 11. Estructura química del SULFAMETOXAZOL (I), estructura química del TRIMETOPRIM (II)
(Tomado de: Fac. Med. UNAM 2015)

Antibióticos inhibidores de betalactamasas:

Las betalactamasas son enzimas producidas por algunas especies bacterianas y son las responsables de la resistencia que presentan dichos microorganismos hacia antibióticos que en su estructura química presentan el anillo betalactámico (como penicilinas y cefalosporinas), ya que las enzimas rompen dicha estructura con lo cual bloquean la actividad antimicrobiana de esos compuestos. (Moreno, 2014)

Algunos ejemplos son:

- ÁCIDO CLAVULÁNICO
- SULBACTAM
- TAZOBACTAM

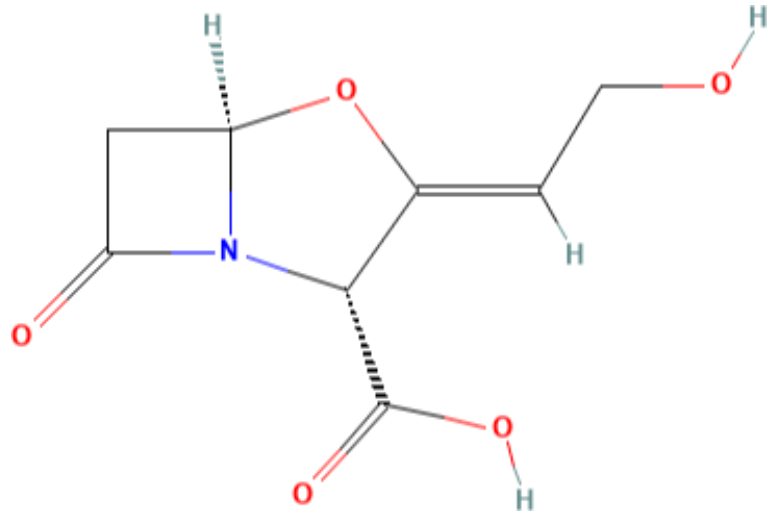


Figura 12. Estructura química del ÁCIDO CLAVULÁNICO, (Tomado de www.pubchem.com, 2022)

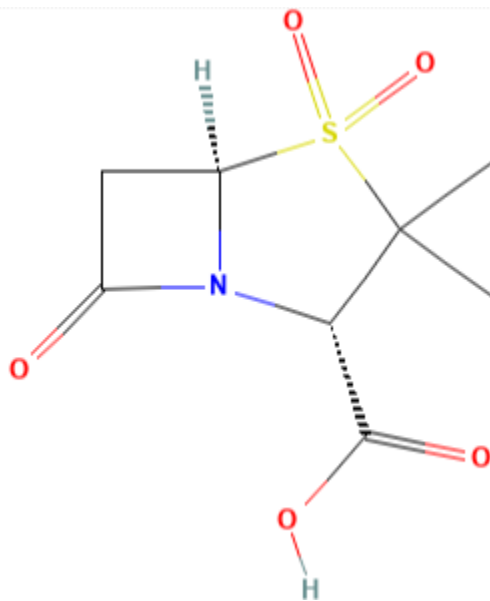


Figura 13. Estructura química del SULBACTAM (Tomado de www.pubchem.com, 2022)

Tabla 1. Antibióticos y su mecanismo de acción

Mecanismo de acción	Ejemplos
Inhibición de la síntesis de la pared celular	PENICILINAS, CEFALOSPORINAS, VANCOMICINA, BACITRACINA, OXACILINA, NAFCILINA
Daño a la membrana plasmática	POLIMIXINA, NISTATINA, ANFOTERICINA B
Inhibición de la síntesis de proteínas	AMINOGLUCÓSIDOS, CLORANFENICOL, ERITROMICINA, TETRACICLINA
Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos	RIFAMICINA, ACTINOMICINA D, ÁCIDO NALIDÍXICO, CIPROFLOXACINA, NORFLOXACINA
Antimetabolitos	TRIMETOPRIM, SULFONAMIDAS
Inhibidores de betalactamasas	SULBACTAM, CLAVULANATO, TAZOBACTAM

(Tomado de: Fac Med UNAM, 2015)

2.4. Resistencias a antibióticos

La resistencia bacteriana a los antibióticos es una respuesta predecible e inevitable al uso de estas sustancias, la velocidad con la que surge y se extiende en la población bacteriana está con frecuencia determinada por la cantidad de medicamentos concretos usados en un ambiente dado.

Las infecciones por patógenos resistentes tienen más alta tasa de morbilidad y mortalidad y suponen un mayor coste que las causadas por microorganismos sensibles.

Muchas bacterias generan esta respuesta más fácilmente en entornos donde el uso de antimicrobianos es más común y regular, la presencia continua de estas sustancias genera la selección de microorganismos resistentes, lo que reduce la eficacia del tratamiento en infecciones de importancia médica.

Las cepas bacterianas que han presentado resistencia suelen ser resultado de la acción de genes localizados en el material genético bacteriano, que puede transferirse por conjugación a nuevas generaciones de bacterias, se sabe que estos genes pueden conferir resistencias a varios antibióticos simultáneamente. (Pierce 2009)

Los mecanismos de resistencia bacteriana son fundamentalmente de tres tipos:

1. Inactivación por destrucción o modificación:
 - a. Generación de betalactamasas y enzimas inactivantes de aminoglucósidos.
2. Inaccesibilidad al lugar de acción, ya sea por disminución de la permeabilidad o por expulsión activa:
 - a. Resistencia a la tetraciclina por expulsión del antibiótico de la bacteria,
 - b. Resistencia a antibióticos beta-lactámicos por disminución de la permeabilidad.
3. Alteración en el lugar de acción:
 - a. Modificación del ribosoma por metilación, así como generación de nuevas enzimas con poca afinidad por los antibióticos. (Medina 2002)

3. ANTIBIOGRAMA

3.1. Definición y utilidad

Los antibiogramas son métodos *in vitro* que determinan las susceptibilidades de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específicas y estandarizadas, estas se relacionan entre sí, ya que todas, como bien se dijo antes, miden la sensibilidad de un patógeno ante un agente antibacteriano, en este caso un antibiótico.

Método de difusión por disco

El principio de las pruebas de difusión ha sido utilizado por más de 70 años en los laboratorios de Microbiología. Alexander Fleming utilizó una variante de esta técnica cuando trabajaba con la penicilina en los años cincuenta. (Picazo, 2015)

La meta principal del estudio de susceptibilidad es proveer al clínico algunas recomendaciones sobre la terapia que puede ser más apropiada en pacientes con una infección específica. (Picazo, 2015)

3.2. Método de difusión por disco, metodología

1. Selección de las colonias previamente aisladas

- Una vez identificada la cepa problema, se han de seleccionar las colonias aisladas entre sí, en caso de no contar con ellas se deberá realizar un subcultivo para supositor selección. (Picazo, 2015)
- Ubicar de 3 a 5 colonias, esto permitirá tener mayor probabilidad de detectar resistencias a antibióticos. (Picazo, 2015)



Figura 14. Selección de colonias completamente aisladas entre sí, encerrado en un círculo se aprecia las colonias ideales para la dilución. (Picazo, 2015)

2. Preparación y estandarización de la suspensión del inóculo

- Una vez seleccionadas las colonias (cultivo de un tiempo no mayor a 24 horas) se debe tomar con una asa bacteriológica de dos a tres colonias y llevarlas a un tubo que contenga solución salina fisiológica (NaCl 0.9%) o caldo de cultivo (si es el caso) para obtener el estandarizado, para que la bacteria no sea lisada por diferencias en la concentración salina. (Picazo, 2015)
- Igualarlas al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland (Picazo 2015)
- Comparar la turbidez de las suspensiones poniendo los tubos frente a un papel blanco o una tarjeta con líneas negras. (Picazo, 2015)

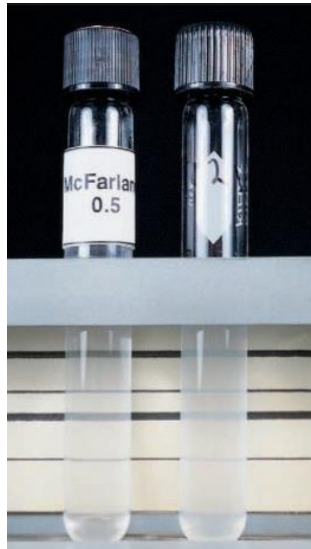


Figura 15. Estandarización de la suspensión bacteriana al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland que equivale a 1.5×10^8 células por ml (a la izquierda el tubo estandarizado comercial, a la derecha el tubo con la suspensión bacteriana que es igualada por turbidimetría, en el fondo), (Tomado de Manual de microbiología, PAHO, 2010)

