

Universidad Técnica Federico Santa María

Sede Viña del Mar-José Miguel Carrera

Identificación y aislamiento de bacterias resistentes a antibióticos de amplio espectro y de espectro reducido en carne de aves: pollo en carnicerías del comercio local de la ciudad Viña del mar, durante la segunda mitad del año 2022.

Trabajo de título para optar al Título
Profesional Técnico en Gestión de Calidad
en Alimentos

Alumno: Paulette Lizette Mudronovich
Pardo

Profesor Guía: MSC María Elisa Escobar
Peña.

2022

Agradecimientos:

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia, aquella que con el tiempo se ha ido alejando pero que ha aportado un granito de arena para convertirme en la persona que soy en este momento, en segundo lugar a mi familia aquella que ha estado desde el inicio de este proceso académico hasta el final de este que se culmina con el presente trabajo.

A mis tía: Cecilia; Mis primos: German, Gabriela, Daniella y Constance, en más de una ocasión sus consejos, apoyo y porque no decirlo sus regaños me han empujado en el camino correcto desde el amor y la comprensión.

A mi madre Alejandra, tal vez no me llevaste en tu vientre, pero desde que te conozco has cuidado de mí, esto no sería posible de no ser por tu ayuda, has estado en cada paso del camino sufriendo o celebrando conmigo muchísimas gracias sin tu ayuda no estaríamos en este punto.

Muchísimas gracias a mis mejores amigos: Freddy, Javiera y Camila han sido testigos activos desde que nos conocemos, siempre les agradezco a ustedes, a la vida y los dioses por conocerlos.

Quiero a demás tomarme el tiempo de agradecerle a la profesora María Elisa Escobar poseedora magister quien fungió como guía en este proceso durante mi formación académica entregándome las herramientas necesarias para desempeñarme como profesional y apoyándome en las adversidades del camino, estoy segura que sin ella no habría acabado mi formación profesional.

Y por último, pero no menos importante muchísimas gracias a los Theoi en especial a las deidades Atenea y Artemisa muchísimas gracias, sus figuras han sido gran inspiración para mi a lo largo de mi vida, a ellas les dedico mi trabajo de título.

Resumen:

El presente trabajo presenta una investigación microbiológica en productos de carnes de ave (pollo) de carnicerías de la ciudad de Viña del Mar con el objetivo de demostrar la presencia de bacterias resistentes a antibióticos de amplio y bajo espectro presentes en el producto alimenticio.

La relevancia de esta investigación recae en que la resistencia bacteriana frente a los antibióticos dificulta el tratamiento contra bacterias que son causantes de enfermedades que el cuerpo humano, por tanto, no es capaz de combatir por sí mismo. Es por este motivo que se espera que dentro de las próximas décadas la resistencia a ATB haya avanzado a niveles alarmantes donde millones de personas mueran por esta razón.

En el primer capítulo de este trabajo se podrá encontrar la consultoría bibliográfica que ayudará a contextualizar los conocimientos básicos y generales para entender de mejor manera la acción de las bacterias frente a los medios de cultivo utilizados en este estudio.

Seguido por el capítulo dos, donde se explica en detalle cómo se realizan las técnicas microbiológicas que se emplearon para comprobar la resistencia bacteriana a antibióticos y su posterior identificación. Para esto se recolectaron muestras en carnicerías locales dentro de la ciudad de Viña del Mar región de Valparaíso, y se procedió a analizar estas muestras a través de la Técnica de Siembra Dilución y Plaqueo utilizando los siguientes medios de cultivo: PCA, VRBD y MacConkey observándose los resultados entre las 24hrs-48hrs de incubación. Las

colonias obtenidas fueron aisladas en caldo nutritivo para su posterior análisis microbiológico.

Con la finalidad de observar si el cultivo era puro se siembra la cepa en agar nutritivo, para realizar el procedimiento de Tinción de Gram, para finalmente ser observada al microscopio. Aquellas cepas que se observaban como cultivo mixto fueron aisladas a través de la Técnica de Agotamiento por estrías en Agar MacConkey y Baird-Parker.

luego de obtener cultivos puros se procedió a realizar procedimiento para analizar resistencia antimicrobiana, a través del método de muller hilton, difusión por agar o antibiograma, se aislaron un total de 59 cepas puras a las cuales se las sometió a 12 antibióticos de amplio y bajo espectro revelando un total de 11 cepas resistentes a diversos antibióticos, los cuales fueron Ampicilina, Clonazepam, Gentamicina, Vancomicina, Eritromicina y Clindamicina.

Por último, a las cepas que resultaron ser resistentes a los atb utilizados, se les realizan baterías de pruebas bioquímicas para posteriormente identificarlas comparándolas con información bibliográfica de los distintos microorganismos típicos de las carnes de pollo.

en el tercer capítulo se presentan los resultados obtenidos de las prácticas microbiológicas: tinción gram, antibiograma, y pruebas bioquímicas como: catalasa, oxidasa, pruebas imvic (indol- rmvp-citrato), mio (movilidad indol y d-ornitina), agar tres azúcar hierro (tsi), agar hierro lisina (lia), oxidación de carbohidratos, hidrólisis de almidón, hidrólisis de gelatina, oxidación fermentación, dnasa.

Finalmente se presenta una discusión y conclusión en torno a la investigación realizada en la cual se podrá especificar los microorganismos a los que pertenecía cada cepa encontrada, y un análisis para determinar si se cumplió con el objetivo que se propuso al inicio del trabajo de título.

Índice	
Agradecimientos:	2
Resumen:	3
Objetivo general:	11
Objetivos específicos:	11
Capítulo 1: consultoría bibliográfica	13
1.1 Siglas y simbología:	13
1.3.1 Campylobacter jejuni	15
1.3.2 Enfermedad	16
1.3.3 Campylobacter coli características	16
1.3.4 Enfermedad por campulobacter coli:	16
1.3.5 Escherichia coli	17
1.3.7 Enfermedad	17
1.3.8 Enterococos spp	18
1.3.9 Morganella Morganii	18
1.4 ¿Que son los antibióticos?	18
1.5 Algunos antibióticos de amplio espectro y de espectro reducido	20
1.5.1 Sulfametoxazol trimetoprima	20
1.5.2 Ácido Naladixico	21
1.5.3 Clindamicina	22
1.5.4 Tetraciclina	22
1.5.5 Eritromicina	¡Error! Marcador no definido.
1.5.6 Gentamicina – Estreptomicina	23

1.5.7Vancomicina.....	24
1.5.8Ampicilina-Amoxicilina	24
1.5.9 Clonanfenicol	25
1.6 Mecanismos de las bacterias para volverse resistentes a los ATB:	25
Capítulo 2:.....	30
2.1 Plan de muestreo:	30
2.2 Preparación de la muestra:	32
2.3Sembrado de microorganismos:	33
2.4 Tinción de Gram.....	34
2.5 Agotamiento por estría.....	36
2.6 Antibiograma	37
2.7 Pruebas bioquímicas	37
2.7.1 Catalasa	38
2.7.2 Oxidasa.....	38
2.7.3 Hidrolisis de almidón.....	38
2.7.4 Hidrolisis de lípidos.....	39
2.7.5 Hidrolisis de la gelatina.....	40
2.7.6 Fermentación de carbohidratos	40
2.7.7 Prueba de óxido fermentación.....	41
2.7.8 Agar tres azucares hierro (TSI).....	41
2.7.9 Agar hierro lisina (LIA)	42
2.7.10 pruebas IMVIC	42
2.7.10.1 Indol	43
2.7.10.2 Prueba de rojo metilo	43
2.7.10.3 Prueba de Voges-Proskauer	43
2.7.10.4 Prueba del citrato.....	43
2.7.11 medio de movilidad, indol y ornitina.....	44
2.7.14 Hidrolisis de la lactosa	44
2.7.13 DNASA	44
2.8 materiales utilizados durante los procedimientos microbiológicos	45
Capítulo 3: análisis de resultados.....	47
3.1 Resultados Tinción de Gram.....	50

3.2 resultados antibiograma	56
3.3 Resultados Pruebas bioquimicas	66
Conclusión y discusión	108
Lincografía/bibliografía	112

Índice de ilustraciones

Ilustración 1: Estrategias de resistencia atb	27
2 tincion gram bacilos negativos	54
3 tincion gram coco positivos	55
4 tincion gram cocos positivos.....	55
5 tincion gram cocos positivos.....	55
6 tinciongram cacos positivos.....	56
7-3 crecimiento bacteriano con doble halo de texto	64
8-3 bacteria resistente a clindamicina	65
9-3 bacteria resistente a ampicilina, clonafenicol,gentamicina y vancomicina	65
10-3 bacterias resistentes a distintos antibioticos	66
11-3 ejemplos de distintos antibiogramas	66
12-3 pruebas imvic 4cpca1m.....	74
13-3 fermentacion de carbohidratos 4cpca1m	74
14-3 oxido fermentación 4cpca1m	75
15-3 hidrolisis de gelatina 4cpca	75
16-3 hidrolisis de almidon 4cpca1m	76
17-3 fermentacion de la lactosa 4cpca1m	76
18-3 pruebas imvic 10cmac1m.....	77
19-3 fermentacion de carbohidratos 10cmac1m	77
20-3 oxido fermentación 10cmac1m	78
21-3 hidrolisis de gelatina 10cmac1m	79
22-3 hidrolisis de almidon 10cmac1m	80
23-3 pruebas imvic 11mac1m	80
24-3 fermentacion de carbohidratos11mac1m	81
25-3 oxido fermentación 11mac1m	81
26-3 hidrolisis de gelatina 11mac1m	82
27-3 hidrolisis de almidon 11mac1m	82