3. Inoculación de la placa

- Una vez que se tiene la suspensión bacteriana se toma un hisopo estéril, el cual se inserta en la suspensión y con el cual posteriormente se procede a realizar la siembra de la caja con medio Mueller Hinton de forma masiva. (Picazo, 2015)

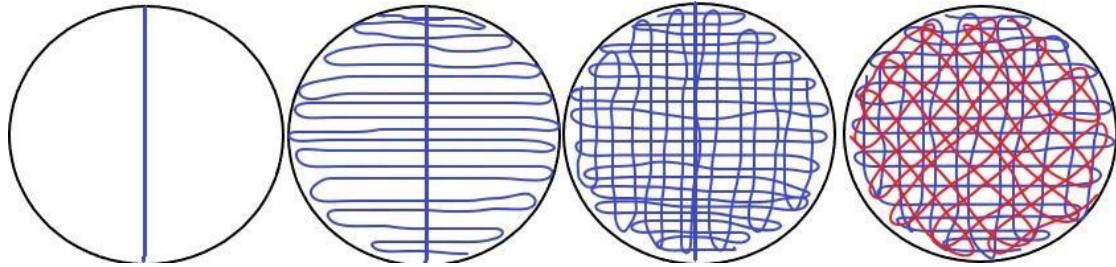


Figura 16. Esquema que ilustra la técnica de sembrado masivo en una placa de agar Mueller Hinton, de izquierda a derecha se ilustra la primer estría en el agar, seguido por los estriados consecutivos. (Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, 2020)

- Una vez inoculada la placa y dejado reposar 10 minutos para garantizar la absorción del líquido inoculado se procede a la aplicación de los discos impregnados. (Picazo, 2015)

4. Colocación de los discos impregnados con antibiótico

- Coloque los discos con los agentes antimicrobianos dentro de los 15 minutos siguientes a la inoculación de la placa. Estos pueden ser colocados uno a uno o con un dispensador de discos. Típicamente se pueden aplicar hasta 12 discos en una placa de 250 mm de diámetro o hasta 5 en una placa de 100 mm. (Picazo, 2015)



Figura 17. Posiciones de los discos impregnados con antibiótico en una placa de agar MH de 100mm incubada 24 hrs/37 °C, colocados manualmente, de forma que la distancia entre cada disco sea suficiente para observar un halo de inhibición separado. (Ortega A, 2012)

5. Incubación de la placa

- Incubar 24 horas a 37 °C. (Picazo, 2015)

6. Medir halos de inhibición

- Después de la incubación se debe observar un crecimiento uniforme, así como la formación de los halos de inhibición, midiendo el diámetro y comparando este con las medidas reportadas por la literatura, de esta manera se puede interpretar como sensible, intermedio o resistente. (Picazo, 2015)

3.3. Perfiles: sensibilidad y resistencia

Como bien se ha manejado, el antibiograma tiene el fin de brindar el tratamiento adecuado para una enfermedad infecciosa, al obtener un perfil de sensibilidad o resistencia.

La información que arroja el resultado del antibiograma sirve para determinar la sensibilidad del patógeno aislado contra un antibiótico específico, estos datos se comparan con los datos arrojados en la literatura, de esta forma se puede recomendar al médico el uso de algún tratamiento para atacar la infección.

A continuación se presentan las tablas que reportan los diámetros de inhibición para diferentes especies bacterianas, (en este caso las más representativas al ser recurrentes o encontradas en hospitales) con sus respectivos antibióticos:

Tabla 2. Diámetros críticos para *Staphylococcus spp*

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Penicilina	10 unidades	≥ 28	-	≥ 29
Oxacilina (<i>S. Aureus</i>)	1 µg	≥ 10	11-12	≥ 13
(<i>Estafilococos coagulasa</i> negativos)	1 µg	≥ 17	-	≥ 18
GLICOPEPTIDOS				
Vancomicina	30 µg	-	-	≥ 15
Teicoplanina	30 µg	≥ 10	11-13	≥ 14
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	≥ 12	13-14	≥ 15
FLUOROQUINOLONAS				
Norfloxacin	10 µg	≥ 12	13-16	≥ 17
Ciprofloxacina	5 µg	≥ 15	16-20	≥ 21
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	≥ 14	15-18	≥ 19
MACROLIDOS				
Eritromicina	15 µg	≥ 13	14-22	≥ 23
LINCOSAMIDAS				
Clindamicina	2 µg	≥ 14	15-20	≥ 21
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	≥ 12	13-17	≥ 18
Rifampicina	5 µg	≥ 16	17-19	≥ 20
Nitrofurantoina	300 µg	≥ 14	15-16	≥ 17
Trimetoprim/sulfametoxazol	1.25/23.75 µg	≥ 10	11-15	≥ 16

(Sistema Nacional de Salud, 2010 última revisión)

Tabla 3. Diámetros críticos para *Pseudomonas aeruginosa*.

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
CEFALOSPORINAS				
Ceftazidima	30 µg	£ 14	15-17	³ 18
Cefepime	30 µg	£ 14	15-17	³ 18
β LACTAMICO/ INHIBIDOR DE BETALACTAMASA				
Cefoperazona/sulbactam ¹	75 µg/30 µg	£ 15	16-20	³ 21
CARBAPENEMS				
Imipenem	10 µg	£13	14-15	³ 16
Meropenem	10 µg	£13	14-15	³ 16
MONOBACTAMS				
Aztreonam	30 µg	£ 15	16-21	³ 22
AMINOGLUCOSIDO				
Gentamicina	10 µg	£ 12	13-14	³ 15
Amikacina	30 µg	£ 14	15-16	³ 17
QUINOLONAS				
Ciprofloxacina	5 µg	£ 15	16-20	³ 21
Norfloxacina	10 µg	£ 12	13-16	³ 17
Ofloxacina	5 µg	£12	13-15	³ 16

(Sistema nacional de salud, 2010 última revisión)

Tabla 4. Diámetros críticos para la familia *Enterobacteriaceae*

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Ampicilina	10 µg	£ 13	14-16	³17
CEFALOSPORINAS				
Cefalotina	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefuroxima axetil (oral)	30 µg	£ 14	15-22	³23
Cefuroxima sodium (parenteral)	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefoxitina	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefotaxima	30 µg	£ 14	15-22	³23
Ceftriaxona	30 µg	£ 13	14-20	³21
Ceftazidima	30 µg	£14	15-17	³18
Cefixima	5 µg	£ 15	16-18	³19
Cefpirome *	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefepime	30 µg	£ 14	15-17	³18
β LACTAMICO/ INHIBIDOR DE BETALACTAMASA				
Ampicilina/Sulbactam	10/10 µg	£ 11	12-14	³15
Amoxicilina/Ácido Clavulánico	20/10 µg	£ 13	14-17	³18
Cefoperazona/sulbactam +	75 µg/30 µg	£ 15	16-20	³21
MONOBACTAMS				
Aztreonam	30 µg	£ 15	16-21	³22
CARBAPENEMS				
Imipenem	10 µg	£ 13	14-15	³16
Meropenem	10 µg	£ 13	14-15	³16
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	£ 12	13-14	³15
Amikacina	30 µg	£ 14	15-16	³17
QUINOLONAS				
Acido nalidixico	30 µg	£ 13	14-18	³19
Norfloxacin	10 µg	£ 12	13-16	³17
Ciprofloxacina	5 µg	£ 15	16-20	³21
Ofloxacina	5 µg	£ 12	13-15	³16
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	£ 14	15-18	³19
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	£ 12	13-17	³18
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25/23,75µg	£ 10	11-15	³16

(Sistema nacional de salud 2010 últimarevisión).

4. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

4.1. Definición y utilidad

La concentración mínima inhibitoria (MIC) es la menor cantidad de un antimicrobiano, necesaria para inhibir el crecimiento visible de una cepa bacteriana dada en un sistema de prueba controlado.