28-3 fermentacion de la lactosa 11mac1m.....	83
29-3 pruebas imvic 7cvrbd1m	83
30-3 fermentacion de carbohidratos 7cvrbd1m	84
31-3 oxido fermentación 7cvrbd1m	84
32-3 hidrolisis de gelatina 7cvrbd1m	85
33-3 hidrolisis de almidon 7cvrbd1m	85
34-3 fermentación de la lactosa 7cvrbd1m.....	86
35-3 pruebas imvic 6cmac1m.....	86
36-3 fermentacion de carbohidratos 6cmac1m	86
37-3 oxido fermentación 6cmac1m	87
38-3 hidrolisis de gelatina 6cmac1m	88
39-3 hidrolisis de almidon 6cmac1m	88
40-3 fermentación de la lactosa 6cmac1m	89
41-33 fermentacion de carbohidratos 4vrbd1m	89
42-3 oxido fermentación 4vrbd1m	90
43-3 hidrolisis de gelatina 4vrbd1m.....	90
44-3 hidrolisis de almidon 4vrbd1m.....	91
45-3 fermentacion de la lactosa 4vrbd1m	91
46-3 pruebas imvic 2cmac2m.....	92
47-3 fermentacion de carbohidratos 2cmac2m	92
48-3 oxido fermentación 2cmac2m	92
49-3 hidrolisis de gelatina 2cmac2m	93
50-3 hidrolisis de almidon 2cmac2m	93
51-3 fermentacion de la lactosa 2cmac2m	94
52-3 pruebas imvic 3cpca3m.....	94
53-3 fermentacion de carbohidratos 3cpca3m	95
54-3 oxido fermentación 3cpca3m	95
55-3 hidrolisis de gelatina 3cpca3m	96
56-3 hidrolisis de almidon 3cpca3m	96
57-3 fermentacion de la lactosa 3cpca3m	97
58-3 pruebas imvic 3cmac4m.....	97
59-3 fermentacion de carbohidratos 3cmac4m	98
60-3 oxido fermentación 3cmac4m	98
61-3 hidrolisis de gelatina 3cmac4m	99
62-3 hidrolisis de almidon 3cmac4m	99
63-3 fermentacion de la lactosa 3cmac4m	100
64-3 pruebas imvic 4cvrbd4m-	101
65-3 fermentacion de carbohidratos 4cvrbd4m-	101
66-3 oxido fermentación 4cvrbd4m-	102
67-3 hidrolisis de gelatina 4cvrbd4m-	102
68-3 hidrolisis de almidon 4cvrbd4m-	103
69-3 fermentacion de la lactosa 4cvrbd4m-.....	103
70-3 pruebas imvic 4cvrbd4m*	104

71-3 fermentacion de carbohidratos 4cvrbd4m*	104
72-3 oxido fermentación 4cvrbd4m*	105
73-3 hidrolisis de gelatina 4cvrbd4m*	105
74-3 hidrolisis de almidon 4cvrbd4m*	106
75-3 fermentacion de la lactosa 4cvrbd4m*	107

Indice de tabla

Tabla 1 materiales, equipos, reactivos y medios de cultivos utilizados	45
Tabla 2 cepas obtenidas de la primera muestra	48
Tabla 3 cepas obtenidas de la segunda muestra	48
Tabla 4 cepas obtenidas de la tercera muestra	49
Tabla 5 cepas obtenidas de la cuarta muestra	49
Tabla 6 cepas obtenidas en la quinta muestra	50
Tabla 7 resultados antibiograma 1/2	58
Tabla 8 resultados antibiograma 2/2	62
Tabla 9 resultados pruebas bioquimicas 1/7	68
Tabla 10 resultados pruebas bioquimicas 2/7	69
Tabla 11 resultados pruebas bioquímicas 3/7	70
Tabla 12 resultados pruebas bioquimicas 4/7	71
Tabla 13 resultados pruebas bioquimicas 5/7	71
Tabla 14 resultados pruebas bioquimicas 6/8	72
Tabla 15 resultados pruebas bioquimicas 7/7	73

Introducción

En el presente trabajo de título se busca aislar bacterias resistentes a antibióticos en muestras de carne de pollo que son de fácil distribución en diversos mercados de la V región.

Considerando que los animales de forma natural tienen un reservorio bacteriano que pertenece a su flora intestinal, los cuales ayudan en sus diferentes procesos biológicos; sin embargo, cuando una pieza de carne es adquirida para el consumo humano y no se cocina bien genera un riesgo de contraer enfermedades producto de la proliferación de bacterias en un sistema inmune comprometido, la persona recurrirá comúnmente a utilizar antibióticos que de emplearlos de forma correcta, respetando dosis y tiempo de acción logran inhibir a las bacterias que producen estas patologías.

El problema surge cuando las bacterias generan resistencias a los antibióticos, esto sucede por diversos motivos como, por ejemplo: cuando una persona no toma las indicaciones como se las señala el doctor, interrumpe y retoma constantemente el tratamiento o cuando se auto medica. Si las bacterias generan una resistencia a los medicamentos que deberían eliminarlas agotan las opciones de tratamiento, **y** para poder saber si es resistente y a que antibióticos se recurre a técnicas microbiológicas, como por ejemplo, a través de un Antibiograma, que es un procedimiento que consiste en exponer a una bacteria a diferentes antibióticos, se

procede a la incubación en estufa a 35-37°C por 18 a 24 horas, y después de este tiempo de incubación se podrán visualizar halos de inhibición. Se realiza la medición del diámetro de cada halo, pues mientras mayor sea el diámetro, más efectiva será la acción del antibiótico frente a la bacteria analizada.

Por otro lado, la industria ganadera desarrolla prácticas de control para mantener a su población sana evitando, por ejemplo, que las aves de corral desarrollen enfermedades; sin embargo, estas prácticas pueden ser contra productivas cuando se les inyecta constantemente antibióticos a largo plazo, provocando que las bacterias se acostumbren al medicamento que debería inhibirlas generando mecanismos para eludir la acción de dichos antibióticos.

Según la OPS (Organización Panamericana de la Salud) el 2020 dio a conocer la estadística de que al año aproximadamente 200.000 muertes neonatales, y a nivel mundial 700.000 personas mueren anualmente debido a las súper bacterias, bacterias que no son sensible a ningún antibiótico o a muy pocos.

Objetivo general:

Identificar bacterias resistentes a los antibióticos de amplio y bajo espectro, en carnes de origen avícola, pollo, comercializadas en carnicerías locales de viña del mar, durante el segundo semestre del 2022.

Objetivos específicos:

- Aislar cultivos bacterianos puros procedentes de muestras de carnes de pollo, mediante técnicas microbiológicas básicas de laboratorio.

- Analizar resistencia bacteriana a 12 antibióticos de amplio y bajo espectro en cultivos procedentes de técnica específica, antibiograma.
- Identificar las bacterias aisladas resistentes a los 12 antibióticos de amplio y bajo espectro obtenidas de las pruebas bioquímicas aplicadas.

Capítulo 1

Capítulo 1: consultoría bibliográfica

En el primer capítulo de este trabajo de título se presenta en primera instancia una lista de palabras claves junto a sus respectivos significados que se utilizarán a lo largo del documento, le seguirán descripciones breves de las formas bacterianas, luego una descripción corta sobre los microorganismos encontrados en las carnes de pollo junto a sus respectivas sintomatologías, le sigue una descripción de los antibióticos utilizados durante los procedimientos microbiológicos, por último los diferentes mecanismos que tiene una bacteria para eludir el efecto bactericida.

1.1 Siglas y simbología:

ATB: abreviatura para “antibióticos”

°C: “grados Celsius” medida internacional de temperatura

pH: cociente que indica el grado de acidez en una solución acuosa

A_w : disponibilidad del agua dentro de los alimentos

Aeróbicos: microorganismo que necesita la presencia de oxígeno para su proliferación.

Gram negativas: característica de un microorganismo donde su pared celular está conformada por una delgada capa de lípidos que frente a un procedimiento se tiñen de un color rosáceo-rojo.

Gram positivo: característica de un microorganismo donde su pared celular está conformada por una capa gruesa de lípidos que frente a un procedimiento se tiñen de color azul

Microaerófilos: características de un microorganismo el cual necesita una menor cantidad de oxígeno.