Esta concentración va en función de la carga bacteriana con la cual se va a enfrentar el antimicrobiano. (Vidal, 2015)

La MIC tiene utilidad en farmacología, y va directamente relacionada con la posología, ya que al desarrollar un nuevo medicamento antibacteriano se debe conocer la concentración efectiva capaz de combatir la infección, y esta concentración debe estar en la dosis terapéutica, misma que no debe ser toxica para el cuerpo humano. (Vidal, 2015)

4.2. Descripción de la técnica

Para determinar la concentración mínima inhibitoria de un antibiótico frente a una bacteria determinada hay que preparar una serie de tubos con medio de cultivo líquido (caldo Mueller-Hinton), que contengan diluciones seriadas del medicamento a ensayar. (Cavaliere, 2005)

Para ello, se toman 10 tubos con 1mL de caldo MH por cada bacteria y antibiótico a ensayar y se marcara cada uno con el nombre de la bacteria, el antibiótico y el número de tubo. (Cavaliere, 2005)

Se partirá de una solución stock de antibiótico que tendrá una concentración de 1024 μ g/mL, de esta concentración se adicionara 1mL al tubo marcado como 1, realizando diluciones seriadas desde el tubo 1 hasta el tubo 9, respetando el ultimo tubo (10) que será el control sin antibiótico, por último, a cada uno se le adicionara 1mL de suspensión bacteriana estandarizada. (Cavaliere, 2005)

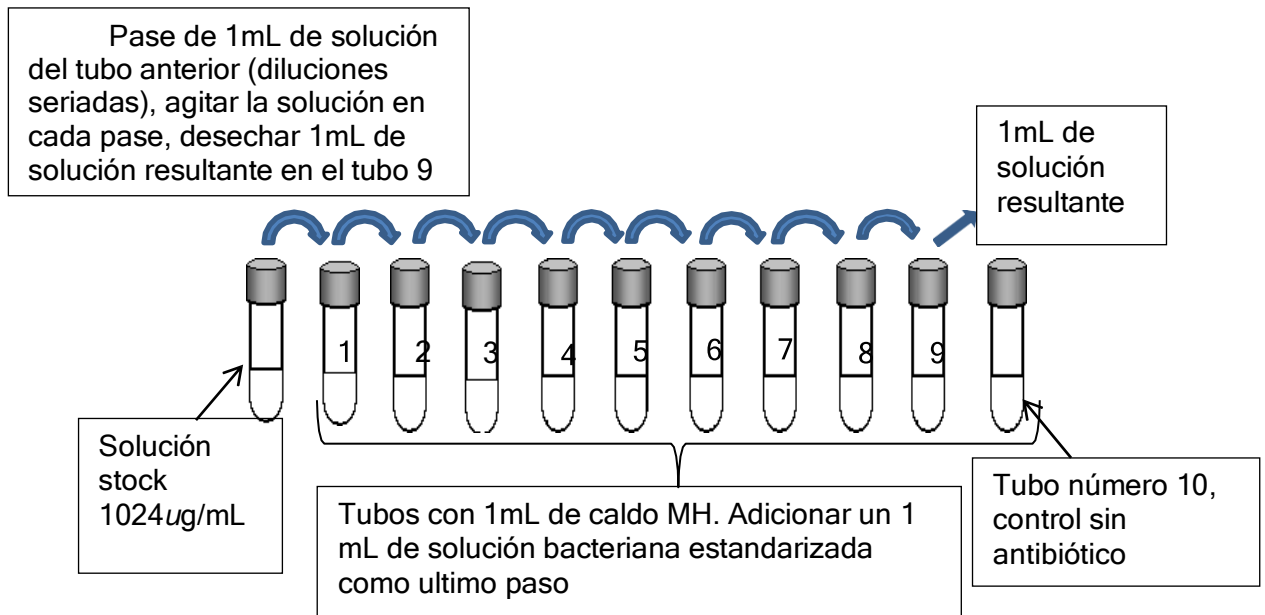


Figura 18. Esquema que muestra la forma de realizar las diluciones en la técnica de Concentración mínima inhibitoria (Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación FESC-UNAM, 2020)

Una vez preparados todos y cada uno de los tubos, se adicionará 1mL de la bacteria a ensayar, y se incubarán a 37°C durante 24 h.

Una vez incubados los sistemas, se procede a la lectura:

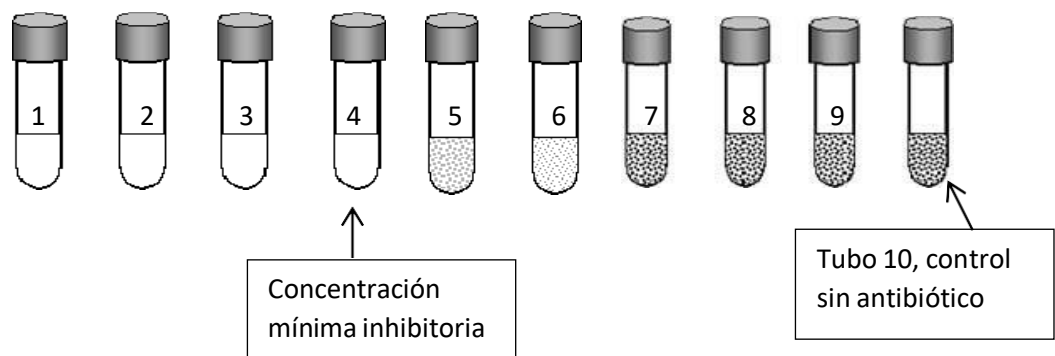


Figura 19. Punto de corte en donde se deja de presentar inhibición bacteriana (Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación FESC- UNAM, 2020)

Obtener la MIC por medio del cálculo, teniendo el último tubo en donde no existe crecimiento bacteriano (ver anexo 1).

5. CEPAS UTILIZADAS

5.1. *Escherichia coli*.

Escherichia coli es una bacteria miembro de la familia de las enterobacterias y forma parte de la microbiota del tracto gastrointestinal de animales de sangre caliente, como por ejemplo el ser humano.

Es un bacilo Gram negativo, no exigente, oxidasa negativa, catalasa positiva, anaerobio facultativo, cuya temperatura de crecimiento preferente es a 37 ° C (mesófilo), fimbriado y comúnmente es móvil por flagelos peritricos. (Allocati, 2013)

En individuos sanos, la bacteria actúa como un comensal formando parte de la microbiota intestinal y ayudando así a la absorción de nutrientes no obstante, estas cepas comensales pueden producir infecciones en el paciente inmunodeprimido.

Las cepas patógenas, en cuanto colonizan un huésped sano, pueden producir infecciones de diversa severidad en el intestino, las vías urinarias, meningitis, causar sepsis, entre otras infecciones. (Nataro, 2016)

Se puede aislar e identificar a partir de una muestra si se siembra en medios selectivos como son, el agar MacConkey, en donde forman colonias rosas (lactosa positiva), opacas, circulares, de 2 a 4 mm de diámetro, convexas, de bordes enteros y suaves, y el agar eosina azul de metileno (EMB) donde forma colonias verde metálico, opacas, brillantes.

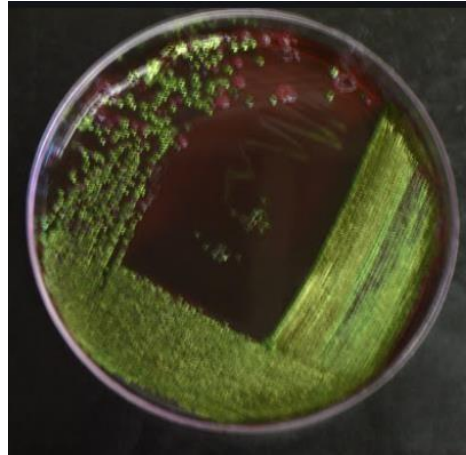


Figura 20. *E. coli*. Crecimiento en agar EMB (Eosina azul de metileno) presenta el brillo verde metálico característico. (Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación FESC-UNAM, 2020)

Las colonias aisladas del primo aislamiento del agar nutritivo deben ser evaluadas por pruebas bioquímicas secundarias. (Cowan, 2003)

5.2 *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, o formando estructuras llamadas “racimos de uvas”.

Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de slime, son anaerobias facultativas. (Cowan, 2003)

El género *Staphylococcus* producen catalasa (enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre); característica que se utiliza para diferenciar este género de los *Streptococcus* que son catalasa negativos.

El género *Staphylococcus* contiene 40 especies, de las cuales 16 de ellas se localizan en los humanos, algunas forman parte de la microbiota de piel y mucosas, algunas de estas son patógenas cuando existe predisposición e inmunosupresión en el hospedero. (Cowan, 2003)

Entre las especies que colonizan al humano, las de mayor importancia clínica son: *S. aureus*, *S. lugdunensis* y *S. epidermidis*.

El *S. epidermidis* y el *S. saprophyticus* son comúnmente responsables de infecciones relacionadas con dispositivos e infecciones del tracto urinario. (Zendejas, 2014)

Su identificación se facilita al ser sembrado en agar sales manitol, ya que por la alta concentración de sales las bacterias Gram negativas quedan inhibidas y al crecer algunas especies en este medio, van a desarrollar una pigmentación amarilla característica (*S. aureus* y *S. saprofiticus*), sensible a novobiocina.