Flagelo: estructura de la célula que

MCI: concentración mínima para asegurar la eliminación de una bacteria mediante los antibióticos

Toxicidad selectiva: capacidad de un antibiótico de actuar frente a una bacteria o un grupo de bacterias que comparte una misma característica sin afectar la salud del individuo

Plaqueo: acción de dispensar un medio de cultivo sólido en placas de Petri

PBS: penicillin-binding-proteins proteína que actúa en contra de los antibióticos betalactámicos

RPM: revoluciones por minutos

1.2 Morfología bacteriana

Las formas de vida en la naturaleza son ricas en biodiversidad y las bacterias no son la excepción, las bacterias presentan diversas formas las cuales se explican a continuación.

1.2.1. Cocos

Las bacterias en forma de cocos son bacterias que tienen una forma redondeada, su crecimiento puede ser simple; solo una esfera, en pares; dos esferas juntas, cadena; varias esferas, una al lado de la otra hasta formar una cadena o como racimos de uvas. Son inmóviles ya que carecen de flagelos

1.2.2. Bacilos

Las bacterias baciliformes son bacterias con formas de bastones, al microscopio se ve similar a un grano de arroz, estas pueden o no tener flagelos o fimbrias que ayudan a la bacteria a moverse o adherirse en el medio.

Existen los diplobacilos, cuando hay dos bacterias juntas con esta forma, y los estreptobacilos cuando la bacteria en su crecimiento forma una cadena de manera que una bacteria se posiciona tras de otra.

1.2.3. Cocobacilos

Son bacterias con una forma de bacilos cortos de forma irregular, al mirarse en el microscopio parece estar entre lo que será un coco y un bacilo.

1.2.4. Espiroquetas

Estas son bacterias con forma de saca corcho o también se les dice con forma de “ese”, presentan un desplazamiento por el medio en forma de hélice, aquellos con flagelo se mueven como comúnmente se ve un sacacorchos.

1.3. Microorganismos comunes en las carnes de ave

Dentro de la gran variedad de microorganismos que existen en el medio ambiente se encuentra a *Campilobacter jejuni* con la mayor probabilidad de encontrarse en las carnes de aves del consumo humano (pollo). Este microorganismo puede soportar temperaturas de refrigeración y de congelación, pero no permite su proliferación, mientras que para crecer de forma óptima necesita temperaturas de 37°C a 42°C y un pH entre los 6,5-7,5 y con una aw: 0,99, son microorganismos Gram negativas y flageladas.

Estas bacterias en el organismo son capaces de generar problemas a partir de los 2 a 5 días, iniciando cuadros diarreicos, vómitos y malestares estomacales. De las personas que adquieren esta enfermedad un 13% son hospitalizadas, las concentraciones necesarias para generar esta enfermedad son de 1,7-8,6 log₁₀UFC/g

1.3.1. *Campylobacter jejuni*

Campylobacter es uno de los géneros bacterianos más comunes, tiene forma de espirilo, su movilidad se debe a que posee un flagelo de tipo polar. Se les llaman comensales ya que presenta su contagio al consumir carnes contaminadas, como por ejemplo, pollos, cerdo, ovinos. Ocasiona gastroenteritis y también está

relacionada con otras enfermedades como septicemia, enfermedades autoinmunes y la enfermedad de Guillan-Barre.

1.3.2. Patología

La bacteria *Campylobacter* genera enfermedades dependiendo del organismo que infecte por ejemplo, en animales no presenta sintomatología ya que es su reservorio natural, sin embargo, cuando coloniza el organismo humano es capaz de adherirse a la pared intestinal y generar biopelículas que la protege de los medios adversos y por último, es capaz de generar toxinas que causaran en las personas inflamación y diarrea aguda acompañada por vómitos, malestar general, dolor abdominal con un cuadro clínico durante 2 a 5 días, usualmente solo se necesita hidratación, pero en casos específicos se necesita hospitalización donde el tratamiento además de hidratación incluye antibióticos, sin embargo algunas bacterias de genero de *Campylobacter jejuni* son resistentes a la cefalosporina, penicilina y ampicilina.

1.3.3. *Campylobacter coli* características

Campylobacter coli es la segunda especie de bacterias más comunes del género *Campylobacter* siendo el primero la especie *jejuni*. Son bacterias Gram negativas, con una temperatura optima de crecimiento de 42°C poseen dos flagelos con los que se desplaza como “un sacacorchos”, son microaerofilos, cuando se exponen por tiempo prolongados al aire sus cultivos toman forma cocoides.

1.3.4. Enfermedad por *Campylobacter coli*:

La enfermedad por *Campylobacter coli* es una enfermedad de tipo bacteriana transmitida por la mala manipulación de alimentos o malos hábitos de higiene que produce diarrea en algunos casos con sangre, malestar general fiebre y vómitos,

generalmente sus síntomas se pueden pasar sin intervención médica y con reemplazo de electrolitos e hidratación.

1.3.5. *Escherichia coli*

La *Escherichia coli* es una bacteria que comúnmente es encontrada en los intestinos de animales y en el medio ambiente, se trata de microorganismos Gram negativos y flagelados, anaerobios facultativos, su temperatura óptima de crecimiento es alrededor de los 35°C y su temperatura mínima de crecimiento son los 7°C, sensible a temperaturas sobre los 70°C. Su pH óptimo de crecimiento es 7,2 sus límites entran en los pH 3.8-9,5 su aw óptimo es 0.99 mientras que su límite es 0.94.

Una de sus características es que a la hora de infestar el intestino, esta bacteria se adhiere a las células blancas del huésped a través de filamentos proteicos llamadas fimbrias.

1.3.7. Patología

Este microorganismo es capaz de provocar diferentes tipos de patologías como la Colitis Hemorrágica y Síndrome Urémico Hemolítico (SHU).

- **Colitis Hemorrágica o Gastroenteritis por E coli:** es una enfermedad cuya sintomatología se distingue por dolores fuertes de estómago como cólicos o calambres, y materia fecal con sangre principalmente la causa la *E coli* O157:H7 aunque también pueden producirlas otras cepas de *E coli*.
- **Síndrome Urémico Hemolítico:** comúnmente este síndrome se da después de la infección intestinal de la *E coli* O157:H7 y después de tener colitis hemorrágica por la misma unas semanas antes, este síndrome es causado por una toxina que produce la bacteria llamada Shiga, esta destruye los glóbulos rojos de los riñones causando daño en el mismo.

El síndrome hemolítico también puede ser causado por otras bacterias como Salmonela y Shigella.

1.3.8. Enterococos spp

Los enterococos son un conjunto de bacterias Gram positiva de forma cocácea tienen por características crecer en forma de diplococos o en cadena. Están presente en la microbiota natural de los animales, su reservorio natural en el humano son el tracto digestivo y los genitales, son de distribución amplia por lo que se puede encontrar en agua, alimentos, suelos y aire. Son catalasa negativos y entre ellos podemos encontrar a las siguientes especies: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faesium*, *Enterococcus avium* entre otros.

1.3.9. *Serratia marcescens*.

La bacteria *Serratia marcescens* es una enterobacteria, bacilo Gram negativo de amplia distribución pudiendo ser encontrada en la flora intestinal de los animales incluido del ser humano, y el agua, en instrumental hospitalario siendo un microorganismo oportunista es causal de enfermedades del tracto respiratorio y vías urinarias.

1.4. ¿Que son los antibióticos?

Los antibióticos son medicamentos que funcionan frente a infecciones bacterianas son inútiles frente a infecciones por virus o fúngicas. Su mecanismo de acción se centran en frenar la reproducción bacteriana o su capacidad de crecimiento, los antibióticos son específicos para cada bacteria dependiendo de si estas son bacterias Gram negativas o Gram positivas.

Su selectividad se debe a que reacciona con determinadas moléculas bacterianas a esto se le llama **diana**, la bacteria responde frente a una determinada concentración que inhibe el crecimiento bacteriano eso tiene por nombre (CMI), por último el antibiótico tiene un espectro de acción que es su capacidad de afectar a distintos géneros y especies de bacterias, cuando es capaz de afectar a varios

géneros y especies se les llama de amplio espectro y cuando no tiene esa capacidad se le llama de espectro reducido.

El uso prolongado de estos medicamentos puede llevar a la reducción de la flora bacteriana del paciente, esta condición puede durar alrededor de una semana por lo que se recomienda en muchos casos tomar prebióticos para restablecer el sistema inmunológico de la persona.

El más conocido es la penicilina creada a partir del hongo penicilium que aíslan a las bacterias e inhiben su crecimiento.

Los antibióticos se pueden clasificar de diferentes formas una de ellas es según su mecanismo de acción sobre las bacterias;

- Antibióticos capaces de inhibir la síntesis de la pared bacteriana y son capaces de influir en la formación de peptidoglicano de la pared celular
- Antibióticos que evitan la síntesis de proteínas ribosomales.
- Antibióticos que afectan la síntesis de los ácidos nucleicos.
- Antibióticos que afectan a nivel del metabolismo de la célula bacteriana
- Antibióticos que afectan de forma directa en la pared celular produciendo su lisis.

en el caso de las bacterias del género *Campylobacter* son comunes el uso de antibióticos Azitromicina; antibiótico macrólido que impide el crecimiento bacteriano o Ciprofloxacina que eliminan a las bacterias.

1.5. Algunos antibióticos de amplio espectro y de espectro reducido.

A continuación, una breve lista de antibióticos con su descripción, que posteriormente se utilizaran.

1.5.1. Sulfametoxasol trimetoprima

Este es un medicamento de mecanismo combinado conformado por el sulfametoxasol y la trimetoprima:

-**Sulfametoxasol**: es un antibiótico perteneciente a las sulfamidas, antibióticos que inhiben la síntesis del ácido fólico ya que previamente interviene en la conversión del ácido *p*-aminobenzoico a dihidropteroato que necesitan para la producción de folato, es un nutriente que necesitan las células para elaborar el ADN por lo que impide su síntesis en última instancia.

Esto lo consigue ya que compite con la enzima tetrahidropteroicosintetasa esta enzima se utiliza para condensar el ácido parabenzoico (PABA) con lo que posteriormente forman el ácido fólico.

Es un antibiótico de amplio espectro de acción y es utilizado comúnmente para infecciones del tracto urinario y para enterobacterias

- **Trimetoprima**; por otro lado, la trimetoprima es un antibiótico cuyo mecanismo de acción se debe a que impide la síntesis de la forma ácido fólico, además de inhibir la síntesis de los ácidos nucleicos, tiene amplio espectro de acción.

Así ambos antibióticos inhiben dos rutas distintas de la síntesis de ácidos nucleicos esenciales para la bacteria que resulta ser bactericida, aunque estos impedimentos para dicha síntesis suelen ser reversibles en presencia PABA.

La resistencia a este medicamento combinado se da por varios mecanismos:

1. Se altera la enzima tetrahidropteroicosintetasa
2. La capacidad de inactivar o eliminar al antibiótico de la célula
3. Caminos alternativos para la síntesis del ácido fólico o de los ácidos nucleicos

1.5.2. Ácido Naladixico

El Ácido Naladixico es un antibiótico que pertenece al grupo de las quínoles este antibiótico interrumpe la síntesis de la enzima girasa del DNA, esta enzima participa en el enrollamiento y superenrollamiento del ADN de esta manera no permite a la bacteria duplicarse y favorece su lisis, afecta a las bacterias Gram negativas que son culpables de las infecciones urinarias y Enterobacterias spp.

La resistencia a este antibiótico se debe a dos mecanismos:

1. la modificación de la diana de ATB y a la expulsión al exterior de la célula
2. y a la adquisición de los genes que codifiquen la modificación de la diana y la expulsión del ATB de la célula a través de la herencia de células madres a células hijas con estos mecanismos.

1.5.3. Eritromicina.

Este antibiótico pertenece al grupo de macrólidos que deben su acción a que se unen a la sub unidad 50s del ribosoma interfiriendo en la síntesis de proteínas, es un antibiótico de amplio espectro, pero muestra mayor eficacia con bacterias Gram positivos, son una segunda opción para los pacientes que presentan reacciones alérgicas a los antibióticos betalactámicos.

Los mecanismos de resistencia de las bacterias frente a este antibiótico se deben principalmente a tres:

1. la metilación en la composición del antibiótico alterando la diana
2. bombas de expulsión que como dice su nombre expulsa el antibiótico fuera de la bacteria
3. mutación en el ARN ribosómico en las proteínas ribosomáticas

1.5.4. Clindamicina

La Clindamicina es un antibiótico que es utilizado para diferentes tipos de infecciones cutáneas o del sistema sanguíneo, respiratorio y del sistema reproductor femenino. Es efectivo principalmente con los microorganismos anaerobios, sus usos son tópicos, inyectables y orales.

Su mecanismo de acción es igual al del antibiótico Eritromicina: es decir se une a la subunidad 50s ribosomal impidiendo la síntesis proteica de la pared celular. Suele usarse en conjunto en casos de infecciones como CA-SARM. (infección causada por la bacteria *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina)

Se ha apreciado que cuando una bacteria presenta resistencia a la Eritromicina es probable que adquiera resistencia a la Clindamicina a través del mecanismo de flujo, que se controla con la alteración ribosomal alterando la diana del antibiótico.

Como efecto adverso, este antibiótico genera mayor propensión a que el paciente tenga una infección por *Clostridium difficile*, hipersensibilidad cutánea y prolongar el intervalo QT que es un defecto cardíaco

1.5.5. Tetraciclina

La tetraciclina es un antibiótico que deben su acción a la unión de la subunidad 30s ribosomal entrando a la membrana externa bacteriana, impide el paso a los aminoácidos utilizados para la formación de la pared celular, este antibiótico actúa contra las bacterias Gram negativas. Se recomienda su uso sin la compañía de alimentos ya que es menor su absorción con cationes metálicos.

La resistencia bacteriana se produce principalmente por dos mecanismos:

1. la protección del ribosoma, esto ya que se adhiere una proteína al mismo que impide la acción del antibiótico ya que altera su diana aunque este mecanismo tiene poca prevalencia.
2. por otro lado, la bacteria expulsa el antibiótico por medio de una proteína de la membrana citoplasmática, este mecanismo se divide en dos partes una es regulada por los genes de la bacteria que codifica una bomba expulsora y otro la proteína represora que inactiva al antibiótico hasta que es expulsado de la célula bacteriana.

1.5.6.- Gentamicina – Estreptomicina

Estos dos antibióticos pertenecientes al grupo de los aminoglucosidos que se unen a la subunidad 30s del ribosoma que impide la transcripción del ADN bacteriano interfiriendo así la síntesis de proteínas. La gentamicina es eficaz contra las bacterias Gram negativas principalmente los bacilos, aerobios y anaerobios facultativos aunque se ha presentado resistencia en algunos bacilos negativos mientras que la estreptomicina es eficaz con bacterias Gram negativas y un número menor de bacterias Gram positivas.

La resistencia que generan las bacterias frente a estos medicamentos se debe a enzimas que generan alteraciones químicas en los grupos covalentes de los grupos aminos, además de los hidroxilos de la molécula, así logran que el antibiótico se una de manera débil a los ribosomas bacterianos causando en última instancia que no entren a la célula, Estas enzimas llevan por nombre Enzimas Modificadores de Aminoglucósidos sus siglas, EMA

1.5.7. Vancomicina

La vancomicina es un ATB de amplio espectro, perteneciente a la familia de antibióticos glicopeptideo, utilizado comúnmente en infecciones del tracto intestinal. Es bactericida para bacterias Gram positivas: *Enterococos*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativos, se usa principalmente para bacterias que hayan mostrado resistencia a los betalactámicos, aunque la vancomicina suele ser menos eficaz que los betalactámicos.

El mecanismo de acción de este antibiótico es inhibir la biosíntesis de la pared celular bacteriana ya que interfiere en la producción del ARN. La bacteria al no poder mantener su pared celular produce la ruptura de la pared es decir; la lisis.

Como contraindicación no es recomendable utilizarse en pacientes embarazadas ya que pasaría el antibiótico por la leche al lactante.

1.5.8. Ampicilina-Amoxicilina

Ambos medicamentos son antibióticos pertenecientes a la familia de las penicilinas, antibióticos betalactámicos, su mecanismo de acción se debe a que activa la acción de enzimas autolíticas destruyendo la pared celular, su eficacia es sobre bacterias Gram negativas principalmente bacilos negativos, enterococcus y bacterias no productoras de betalactamasa, enzima que utilizan las bacterias para degradar los ATB.

Por otro lado, la amoxicilina inhibe la última parte de la síntesis de la pared celular como esta no puede formarse correctamente ocasiona su lisis adhiriéndose a una proteína específica la PBS.

1.5.9 Cloranfenicol

El Cloranfenicol es un antibiótico perteneciente al grupo de anfenicoles, es un antibiótico de amplio espectro es decir, es toxico para múltiples bacterias: Gram positivas, Gram negativas, anaerobios, aerobios y espiroquetas. Sin embargo su uso puede afectar gravemente a la salud del paciente con enfermedades de la medula ósea: como la anemia plasmática y la anemia por deficiencia de hierro en la sangre y en bebes causa el síndrome del niño gris, en casos más leves causa vómitos, diarrea, malestar estomacal.

Su uso es recomendado para las infecciones que han mostrado resistencia a otros antibióticos y que son mortales, es principalmente efectivo contra la Rickettsia, Chlamydothila. Su modo de acción se debe a que se une a la subunidad 50s del ribosoma bacteriano interfiriendo con la síntesis de proteínas de la bacteria.

1.6. Mecanismos de las bacterias para volverse resistentes a los ATB:

Debido al bombardeo continuo de los antibióticos, cada vez es más común encontrarnos con cepas resistentes a los ATB que en situaciones normales no sería un problema erradicarlas. Es natural preguntarse ante este escenario: ¿Cómo es que una bacteria logra adquirir esta resistencia?

Hay que entender que los antibióticos son como flechas que van a parar a una diana y mientras más al centro de la diana mejor será la actuación del medicamento, sin embargo, lo que sucede es que las bacterias son capaces de modificar esta diana, mediante tres mecanismos que poseen para poder burlar los mecanismos de acción de los antibióticos.