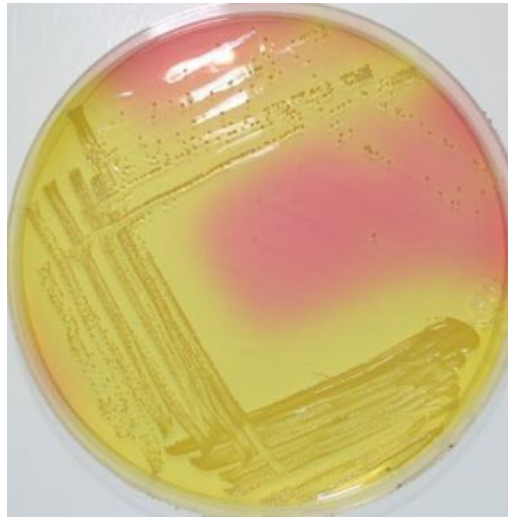


Figura 22. Cepa de *Staphylococcus aureus* en agar Sales y Manitol, con la coloración amarilla característica. (Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 demicrobiología, edificio de posgrados e investigacion FESC- UNAM, 2020)

Presenta coagulasas y DNAsas, la primera se toma como prueba confirmatoria para la especie de *Staphylococcus aureus*, al coagular plasma de donantes O+. (Prats, 2006)

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una adaptación de la técnica de evaluación de antibióticos por medio de la determinación de la concentración mínima inhibitoria de diversos antibióticos para diferentes microorganismos de interés clínico a través de una serie de micro diluciones y con esto ahorrar reactivo, materiales y evitar cantidades considerables de desecho a futuro.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Minimizar la cantidad de material utilizado, por medio de la conversión de los volúmenes establecidos para dicha práctica a micro volúmenes, para generar menos desechos y por lo tanto menos impacto ambiental.
- Estandarizar una nueva técnica que acercara al estudiante a lo visto en el campo laboral.

7. JUSTIFICACION

En la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la UNAM, se imparte la asignatura de Microbiología general, en donde se abordan temas y conceptos básicos para la formación académica de estudiantes en Bioquímica Diagnóstica y Farmacia.

La práctica de Antibióticos, en dicha asignatura, representa un gasto considerable de reactivos y la generación de una importante cantidad de desechos así como la implementación de una técnica que actualmente está alejada de los materiales existentes en el ámbito laboral.

Al realizar una adaptación de procedimientos de dicha práctica se espera que exista un ahorro notable en la cantidad de reactivos gastados, así como una reducción en el impacto ambiental, de igual manera se espera que el alumnado se familiarice con los materiales más comúnmente utilizados en el ambiente laboral, ya que se debe tener en cuenta que las nuevas tecnologías exigen el uso de micro diluciones para identificar un microorganismo y conocer la sensibilidad antimicrobiana del mismo, de esta forma se pretende brindar a los estudiantes el conocimiento básico necesario para poder enfrentarse a las nuevas tecnologías.

8. HIPOTESIS

Al estandarizar la técnica, se espera observar un correcto funcionamiento de la misma, al poder identificar la MIC dentro de los sistemas de ensayo.

Se espera que el número de ensayos realizados experimentalmente con resultado satisfactorio sea el mayor, para poder observar una tendencia reproducible.

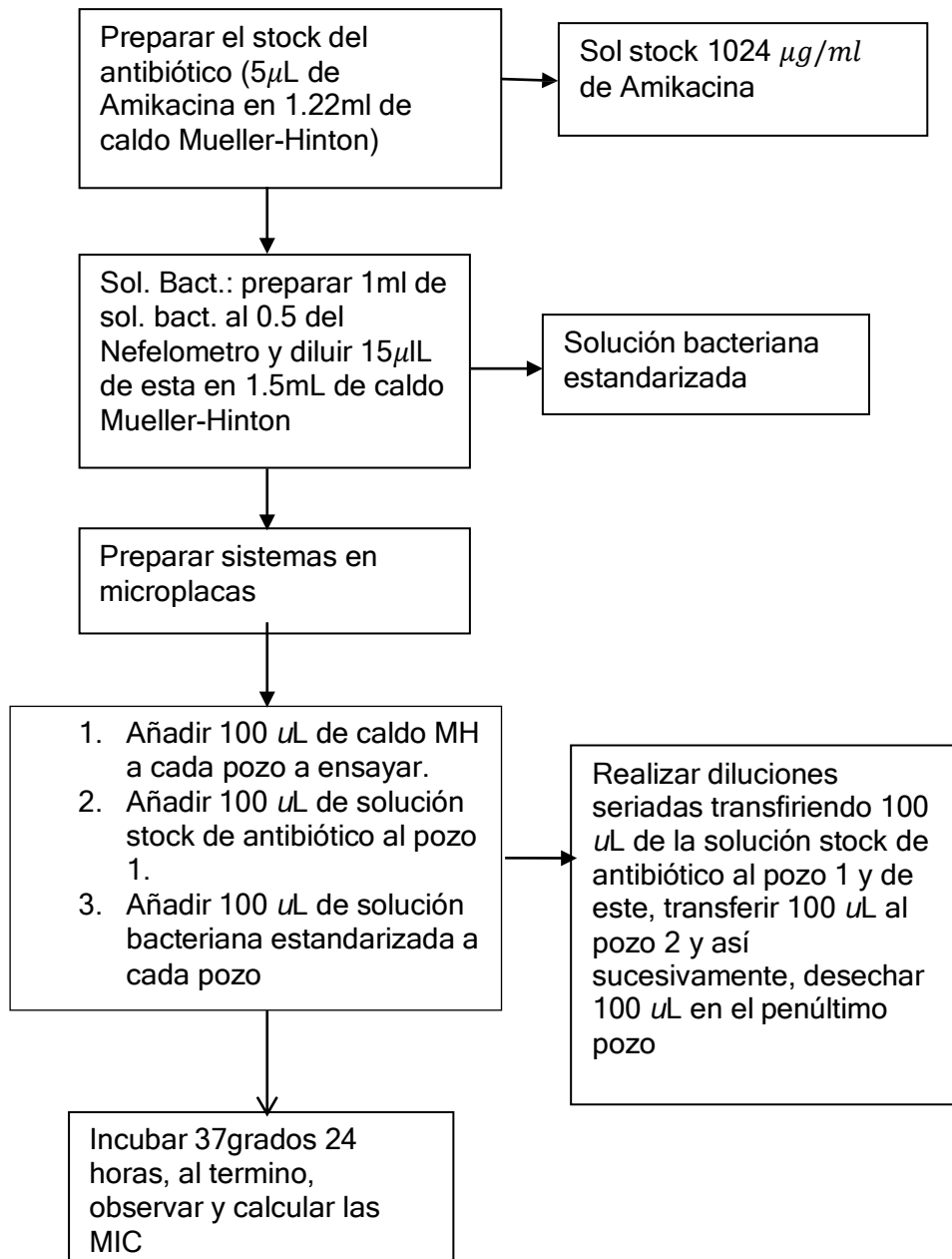
.

9. METODOLOGIA

A continuación, se enlistan los pasos a seguir para montar los sistemas para experimentación, teniendo en cuenta que se utilizaran microplacas cuya capacidad son 200 μL , se debe de hacer una adaptación de las cantidades usadas convencionalmente en mililitros a los microlitros a utilizar en microplaca, de forma que no exista alguna variación en las concentraciones del stock de antibiótico o la solución estandarizada bacteriana:

1. Solución stock de antibiótico para la metodología propuesta:
 - La solución stock de antibiótico debe tener una concentración de antibiótico de 1024 $\mu\text{g}/\text{mL}$, esta concentración se obtiene al mezclar 5 μL de AMIKACINA en 1.22mL de caldo Mueller-Hinton
2. Suspensión bacteriana estandarizada para la metodología propuesta:
 - Preparar en 1mL de SSF la suspensión bacteriana estandarizada al 0.5 del Nefelómetro de Mc Farland.
 - Tomar 15 μL de la suspensión del estandarizado y colocar en 1.5mL de caldo Mueller-Hinton
3. Preparar los sistemas como se especifica en el diagrama de flujo
4. Incubar 24 hrs / 37°c