Los mecanismos para que una bacteria adquiera resistencia bacteriana son:

1. **Resistencia natural o intrínseca:** algunas bacterias tienen una resistencia natural o intrínseca, donde carecen de punto de acción para un antibiótico,

un ejemplo de esto lo podemos encontrar en las bacterias sin pared celular como es el caso de los micoplasmas por lo que si se usa en ellos un antibiótico que haga lisis su pared no se verían afectadas.

2. **Resistencia adquirida:** es aquella donde una bacteria es bombardeada constantemente por antibióticos en una concentración idealmente baja dando como resultado que se mantengan en fase de latencia, la bacteria con el tiempo muta su carga genética para que el antibiótico no haga su efecto.
3. **Resistencia transmisible:** el ultimo mecanismo de resistencia es la resistencia transmisible, podemos decir que es la forma más importante donde una bacteria resistente puede compartir estos genes que la dotan de esas habilidades a otra bacteria, así los genes que permiten la elusión del atb pasen de células madres a células hijas.

A lo anterior se suma la posibilidad de que una bacteria tenga una multirresistencia que no es más que la resistencia bacteriana a más de un tipo de ATB. Para esto se clasifican con las siguientes siglas:

MDR: una bacteria puede ser resistente a un a tres grupos de un tipo de ATB

XDR: estos son susceptibles a uno de dos grupos de ATB

PDR: una bacteria resistente a todos los grupos de antibióticos, este grupo es el más peligroso de todos y se han descrito casos donde no existe alternativa farmacológica y los medicamentos son suspendidos indefinidamente por toxicidad llevando al paciente a la muerte.

Las dificultades actuales para el tratamiento se centran sobre todo en el ESKAPE *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsilla pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* (Rafael & Mercedes, 2015)

Estos mecanismos de resistencia los logra la bacteria debido a que altera a nivel molecular unos de los pasos para la síntesis del ATB dentro de la célula.

Tenemos que la alteración de la permeabilidad se debe a mutaciones que afectan a los canales que permiten el paso a través de la membrana externa de las bacterias

Gram negativas provocando un cambio o pérdida de la estructura de la membrana. Este puede ser la causa de resistencia de niveles muy bajos.

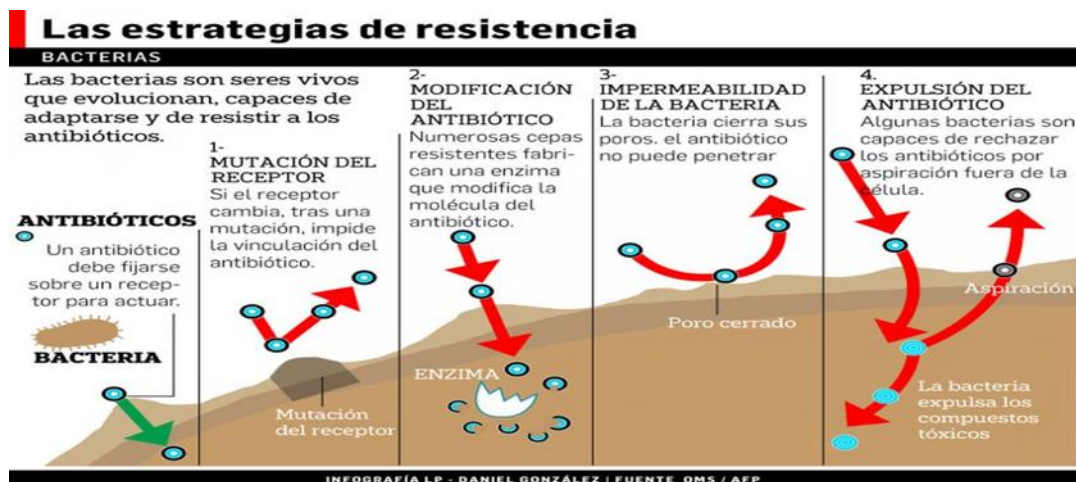
Por otro lado, hay bacterias que ya sea por resistencia intrínseca o adquisición de genes tienen sistemas de desintoxicación mediante bombas de flujo por los cuales expulsan el medicamento fuera de la célula.

Cuando la bacteria tiene la capacidad de modificar la diana en la cual el ATB funciona se debe a mutaciones específicas que pueden disminuir la afinidad con el ATB. Otra forma es que se suplante la diana por una proteína enzimática para así evitar la acción del ATB para esto se necesita la herencia de los genes capaces de codificarla. La resistencia que pueda presentarse se va elevando a medida que dichas mutaciones se van sumando a algunas de las anteriores.

Lo anteriormente mencionado se puede traducir en la capacidad de la bacteria de rechazar el antibiótico impidiendo que entre a través de su pared celular, la capacidad de desechar el antibiótico una vez dentro de la célula y la capacidad de inactivar la enzima que transporta como lo explica la siguiente imagen (Daniel, s.f.)

:

Ilustración 1: Estrategias de resistencia ATB



Frente a los escenarios anteriores es común pensar ¿existen otras alternativas frente a estas cepas bacterianas?

Actualmente existen estudios que señalan a los bacteriófagos o fagos como una medida para contrarrestar esta situación, un bacteriófago es un virus bacteriano capaz de producir una lisis de la bacteria, ellos pueden eliminar la pared bacteriana. Existen fagos distintos según el género de la bacteria que se desee ser atacada y no presentan un riesgo a la salud de animal o plantas.

“Los bacteriófagos son muy abundantes en el ambiente y pueden hallarse prácticamente en cualquier hábitat donde se desarrolle la bacteria a la que infectan. Tal es así, que se calculan que son las entidades biológicas más prolíferas de la biosfera con un total de 10^{31} partículas fágicas.

Funcionan como parásitos intracelulares que dependen de la maquinaria biosintética de la bacteria para desarrollarse. Su ciclo biológico les confiere la capacidad de actuar como agentes bactericidas.” (Fernández, Gutiérrez, & Pilar, 2017)

Capítulo 2

Capítulo 2: Parte Experimental

En el segundo capítulo del presente trabajo de título, se describen y nombran las diferentes técnicas y procedimientos microbiológicos que serán usados para determinar bacterias con resistencia a ATB junto con su correspondiente identificación.

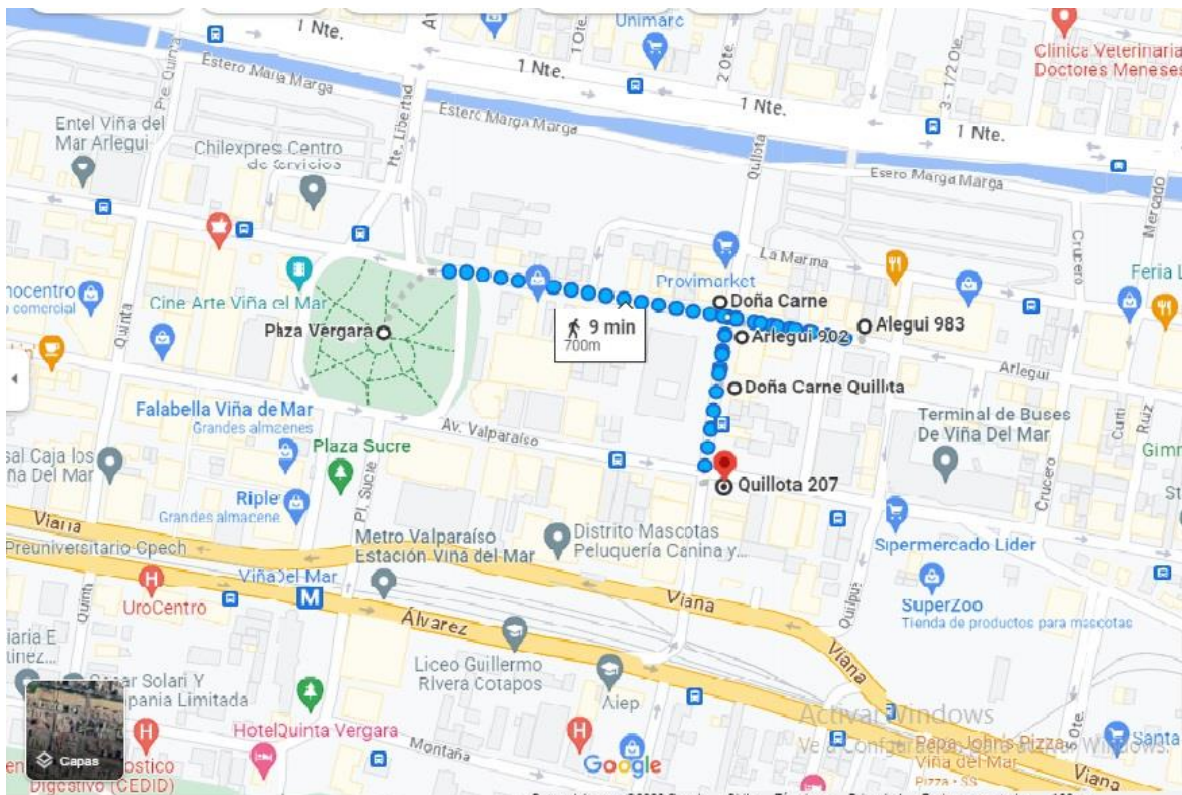
2.1 Plan de muestreo:

La primera etapa para cualquier procedimiento de laboratorio es la obtención de la muestra. El plan de muestreo es una guía que determina como se hará esta obtención de muestra, como se trasladara la muestra hasta el laboratorio y como se conservara a través del tiempo.