Diagrama 1. Técnica de concentración mínima inhibitoria por microdilución



Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación FESC-UNAM, 2020

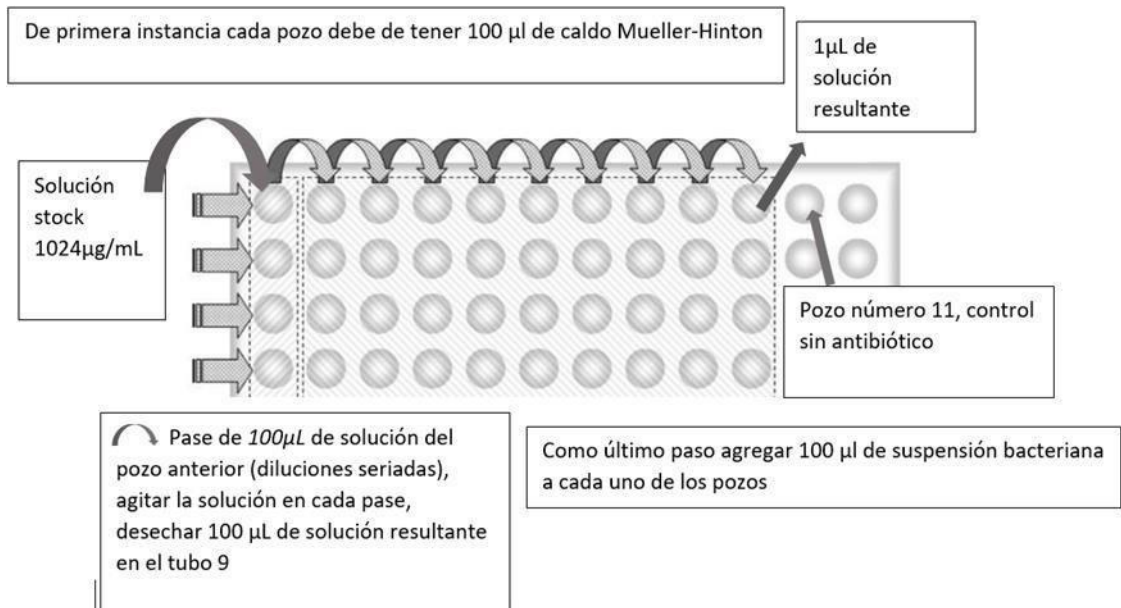


Figura 23. Esquema que muestra la metodología para realizar la técnica de CMI en micro placa, Aunque en el esquema se realizan diluciones hasta el pozo número 9 se pueden seguir hasta N diluciones, en el experimento se realizan 20 diluciones seriadas.

10. RESULTADOS

Escherichia coli

Se trabajó con dos cepas diferentes de *E. coli*, ATCC 25922 y una cepa de aislamiento clínico, proporcionada por laboratorios SAMALAB SA. De CV.

Para cada cepa se realizaron pruebas de identificación, para asegurar que realmente se tratara de este género y especie, para dictaminarlo se usó como punto de comparación las siguientes tablas:

Tabla 5. Tabla de simbología usada en posteriores tablas

Symbol	Meaning and descriptive equivalent
+	85-100% strains are positive (all, most, many, usually)
d	16-84% strains positive (many, several, some)
-	0-15% strains positive (none, one, few, some)
()	Delayed reaction in test or delayed growth
(d)	Different reactions given by different strains; positive reactions often delayed
w	Weak reaction or growth
(w)	Reaction or growth delayed and weak
w/-	Weak reaction or no reaction with different strains; positive reactions are weak or growth is feeble
D	Different reactions given by lower taxa (genera, species, varieties)
?	Not known or insufficient information
.	Not applicable

(Tomado de: Cowan, 2010)

Tabla 6. Tabla de pruebas de identificación para enterobacterias.

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Motility	+	d	+	+	+	d	-	-	-	-	-	+	+	+	d
Yellow pigment	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Red pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MacConkey growth	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+
Simmons' citrate	-	-	d	-	-	d	+	+	d	+	-	+	-	d	-
Christensen's citrate	-	d	+	d	-	+	+	+	+	+	d	+	d	+	d
Urease	-	-	-	-	-	-	+	+	d	+	-	-	+	+	+
Gelatin hydrolysis	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	+	+
Growth in KCN medium	+	-	-	+	-	+	+	+	d	d	d	+	+	+	+
H ₂ S (PbAc paper)	-	-	d	-	-	d	-	-	-	-	-	d	+	+	+
H ₂ S from TSI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	d
Gluconate	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	d	-
Malonate	+	-	-	-	+	d	+	+	-	+	+	+	-	-	-
ONPG	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Phenylalanine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Arginine dihydrolase	-	d	d	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-
Lysine decarboxylase	-	d	+	d	+	+	+	+	d	+	-	d	-	-	-
Ornithine decarboxylase	-	d	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Selenite reduction	+	d	+	+	+	+	+	+	-	d	-	+	d	+	d
Casein hydrolysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+
DNase production	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+
Carbohydrates [in Peptone Water medium], gas from glucose acid from:	+	d	+	+	+	+	+	+	d	+	-	+	+	+	+
adonitol	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
cellobiose	+	-	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	-	-	-
dulcitol	+	d	-	+	-	-	d	d	-	+	-	-	-	-	-
glycerol	-	+	-	-	-	+	+	+	d	+	d	d	d	+	+
inositol	-	-	-	-	-	-	+	+	d	+	+	-	-	-	-
lactose	+	d	d	d	d	-	+	+	d	+	-	+	-	-	-
maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
raffinose	d	d	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-
salicin	+	d	+	d	+	d	+	+	+	+	+	+	-	-	-
sorbitol	-	+	-	-	-	d	+	+	+	+	+	d	-	-	-
sucrose	d	d	-	d	-	-	+	+	d	+	+	+	-	-	+
trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	d
xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
starch	-	-	-	-	-	-	d	d	d	+	d	-	-	-	-
MR test (37 °C) ^a	+	+	+	+	+	d	d	d	+	+	+	+	+	d	d
MR test (RT) ^b	+	+	d	+	+	-	d	d	+	+	+	+	+	d	d
VP test (37 °C) ^a	-	-	-	-	-	d	d	d	-	-	-	-	-	-	-
VP test (RT) ^b	-	-	-	-	-	+	d	d	-	-	-	-	-	d	-
Indole	+	+	d	+	-	-	+	-	-	-	-	d	+	-	-

16 *Escherichia adecarboxylata*

17 *Escherichia coli*

18 *Escherichia fergusonii*

19 *Escherichia hermannii*

20 *Escherichia vulneris*

21 *Hafnia alvei*; '*Enterobacter alvei*'

22 *Klebsiella oxytoca*

23 *Klebsiella pneumoniae* subsp. *aerogenes*; '*K. aerogenes*';
K. pneumoniae (sensu lato); (NOT '*Aerobacter aerogenes*'
Beijerinck)

24 *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae*; *K. ozaenae*

25 *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*; *K. pneumoniae*
(*sensu stricto*); Friedländer's pneumobacillus

26 *Klebsiella pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*;
K. rhinoscleromatis

27 *Kluyvera* spp.

28 *Morganella morganii*; '*Proteus morganii*'; Morgan's
no. 1 bacillus

29 *Proteus mirabilis*

30 *Proteus penneri*; *P. vulgaris* biogroup 1

RT, room temperature (18–22 °C); ^a incubation for two days; ^b incubation for five days

Other symbols used in the table are explained in Tables 5.1 and 5.2 on p.47.

(Tomado de Cowan, 2010)

Se realizó la siembra y posterior identificación de la cepa problema *E. coli* ATCC 25922 así como la cepa aislada de un paciente clínico (ver anexo 2).

Teniendo los siguientes resultados:

Tabla 7. Tabla de resultados de identificación para *Escherichia coli* ATCC y *E. coli* de aislamiento clínico.

Cepa <i>E. coli</i>	GRAM	Cat	Oxidasa	Indol	MR	VP	Citratos
ATCC 25922	Bacilos Gram negativo	+	-	+	+	-	-
Aislamiento clínico	Bacilos Gram negativo	+	-	+	+	-	-
Crecimiento en agar EMB	Colonias cremosas, de color verde metálico, 2mm de diámetro, opacas y circulares						
Crecimiento en agar Macconkey	Colonias rosas, cremosas, opacas y circulares de 2 y 3mm de diámetro						

(Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación FESC-UNAM, 2020)

Staphylococcus aureus

Se trabajó con dos cepas diferentes de *S.aureus*, ATCC 6538 y una cepa de *S. aureus*, aislada de una herida supurante de un paciente clínico y previamente identificada, proporcionada por laboratorios SAMALAB SA. De CV.

Para cada cepa se realizaron pruebas de identificación, para asegurar que realmente se tratara de este género y especie, para dictaminarlo se usó como punto de comparación la siguiente tabla:

Tabla 8. Tabla de pruebas de identificación para *Staphylococcus*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
Growth anaerobically	+	+	+	+	+	w	w	+ ^a	+	w	+	+	w	w	w	+	+	w	-	-	w	-	-	w	+	+
Oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	w	+	-
*VP	+	-	-	-	+	+	d	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	d	-	-	+	+
*Coagulase	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid from																										
Lactose	+	+	+	+	D	-	-	-	D	+	-	+	+	-	+	+	d	+	+	+	d	d	+	-	-	-
*Maltose	+	-	d	+	d	-	+	+	d	-	+	+	+	+	d	-	+	+	+	+	+	+	d	+	+	-
Mannitol	+	+	-	d	-	+	-	+ ^b	-	d	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sucrose	+	+	+	+	+	d	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	d	+	+	+	-	+	+	+	-
*Trehalose	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	d	+	+	+	+	+	+	+	d
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	?	?	-	+	+	+	+	-	
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	?	+	+	+	-	-	-	-
Mannose	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	d	-	-	+	+	+	-	d	+	+	-	+	d	+	+
*Phosphatase	+	+	+	+	-	-	?	d	-	w	-	+	+	+	?	?	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Nitrate	+	+	+	+	+	d	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
*Arginine	+	+	+	+	+	-	+	+	+ ^d	+ ^d	+	d	-	-	+	?	?	-	-	?	-	?	?	?	- ^c	+
Urea	d	+	+	+	-	-	?	-	+	+	+	+	d	+	+	-	-	?	-	+	+	-	d	-	?	-
Protease	+	D	+	w	w	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	w	+	?
*Novobiocin	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	r	r	r	s	s	s	r	r	r	r	r	r	r	s

1 <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>S. pyogenes</i> ; <i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i>	6 <i>Staphylococcus capitis</i>	12 <i>Staphylococcus simulans</i>	18 <i>Staphylococcus caseolyticus</i>	24 <i>Staphylococcus sciuri</i>
2 <i>Staphylococcus intermedius</i>	7 <i>Staphylococcus auricularis</i>	13 <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	19 <i>Staphylococcus arlettae</i>	25 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>
3 <i>Staphylococcus hyicus</i>	8 <i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	14 <i>Staphylococcus cohnii</i>	20 <i>Staphylococcus equorum</i>	26 <i>Staphylococcus schleiferi</i>
4 <i>Staphylococcus chromogenes</i>	9 <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	15 <i>Staphylococcus xylosus</i>	21 <i>Staphylococcus gallinarum</i>	
5 <i>Staphylococcus epidermidis</i> ; <i>Staphylococcus saprophyticus</i> ; <i>S. albus</i> ; <i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>albus</i>	10 <i>Staphylococcus hominis</i>	16 <i>Staphylococcus caprae</i>	22 <i>Staphylococcus kloosii</i>	
	11 <i>Staphylococcus warneri</i>	17 <i>Staphylococcus carnosus</i>	23 <i>Staphylococcus lentus</i>	

^a No growth anaerobically
^b Usual reaction
^c Ornithine decarboxylated
^d Inferred reaction
^{*} These tests are usually sufficient to identify the species that may infect man
s = sensitive
r = resistant

En donde se usará para este trabajo la columna número 1, correspondiente a *Staphylococcus aureus*. (Tomado de: Cowan, 2010)

Tabla 9. Tabla de resultados de identificación para *S. aureus* ATCC 6538 y *S. aureus* de aislamiento clínico.

Cepa <i>S. aureus</i>	GRAM	Catalasa	Oxidasa	Novobiocina	Coagulasa
ATCC 6538	Cocos gram positivo agrupados en racimos	+	-	Sensible	+
Aislamiento clínico	Cocos gram positivo agrupados en racimos	+	-	Sensible	+
Crecimiento en agar Sales y Manitol	Colonias circulares, cremosas, color amarillo, de 1 a 2mm de diámetro				

(Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación FESC-UNAM, 2020)

Se procedió a realizar un antibiograma por el método de Kirby-Bauer buscando la presencia de un halo de inhibición para la cepa de *S. aureus*, con el disco de AMIKACINA, en este caso, el diámetro del halo de inhibición no nos es relevante, ya que en las tablas de sensibilidad, previamente descritas en este trabajo, no existe una medida reportada para el uso de este antibiótico, lo esperado, fue que existiera un perímetro de inhibición bien definido para asegurar que el medicamento surte un efecto sobre la cepa de interés y con eso desarrollar la técnica para poder obtener una concentración mínima inhibitoria.

Se realizó la comparación del halo de inhibición de la **AMIKACINA** para las cepas de aislamiento clínico, como ATCC 6538 de *S. aureus*, ya que como se sabe, las cepas aisladas de pacientes clínicos suelen presentar resistencia, de esta forma, se asegurara que el antibiótico ejerza acción en ambas cepas, mismo caso para las cepas de *E. coli* ATCC 25922 y de aislamiento clínico.

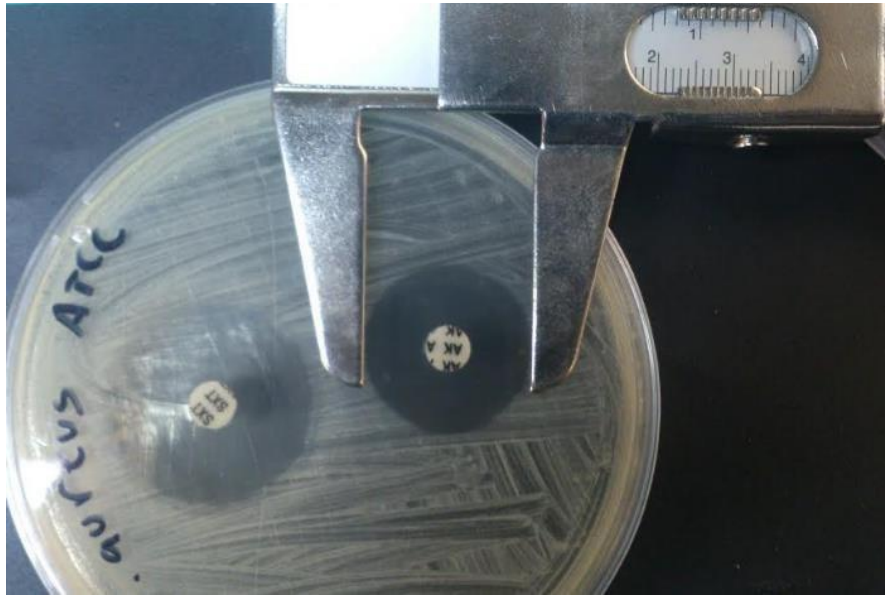


Figura 24. Antibiograma por técnica de disco para la cepa de *S. aureus* ATCC 6538, se obtiene una medida de 23 mm para el disco de AMIKACINA, como se observa en la imagen, se podría que la Amikacina ejerce un efecto sobre la cepa problema. (Fotografía tomada por Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación FESC-UNAM, 2020)

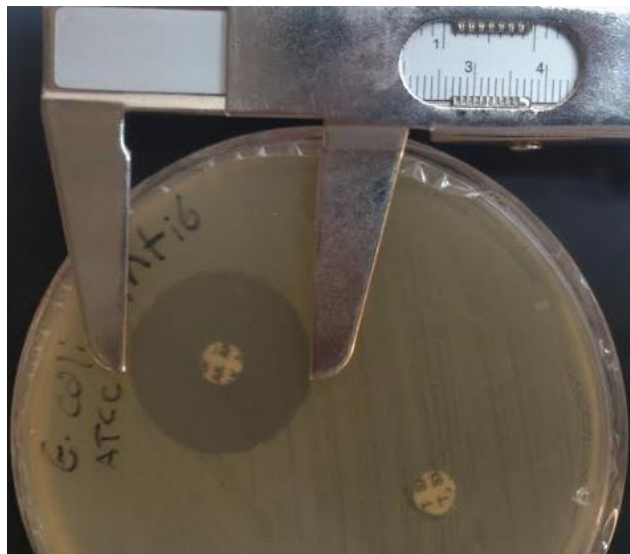


Figura 25. Antibiograma por técnica de disco para la cepa de *E. coli* ATCC 25922, se obtiene una medida de 27mm para el disco de AMIKACINA, medida que comparada con la tabla 2.3 se obtuvo un resultado de sensibilidad. Se observa también que para esta cepa el disco DE TRIMETOPRIM CON SULFAMETOXAZOL no tiene acción alguna sobre el microorganismo (Fotografía tomada por Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación, FESC-UNAM, 2020)

Observando los resultados vistos, se comprobó que la AMIKACINA ejerce una acción, tanto en las cepas ATCC así como aisladas de pacientes clínicos ya sea de *E. coli* o *S. aureus*.

Se realizaron 5 ensayos para comparar las concentraciones y poder determinar si existe una reproducibilidad del experimento.

Como se explica en el esquema 7.3. se realizaron diluciones seriadas desde el pozo 1 hasta contar el pozo 20 en la fila siguiente.

Tabla 10. Posiciones por fila de cada cepa utilizada en las micro placas

Fila AB	Fila CD	Fila EF	Fila GH
<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>E. coli</i> aislamiento clinico	<i>S. aureus</i> aislamiento clinico

(Alfredo de Jesús Martínez de laRosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación FESC-UNAM 2020)

Posteriormente se dejaron incubando las placas por 24 horas a 37°C, al final de la incubación se obtuvo el siguiente resultado, con las siguientes concentraciones.