Existen diversos tipos de muestreo, como por ejemplo muestreo sistemático, muestreo que se caracteriza por escoger el primer elemento al azar mientras que los siguientes son escogidos por intervalos fijos dados por la norma. Muestreo estratificado, el muestreo estratificado se caracteriza por tener una población de muestreo separados en diferentes sub conjuntos de donde se escogerán los elementos que conformen la muestra a analizar, entre otros tipos de muestreo existentes. Se encuentra el muestreo al azar simple que se es aquel donde la muestra se escoge sin prejuicio del muestreador de un subconjunto más grande. La elección de este muestreo se debe a que responde de mejor manera a las necesidades de la investigación debido a que permite que la muestra sea más representativa a la hora de ser seleccionarla; además de ser un muestreo más sencillo de realizar ya que permite una elección rápida y accesible

Para la realización del muestreo se fijaron las siguientes etapas

- Lugar de muestreo: corresponde a la ubicación seleccionada donde se adquiriría la muestra, en este caso corresponden a las carnicerías Doña Carne, ubicada en Quillota 0143, 2520468 Viña del Mar comuna Valparaíso, la segunda Carnicería Doña Carne en Arlegui 889, Viña del Mar comuna Valparaíso, El Carnicero Calle Arlegui #983 Viña del mar comuna de Valparaíso, carnicería Santa Ana Arlegui 902, 2520468 Viña del Mar comuna Valparaíso, Carnicería los Joseses ubicada en Quillota 207-241, 2520513 Viña del Mar comuna Valparaíso.



2-2 mapa del rango de ubicacion de las carnicerias

Mapa de la zona de muestreo obtenido de página web <https://www.google.com/maps/dir/Plaza+Vergara+-+Arlegui,+Vi%C3%B1a+del+Mar/Do%C3%B1a+Carne+Quillota+-+Quillota+0143,+2520468+Vi%C3%B1a+del+Mar,+Valpara%C3%ADso/Do%C3%B1a+Carne+-+Arlegui+889,+Vi%C3%B1a+del+Mar,+Valpara%C3%ADso/Arlegui+983,+Vi%C3%B1a+del+Mar,+Valpara%C3%ADso/Arlegui+902,+2520468+Vi%C3%B1a+del+Mar/Quillota+207,+Vi%C3%B1a+del+Mar,+Valpara%C3%ADso/@-33.0248445,-71.5523802,17z/am=t/data=!3m1!4m3!4m37!1m5!1m1!1s0x9689de0a7e628847:0xb9435f6c4cad71f!2m2!1d->

71.5518057!2d-33.0245231!1m5!1m1!1s0x9689de754d7abff7:0x831b7dc7175eadead!2m2!1d-71.5488731!2d-33.0249111!1m5!1m1!1s0x9689df976d7b18b7:0x36ee4bf88190505d!2m2!1d-71.548988!2d-33.0243082!1m5!1m1!1s0x9689de7545c52ab1:0xe7391b3ae9d07933!2m2!1d-71.5477941!2d-33.0244748!1m5!1m1!1s0x9689de0ab28e5639:0x487c7d7b672e241!2m2!1d-71.5488153!2d-33.0245548!1m5!1m1!1s0x9689de0ace3b1415:0xc86fd78d3ce17cbc!2m2!1d-71.5489511!2d-33.025596!3e2

- **Tamaño de muestra:** corresponde a los elementos que conforman la muestra, en este caso 1 pieza de pollo por cada localización.
- **Método de muestreo:** muestreo al azar simple: que se lleva a cabo cuando se visitó las diferentes ubicaciones para adquirir el elemento de muestreo que constaba de una pieza de pollo específicamente a la pechuga del mismo donde el carnicero escogió sin prejuicio la pieza adquirida.
- **Conservación de la muestra:** se refiere al método en el que se mantendrá la muestra almacenada mientras dure el estudio microbiológico, en este caso la muestra se congela en un refrigerador.
- **Tiempo de conservación de la muestra:** el tiempo de conservación responde al tiempo que se mantiene almacenada una muestra para que mantenga sus propiedades correspondientes al momento del muestreo. En esta ocasión se estableció un tiempo máximo de conservación de una semana, considerando las diferentes eventualidades que se pudieran presentar a lo largo de la realización de los análisis, de esta forma se podría volver atras para realizar las técnicas pertinentes.

Para analizar las muestras obtenidas entran en juego los diferentes prácticos microbiológicos que se exponen a continuación, cabe recalcar que estos procesos son de la autoría docente de la universidad Técnica Federico Santa María.

2.2 Preparación de la muestra:

Cualquier muestra antes de un procedimiento debe ser preparada es decir que se encuentre en las condiciones óptimas para su análisis esto con la finalidad de homogeneizarla y lograr que sea representativa, se busca que los microorganismos queden suspendidos en una solución para posteriormente someterla a los análisis.

Esto es importante ya que de no lograr que una muestra sea homogénea cualquier análisis que se desee realizar dejara de ser representativo.

Para homogeneizar se utiliza un equipo llamado Stomacher este instrumento se encarga de mezclar una muestra en una bolsa con solución de agua peptonada. Es importante además de homogeneizar, eliminar la competencia microbiológica de los instrumentos y materiales que se vayan a utilizar para esto se usa un equipo llamado autoclave este funciona como una gran olla de presión que alcanza temperaturas de 121°C con vapor de agua, a esta temperatura cualquier microorganismo muere.

Para preparar la muestra se siguen los siguientes pasos:

Se pesan 10gr de la muestra se coloca en una bolsa de Stomacher añadiéndole a demás 90ml de agua peptonada previamente esterilizada la cual se lleva al equipo agitando a 15.000 a 20.000 rpm la solución resultante lleva el nombre de solución madre y es la que se usara para la siembra.

Este extracto se sacó del práctico RAM (recuento total de microorganismos)

2.3 Sembrado de microorganismos:

El sembrado de microorganismos es una técnica microbiológica donde se toma una alícuota y se traspasa a medios de cultivos que les darán a la bacteria las condiciones nutricionales para vivir, luego de haber conseguido una muestra homogénea se debe sembrar en medios de cultivo selectivos.

Los medios de cultivo se preparan según la proporción del fabricante se masa y se disuelven en agua destilada para luego llevarla a esterilizar en autoclave. Posteriormente se dispensa en placas Petri, los medios agar Macconkey y agar VRBD son específicos para enterobacterias, mientras que el medio conteo de placa PCA se utilizara como control es decir en caso de que otro tipo de bacterias esté presente en la muestra no se pierda en el proceso.

De la solución madre obtenida se saca una alícuota de 0.1ml la cual será depositada en placas Petri con medios de cultivo Agar conteo de placa (pca), agar Macconkey, agar VRBD Se incubara en cada placa 0.1 ml y se usaran 3 placas de cada medio esta alícuota se extenderá hasta que el medio la absorba con un asa drigalsky, esta es un asa triangular de vidrio.

Todo esto se realiza con la presencia de un mechero encendido regulado hasta conseguir la llama azul para asegurar con el calor de la llama que el medio donde se esté trabajando esté libre de microorganismos que entorpezcan el análisis debido a que alcanza temperaturas sobre los 750°C.

Se lleva a encubar a 35°C en una estufa que le da la temperatura optima para el crecimiento bacteriano por 24hrs a 48hrs

Pasado este tiempo se observan las placas y se recogen colonias aisladas y representativas de cada una de las placas sembrándolas en tubos con caldo nutritivo o bhi.

Una colonia se considera aislada cuando no se ce invadida por otra colonia que crezca a su lado, estas tienen forma redondeada y definida en una placa Petri mientras que el crecimiento bacteriano en medios de cultivos solidos como el caldo nutritivo y el calbo BHI (brain heart infusion) por sus siglas en ingles infusión de cerebro corazón se evidencia con el enturbiamiento del medio.

Lo que se busca al sembrarlas en estos medios es la proliferación y conservación bacteriana, de esta manera se podra disponer de ella las veces que sea necesario a lo largo de las pruebas microbiológicas.

2.4 Tinción de Gram

la tinción de Gram es un método de diferenciación donde se clasifican en dos grandes grupos a los microorganismos Gram + y Gram -, esto según sus características en la pared celular, estas tienen en su pared celular una barrera de péptido glicano conformado por lipopolizararidos las Gram+ tienen esta capa más gruesa que a la hora de la tinción son capaces de retener el colorante y ser fijado

una vez del lavado, por otro lado tenemos que las Gram- retendrán el segundo colorante de esta forma tenemos una diferenciación que es muy útil para el tratamiento de infecciones bacterianas ya que dependiendo de cada grupo son más o menos susceptibles a ciertos tratamientos con ATB.

Previo a la tinción Gram, un día antes se preparan tubos de ensayo con agar nutritivos que se llevan a esterilizar en autoclave, estos tubos se inclinan con el propósito de que tengan un fondo no muy abundante con el agar y una cuña más larga, con un asa que tiene forma circular en su punta llamada asa en loop se tomara un inóculo del caldo bhi o caldo nutritivo para sembrarlo en forma de zigzag que se llama estría en el agar del tubo antes preparado llevándolo a incubarse por 18 hrs.

Se deben utilizar cultivos jóvenes entre 18-24 horas, estos cultivos se hacen en agar nutritivo con tubos de cuña larga con un asa en loop se toma un poco de la biomasa que es depositada en un porta objeto con una gota de agua, esto se extiende por el vidrio y luego se fija en el mechero pasando el porta objeto por sobre la llama con precaución el calor hará que el agua se evapore fijando el frotis y matando a las células bacterianas.

Posteriormente se cubre el frotis con un colorante básico cristal violeta que le dará una tonalidad azulada o morado se deja el colorante por aproximadamente un minuto se lava con agua destilada para luego cubrirlo con la mordiente que puede ser yodo o lugol se espera nuevamente aproximadamente un minuto y se vuelve a lavar con alcohol y se aplica a la extensión el colorante safranina que teñirá el frotis de color rojo se seca y se observa al microscopio

Los diferentes tipos de cultivos se pueden diferenciar en cultivo puro y cultivo impuro: el cultivo puro se refiere a la observación de bacterias de un solo tipo en la extensión mientras que los cultivos impuros o mixtos al microscopio se verán más de un tipo de microorganismos.

Este practico es importante ya que de realizarse las pruebas bioquímicas en cultivos mixtos los resultados obtenidos serian contradictorios y no calzarían con las características de una bacteria, haciéndolo difícil de identificar.

2.5 Agotamiento por estría

Es una técnica microbiológica mediante el cual se va diluyendo el inóculo (pequeña cantidad tomada del cultivo bacteriano) que se extiende sobre una placa Petri, de esta manera se consigue colonias aisladas en los medios de cultivos específicos que corresponden a un tipo de bacteria en específico, así es como se conseguirán cultivos puros, por lo cual, si en la tinción Gram no se observaron de esta manera se procede a agotar por estría cada una de esas cepas mixtas, el sembrado por estrías se realizara en placas con agar macconkey y agar baird Parker.

Las placas se dividen en 4 cuadrantes que se sembraran usando un asa en loop, posteriormente se tomara un inóculo del tubo de ensayo con esta asa, para que este inóculo se extienda por la superficie de la placa del primer cuadrante en forma de zigzag.

Terminando con el primer cuadrante se esteriliza el asa en mechero hasta el rojo vivo, antes de volver a tomar el inóculo desde la placa el asa debe ser enfriado colocando la punta del asa en la orilla del agar con suavidad hasta dejar de escuchar el chirrido propio del agar contra el metal caliente. Desde el sembrado del anterior cuadrante se toma el siguiente inóculo extendiendo poco a poco desde la última estría que será llevada al siguiente cuadrante al terminar se vuelve a esterilizar el asa poniendo en el mechero hasta alcanzar el rojo incandescente nuevamente se enfría el asa por último se repite el proceso en los últimos dos cuadrantes sin esterilizar el asa llevando el inóculo desde la última estría poco a poco hasta el siguiente cuadrante de esta forma el inóculo se va diluyendo en la placa.

Se incuban a 35°C por 24hrs-48hrs pasado este tiempo se toma una colonia de la placa que se encuentre aislada y se incuba en caldo nutritivo para observarlo nuevamente en el microscopio buscando encontrar cultivos puros, de lo contrario se repitió el proceso hasta conseguirlo.

La utilización del agar baird Parker se debe a la observación de cocos positivos con forma de racimo de uva lo que hace sospechar de *Staphylococcus* spp.

2.6 Antibiograma

El antibiograma es un procedimiento en el que se mide la sensibilidad de una bacteria a los antibióticos, cuya forma de realizarlo es a través de cultivos jóvenes de 18hrs-24hrs, los cultivos son sembrados en un medio líquido como el caldo nutritivo incubados a 35°C.

Con el mechero encendido se usa una torula estéril que se sumerge en el caldo de cultivo dejando que se empape y retirando los restos presionando la torula estéril en las paredes del tubo de ensayo.

En una placa con agar Müller-Hilton se extiende el inóculo con la torula hasta cubrir toda la superficie del agar, la torula se desecha en una solución de sulfato de cobre CuSO_4 .

Con unas pinzas se toma el antibiótico de su contenedor y se deposita en el agar presionándolo para asegurarlo al agar terminando con esto la placa se lleva a encubar por 24hrs si la bacteria es sensible al antibiótico se mostrara como su crecimiento se ve inhibido alrededor del medicamento formando un anillo por el contrario si es resistente la bacteria seguirá su crecimiento de forma normal sin la formación de este halo.

2.7 Pruebas bioquímicas

Estas pruebas son un conjunto de prácticas microbiológicas que se utilizan para poder conocer las características metabólicas de una bacteria, de esta manera se puede utilizar los resultados para saber de qué microorganismo se trata, resultados que están determinados por la actividad de las endoenzimas y exoenzimas que posea.

Estas pruebas son: catalasa, oxidasa, hidrólisis de almidón, hidrólisis de lípidos, hidrólisis de gelatina, fermentación de carbohidratos, prueba de óxido fermentación, agar tres azúcares hierro(TSI), agar hierro lisina(LIA), pruebas IMVIC que a su vez

están compuestas por cuatro pruebas; indol- prueba de voges proskauer-prueba de citrato y medio de movilidad indol (mio), hidrolisis de lactosa y por ultimo DNASA.

Cualquiera de estas pruebas se hace en cultivos jóvenes de entre 18hs-24hrs

2.7.1 Catalasa

La catalasa es una enzima que permite la descomposición del peróxido de hidrogeno H_2O_2 luego de la acción enzimática se vuelve en $H_2O + O$ la acumulación de H_2O_2 es toxico para la célula bacteriana. Esta enzima está presente en las bacterias que presentan citocromo

Esta prueba se llevó a cabo en un cultivo joven de 18hrs-24hrs en un porta objeto se depositó una gota del cultivo a la cual se le añade una gota de peróxido de hidrogeno H_2O_2 la reacción positiva se ve con la formación de burbujas sobre el cultivo, en cuyo caso de no presentarse formación de burbujas se considera negativa.

2.7.2 Oxidasa

La oxidasa es una enzima que está presente debido a la presencia del citocromo oxidasa que como el nombre lo indica es capaz de oxidar un sustrato con la presencia de oxigeno por medio de la respiración celular.

Para la prueba de oxidasa se utilizó un papel filtro que en uno de sus extremos tiene el reactivo oxidasa, con ayuda de unas pinzas se tomó el papel y se impregno el papel con el cultivo en una placa Petri la coloración azul indico la reacción positiva por el contrario no se presenta coloración.

2.7.3 Hidrolisis de almidón

El almidón es una molécula de alto peso molecular por lo tanto para hidrolizarlo se requiere de dos enzimas la amilasa que hidroliza las dextrinas que son los

polisacáridos más cortos llegando a las moléculas de maltosa, disacáridos que son hidrolizados por la enzima maltasa rompiendo la molécula en glucosa que es de menor peso molecular haciendo capaz a la célula de transportarla a su interior.

El procedimiento se lleva a cabo en placas Petri con agar almidón que en su composición es agar nutritivo y almidón al 1% esterilizado. Con un asa en loop se toma un inóculo de un cultivo joven y se hace solo una estría a lo largo de la placa que se deja encubar de 24hrs-48hrs.

La reacción positiva se observa al agregarle lugol que al hacer contacto con el almidón se tornara azul pero la presencia de un halo incoloro alrededor de la estría se deberá a la hidrolisis del almidón, si es negativo este halo será inexistente.

2.7.4 Hidrolisis de lípidos

La hidrolisis de lípidos es una degradación las moléculas lipídicas este analisis es llevado a cabo por las enzimas extracelulares llamadas lipasas, estos compuestos contienen una gran cantidad de energía almacenada y son moléculas de alto peso molecular. La enzima lo que hace es romper los enlaces adicionando agua para formar glicerol y ácidos grasos.

Dentro de la célula estos son metabolizados en la respiración aeróbica para generar moléculas de ATP

Esta prueba se hace en placas Petri con agar tributirina previamente esterilizado, se toman inóculos de cultivos jóvenes realizando una estría a lo largo de la placa y llevándolo a encubar por 24hrs-48hrs, el microorganismo secretara la lipasa alrededor de su crecimiento hidrolizando los lípidos viéndose reflejado con una zona más clara alrededor del crecimiento bacteriano si no existe una zona más clara se deberá a que el microorganismo no presenta la enzima lipasa siendo así una reacción negativa.

2.7.5 Hidrolisis de la gelatina.

La gelatina es una molécula de alto peso molecular como para que la bacteria pueda disponer de ella fácilmente por lo que se necesitan de dos etapas para degradarlas moleculas de gelatina, la gelatinasa actúan sobre la proteína en un proceso llamado proteólisis generando así polipeptidos los cuales vuelven a ser degradados por la misma enzima obteniendo así aminoácidos.