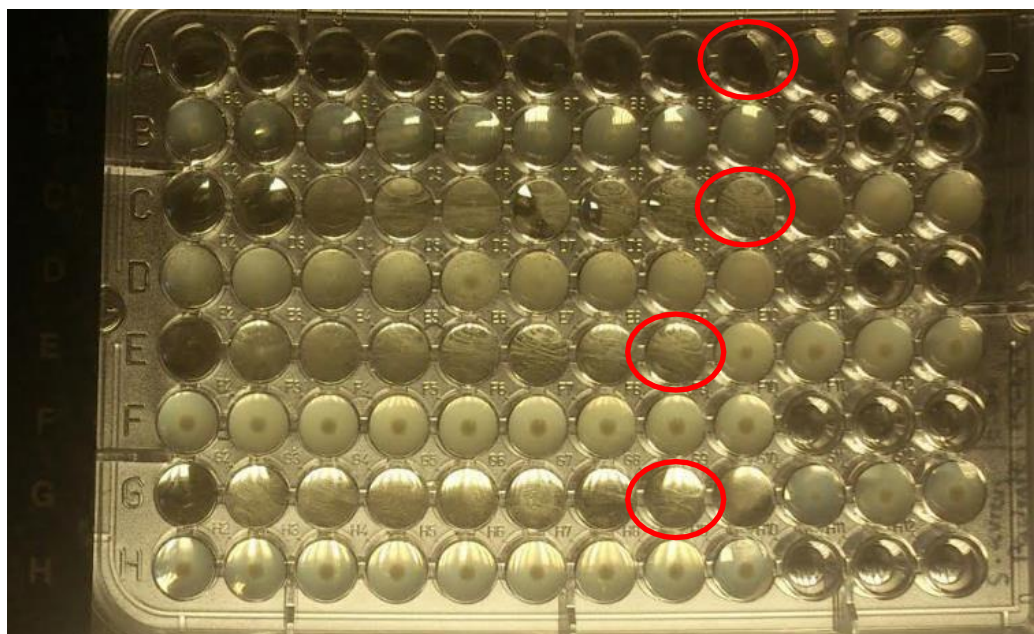


Figura 26. Punto de corte MIC en micro placa para las cepas *E. coli* y *S aureus* ATCC y clínicas, en círculo rojo: punto de corte (MIC) para las diferentes cepas utilizadas en los ensayos del experimento, [para *E.coli* ATCC 25922 la MIC se encuentra en el pozo A9, para *S. aureus* ATCC 6538 la MIC se encuentra en el pozo C9, para *E. coli* aislada de paciente clínico la CMI se encuentra en el pozo E8, para *S. aureus* aislada de paciente clínico la MIC se encuentra en el pozo G8]. (Fotografía tomada por Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrado e investigación, FESC-UNAM 2019)

Tabla 11. Promedio de las MIC encontrada para cada cepa utilizadas en todos los ensayos

Promedio MIC obtenidas	
Cepa	MIC
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1.3 ug/mL
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1.3 ug/mL
<i>E. coli</i> PACIENTE	2.6 ug/mL
<i>S. aureus</i> PACIENTE	1.6 ug/mL

(Alfredo de Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación, FESC-UNAM 2020)

Posteriormente se realizó un tratamiento de datos estadísticos, el cual consiste en obtener los promedios de las MIC obtenidas, para poder obtener límites de confianza para el experimento, posteriormente a estos promedios, se les sitúa dentro de la grafica de control, observando una tendencia aceptable (dentro de los límites de confianza), para poder visualizar correctamente el comportamiento del experimento, obteniendo lasiguiente gráfica.

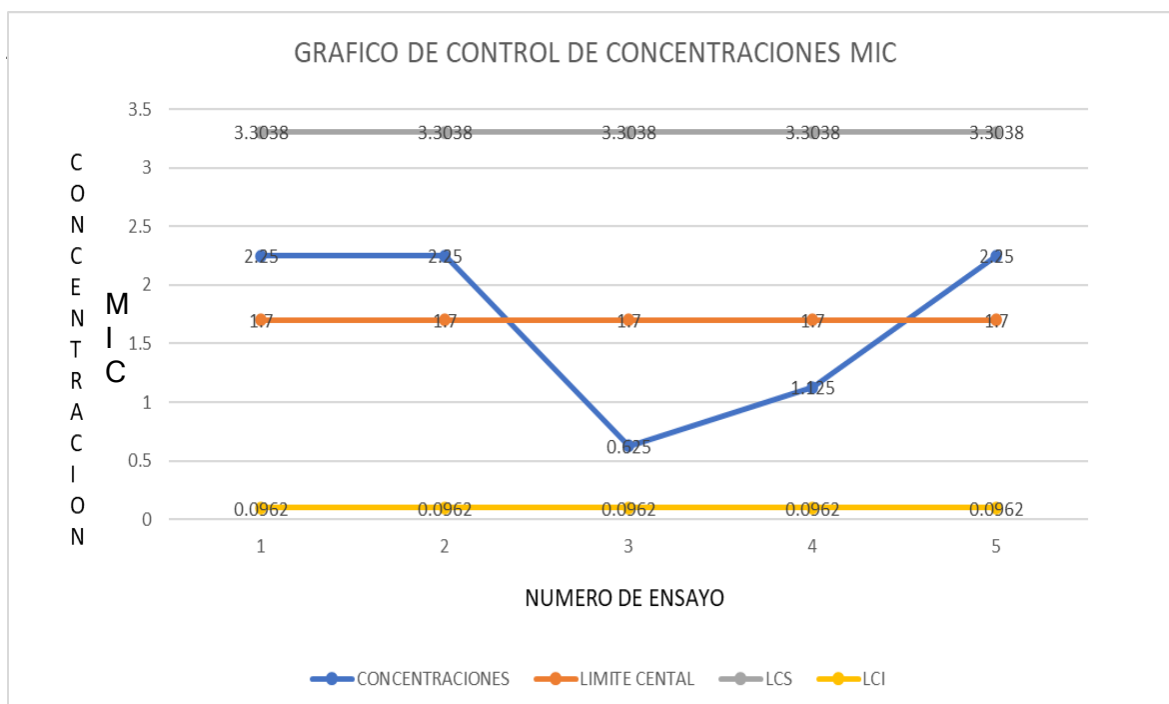


Figura 27. Grafica de control de promedios de concentraciones MIC para los ensayos realizados con las 4 cepas bacterianas disponibles., donde se puede observar una tendencia central, dentro de los límites inferior y superior, a pesar de las variaciones visibles en los ensayos 3 y 4, que igual forma permanecen dentro del rango aceptable.

11. DISCUSIÓN

Utilizando la AMIKACINA, que fue el antibiótico de elección para ambas cepas ATCC y de aislamiento clínico se determinó que este ejercía efecto en ambos microorganismos (*S. aureus* Y *E. coli*) y se podía realizar el experimento con el mismo.

Para poder analizar las variaciones existentes entre las concentraciones obtenidas en cada ensayo, es necesario esquematizar los datos obtenidos, por lo que se realizó un tratamiento estadístico a los resultados, manejando promedios de concentraciones MIC, de tal forma que se pudo obtener un gráfico de control, el cual nos facilita ver una tendencia, definida por la ubicación de cada promedio obtenido, representado en la figura 27.

La gráfica de la figura 27 explica las variaciones existentes entre las concentraciones globales por ensayo, siendo esto, que si existe alguna variación grande en las concentraciones MIC obtenidas en algún ensayo este se alejara de la línea central de la gráfica.

Tenemos una línea inferior y superior, que nos indica hasta donde es permisible que una concentración global presente una variación, si la concentración promedio del ensayo 5, suponiendo un ejemplo, saliera de este rango entre líneas, ya sea una mayor concentración o menor concentración obtenida, ese ensayo sería descartado y repetido, ya que el porcentaje de error cometido sería demasiado alto.

Como se puede observar en la figura 27 tres de los cinco ensayos globales presentan una tendencia lineal cerca de la línea central de la gráfica, por debajo del límite superior, y dos presentan una variación notable que se aprecia por debajo de la línea central, pero dentro del límite inferior, lo cual nos hablara de una variación en las MIC obtenidas para esos dos ensayos respectivamente, esto pudo deberse a algún error en el pipeteo del antibiótico, lo cual pudo haber afectado el resultado.

Aunque estos dos ensayos son los que presentan una variación visible, entran en el límite aceptable de error, lo cual nos indica que el experimento es reproducible y confiable, confirmando así la hipótesis de este trabajo. (Montgomery, Douglas, 2004)

12. CONCLUSIONES

Aunque a lo largo de los ensayos, el experimento mostro una tendencia a una variación en las MIC, de manera global, se observa una reproducibilidad, que está esquematizada en la figura 27.

De forma que al ser reproducible se demuestra la funcionalidad del experimento, así como la confiabilidad del mismo al momento de obtener las MIC.

Sabiendo que el experimento es viable, se puede inferir que será de gran utilidad para los estudiantes, ya que aparte de no generar tantos desechos y el ahorro de reactivo, se familiarizaran con los materiales vigentes en el ámbito laboral.

ANEXO 1

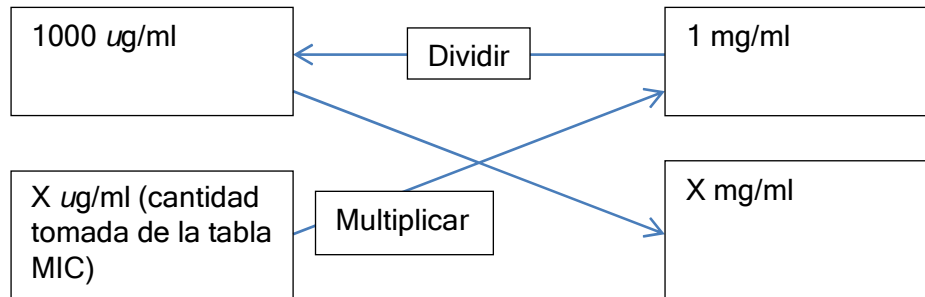
Cálculos para la determinación de la concentración mínima inhibitoria

Tabla 12: Concentraciones de antibiótico (Amikacina) por número de pozo en micro placa

Numero de pozo en micro placa	Concentración de antibiótico µg/ml
1	512
2	256
3	128
4	64
5	32
6	16
7	8
8	4
9	2
10	1
11	0.5
12	0.25
13	0.125
14	0.0625
15	0.03125
16	0.015625
17	7.8125×10^{-3}
18	3.90625×10^{-3}
19	1.953125×10^{-3}
20	9.765625×10^{-4}
21	CONTROL SIN ANTIBIOTICO

(Alfredo de Jesus Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrados e investigación, UNAM 2020)

1. Seleccionar el pozo de corte de la microplaca, que contiene la Concentración Mínima Inhibitoria, su equivalente en $\mu\text{g/mL}$ se encuentra en la tabla previamente descrita.
2. Realizar la conversión de $\mu\text{g/mL}$ a mg/ml de la siguiente forma:



ANEXO 1

Crecimiento de *E. coli* ATCC 25922 en medio EMB y Macconkey

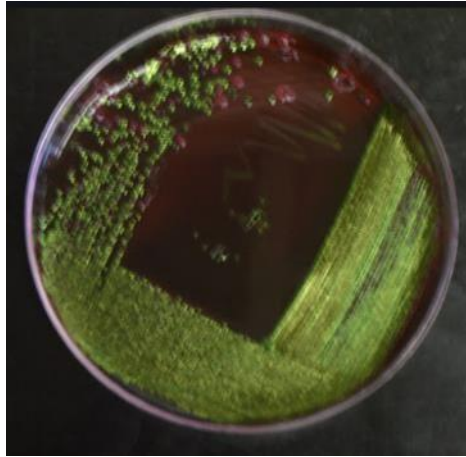


Figura 28. Crecimiento de *E. coli* ATCC 25922 en agar EMB. (Fotografía tomada por Alfredode Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrado e investigación, FESC- UNAM 2019)

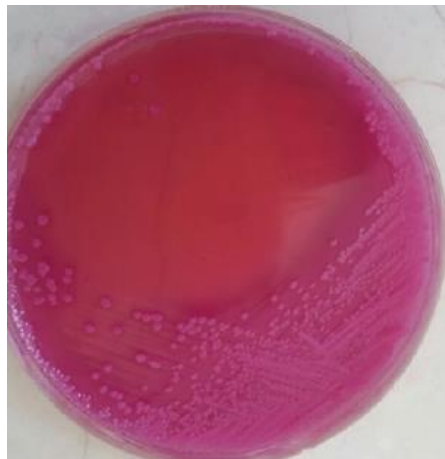


Figura 29. Crecimiento de *E. coli* ATCC 25922 en agar Macconkey. (Fotografía tomada por Alfredode Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrado e investigación, FESC- UNAM 2019)

Crecimiento de *E. coli* de aislamiento clínico en medio EMB y Macconkey



Figura 30. Crecimiento de *E. coli* de aislamiento clínico en agar EMB. (Fotografía proporcionada por Laboratorio medico SAMALAB SA de CV2019)



Figura 31. Crecimiento de *E. coli* de aislamiento clínico en agar Macconkey. Fotografía proporcionada por Laboratorio medico SAMALAB SA de CV2019

ANEXO 2

Crecimiento de *S. aureus* ATCC 6538 en agar Sales y Manitol, coagulasa positiva



Figura 32. Prueba de coagulasa positiva para *S. aureus* 6538. (Fotografía tomada por Alfredode Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrado e investigación, FESC- UNAM 2019)

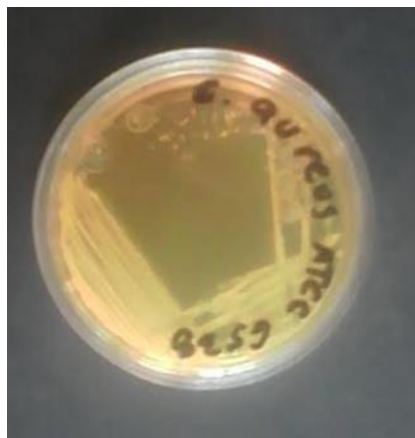


Figura 33. Crecimiento de *S. aureus* ATCC 6538 en agar sales y manitol. (Fotografía tomada por Alfredode Jesús Martínez de la Rosa, laboratorio 10 de microbiología, edificio de posgrado e investigación, FESC- UNAM 2019)

Crecimiento de *S. aureus* de aislamiento clínico en agar sales y manitol, coagulasa positiva



Figura 34. Prueba de coagulasa positiva, para *S. aureus* de aislamiento clínico. (Fotografía proporcionada por Laboratorio medico SAMALAB SA de CV 2019)



Figura 35. Crecimiento de *S. aureus* de aislamiento clínico en agar Sales y Manitol. (Fotografía proporcionada por Laboratorio medico SAMALAB SA de CV2019)

13. Referencias:

- Allocati N. Et al, (2013). «Escherichia coli in Europe: An Overview» [Escherichia coli en Europa: Una reseña]. Int. J. Environ. Res. Public Health (en inglés)
- Cordiés J. Et al. (1998). «Principios generales de la terapéutica antimicrobiana» (Pdf). *Acta Médica* (La Habana, Cuba: Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas) **8** (1): 14-18. ISSN 1561-3186. Consultado el 26 de junio de 2012
- Cowan and Steel. (2003). Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge.
- Forbes, B. A., Et al.(2004). *Bailey & Scott Diagnostico Microbiologico*. Editorial Medica Panamericana
- Forbes, B. Et al. (2009). Diagnostico Microbiologico. Panamericana.
- I. Bado. Et al (2010). PRINCIPALES GRUPOS DE ANTIBIÓTICOS. Elsevier.
- Ingraham J. (2012). INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGIA. PANAMERICANA
- Instituto Nacional Salud. (2010). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Perú: Organismo Público Descentralizado de Sector Salud
- J. Cavalieri. [et al.]. (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. junio 2019, de PAHO Sitio web: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>
- Koolman J. (2004). Bioquímica: Texto y Atlas. México: Panamericana.
- López J. (2015). El Esquivo bacilo de Koch, de Farmacia Las Fuentes Sitio web: <http://www.info-farmacia.com/historia/el-esquivo-bacilo-de-koch?tmpl=%2Fsystem%2Fapp%2Ftemplates%2Fprint%2F&showPrintDialog=1>
- Medina J. (2002). Guía de antimicrobianos y tratamiento de las infecciones. Díaz de Santos.
- Montgomery, Douglas (enero 2004). Control estadístico de la calidad. Limusa-Wiley.

- Moreno C. (2014). Dispensación de Productos Farmaceuticos. Paraninfo.
- Nataro, Et al. (2016). «Diarrheagenic Escherichia coli» [Escherichia coli diarreogénica]. Clin Microbiol Rev. (en inglés) (American Society for Microbiology (ASM))
- Ortega A, Et al. (2012) Spanish multicenter study of the epidemiology and mechanisms of amoxicillin- clavulanate resistance in Escherichia coli. Antimicrob Agents Chemother;56: 3576-81.
- Picazo, Et al. (2016). *Compendio de Microbiología* (2a ed.). Elsevier.
- Pierce, B. (2009). Genética. Panamericana.
- Prats. (2006). Microbiología clínica. Editorial Medica Panamericana
- PubChem. (s/f). PubChem. Nih.Gov. Recuperado el 10 de marzo de 2022, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Saenz Peña. (2010). Antibioticos y antimicrobianos. Tomado de: <https://www.agrovetmarket.com/investigacion-salud-animal/pdf-download/antibioticos-y-antimicrobianos>
- UNAM, Facultad de medicina,(2019) Antibioticos y su mecanismo de acción. Tomado de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/terapeutica.html>
- Vidal R. (2009) MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS, ELSEVIER
- Zendejas-Manzo G. Et al.(2014). Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Revista Biomédica, Publicación del centro de investigaciones regionales "Dr. Hideyo Naguchi", 3, 129-143.