La preparación del medio consiste en agar nutritivo más gelatina al 1% esterilizado. Cuando el medio está listo y plaqueado se realiza la siembra del microorganismo con una estría a lo largo de la placa llevando a encubárse por 24-48hrs, si el microorganismo tiene las enzimas gelatinasa se verá alrededor del crecimiento bacteriano un halo más claro cuando se le agregué el reactivo Frazier, si la reacción es negativa no habrá cambios.

2.7.6 Fermentación de carbohidratos

Los carbohidratos son moléculas de azúcares, los microorganismos pueden utilizar diferentes tipos de carbohidratos creando moléculas de ácido pirúvico y dependiendo de qué microorganismo puede utilizar la respiración aerobia o anaerobia.

Para observar esto se prepara caldo nutritivo al cual se le enriquecerá con carbohidratos específicos al 1%: xilosa, maltosa, sucrosa, glucosa, fructosa, galactosa, lactosa agregan campanas de Durham para evidenciar la producción de CO₂ ya que la producción del ácido pirúvico en casos específicos genera gas, por último se agrega el indicador azul de bromocresol y se esteriliza en autoclave con la diferencia de que se debe esterilizar por 10 minutos y no 15 minutos como se acostumbra para evitar la caramelización de los azúcares.

La reacción positiva se verá por el viraje del indicador de azul a amarillo indicando el medio ácido si es de color rojo será básico el medio.

La producción de gas se verá reflejado como burbujas en las campanas de Durham.

2.7.7 Prueba de óxido fermentación

La prueba de óxido fermentación se utiliza para saber el metabolismo de un microorganismo si es oxidativo o fermentativo de un hidrato de carbono. Para este procedimiento se necesitaran dos tubos de ensayo para el mismo microorganismo, ya que, se medirá su capacidad anaeróbica y si es capaz de utilizar un azúcar en vía oxidativa o fermentativa para esto se usa un medio semisólido con glucosa al 1% más un indicador purpura de bromocresol dispensado en tubos de ensayos.

Se debe regenerar el medio antes de usarlo calentándolos a ebullición y enfriándolos en agua con hielo y se siembra en picadura a uno de los tubos se les cubre con 2ml de parafina para crear un ambiente sin oxígeno disponible y se incuba a 35°C por 24hrs-48hrs

Si el medio es oxidado y fermentado se verá en el viraje de color a amarillo si es anaerobio o aerobio se verá si el cambio se hizo en el tubo con o sin parafina

2.7.8 Agar tres azucares hierro (TSI)

Este es un medio diferencial para enterobacterias por la fermentación de tres azucares lactosa sacarosa y glucosa con la producción de ácido sulfhídrico.

Si degradan los azucares y producen acido el medio se tornara amarillo, cuando degrada solo la glucosa queda el medio de color violeta y en el fondo se mantiene amarillo, cuando se degrada la lactosa y sacarosa producen acido teniendo el medio amarillo con formaciones de burbujas o agrietamiento del mismo llegando a romperlo

Cuando produce ácido sulfhídrico se verá por precipitado negro

La siembra se realiza en picadura en un fondo abundante y en estría en la superficie.
Los resultados se expresan de la siguiente manera

K/A: Superficie alcalina sobre fondo amarillo

A/A: Superficie acida sobre fondo acido

R/R: Sin cambios

K/K: Superficie alcalina sobre fondo alcalina

K/R: Superficie alcalina con fondo acido

2.7.9 Agar hierro lisina (LIA)

Al igual que el procedimiento anterior este es para la identificación de enterobacterias principalmente *Salmonella* y *Proteus* quienes descarboxilan la Lisina que es un aminoácido con o sin la producción de ácido sulfhídrico, se siembra por picadura en un fondo abundante y en la superficie como estría el microorganismo se encuba entre 24hrs-48hrs a 35°C los resultados se verá ya que el color amarillo del indicador del medio pasara a violeta y la aparición de ácido sulfhídrico se ve por un color negro en el tubo.

KK: Superficie y fondo alcalino evidenciado por color morado violeta

RA: Superficie de color rojo por la desaminación de la lisina fondo acida de color amarillo

KA Superficie alcalina evidenciado por color morado violeta fondo acida de color amarillo

2.7.10 pruebas IMVIC

Es un conjunto de cuatro pruebas bioquímicas que sirven para identificar diferentes tipos de microorganismos:

2.7.10.1 Indol

La prueba se realiza en caldo peptonado donde están presentes el triptófano que es un aminoácido el cual es oxidado por las bacterias creando indol que es un compuesto orgánico heterociclo aromático de fórmula C_8H_7N

El microorganismo se siembra por 24hrs-48hrs a 35°C una vez pasado ese tiempo se le agrega el reactivo Kovacs la presencia del indol se ve reflejado por un anillo de color rojo en la superficie del caldo

2.7.10.2 Prueba de rojo metilo

Esta prueba se realiza con el caldo rojo de metilo voges-proskauer (RM/VP) esto se debe a que una bacteria suele tener un vía metabólica en este caso se desea comprobar la vía ácido mixta buscando la concentración de iones de hidrógeno que se presenta cuando una bacteria catabólica la glucosa, produciendo un medio ácido del tipo fórmico

El microorganismo se siembra se lleva en cubar por 24-48hrs pasado el tiempo se hace la lectura agregándole el indicador rojo, el resultado positivo es cuando presenta un precipitado de color rojo.

2.7.10.3 Prueba de Voges-Proskauer

Se utiliza el medio antes mencionado caldo RM/VP en esta prueba se verá si el microorganismo tiene la vía metabólica butilén glicólica lo que quiere decir que a diferencia de la prueba anterior no se busca que tenga como resultados compuestos ácidos sino mas bien básicos como son butanodiol y el etanol y acetonas

De la misma forma se siembra durante 24hrs-48hrs al cabo del tiempo se le agregan de 6 a 8 gotas de KOH si la reacción es positiva se formara un precipitado rojo.

2.7.10.4 Prueba del citrato

Se mide la habilidad del microorganismo de utilizar el citrato como fuente de carbono mediante la enzima citrato permeasa que permite su paso al interior de la célula, cuando esto sucede el medio vira de color verde a azul por la alcalinización del medio, la siembra se hace en forma de estría incubándose durante 24hrs-48hrs.

2.7.11 medio de movilidad, indol y ornitina

Se trata de un medio diferencial y semisólido donde se pone a prueba la capacidad del microorganismo por moverse a través del medio y la utilización de la ornitina por medio de la ornitina descarboxilasa, se siembra en picadura y se incuba a 35°C por 24-48hrs al ser un medio semisólido la movilidad se verá por un enturbiamiento del medio a partir de punción y la reacción de la enzima se observa por el viraje del indicador de morado a verde o incluso tonalidades más claras. Lo cual sucede, ya que, el microorganismo fermenta la dextrosa descendiendo el pH del medio.

2.7.14 Hidrolisis de la lactosa

Es la reacción mediante la cual se rompe los enlaces de lactosa con el fin de obtener azúcares, Este procedimiento se hace por medio del agar macconkey ya que debido a su composición de sales biliares, lactosa, rojo neutro y cristal violeta la bacteria al hidrolizar la lactosa toma el color rojo del medio cuando la bacteria no hidroliza la lactosa la colonia se vuelve translúcida o incolora.

2.7.13 DNASA

La DNASA es una enzima que degrada la molécula de ADN, existen bacterias que son capaces de degradar el DNA con la enzima desoxirribonucleasa que despolariza el ADN para realizar esta técnica se prepara el medio agar DNASA el cual se lleva a esterilizar por medio del autoclave y luego de plaquar y secar se puede sembrar la bacteria inoculándola con una única estría gruesa llevándolo para posteriormente se lleva a incubarse por 24hrs.

Por ultimo la lectura se realiza agregándole a la estría HCL 0,1N, si el resultado es positivo se verá un halo más claro alrededor de la estría por el contrario el resultado negativo no presentara este halo.

2.8 materiales utilizados durante los procedimientos microbiológicos

Materiales Utilizados	Equipos Utilizados	Reactivos Utilizados	Medios de Cultivos Utilizados
Tubos de ensayo	Stomacher	Frazier	Caldo peptonado
Asa en loop	Microscopio	Colorante cristal	Agar nutritivo
Gradilla	Autoclave	violeta	Caldo nutritivo
Bolsas para stomacher	Mechero bunsen	Lugol	Agar macconkey
Placas petri	Estufa	Peróxido de	Agar vrbd
Asa de Drigalsky	Refrigerador	hidrógeno H2 O2	Agar tsi
Pinzas metálicas		Colorante	Agar simon citrat
Asa recta		safranina	Caldo rm/vp
Campanas de		reactivo Kovacs	Agar mio
Durham		Reactivo KOH	Agar DNASA
Parafina liquida		HCL	
Porta objeto		Etanol	

Tabla 1 materiales, equipos, reactivos y medios de cultivos utilizados

Capitulo 3

Capítulo 3: análisis de resultados

En el tercer capítulo de este trabajo de título se encontraran una pequeña presentación de las cepas que se lograron aislar, dando detalles de los medios y la muestra de las que se obtuvieron, junto con su morfología bacteriana por medio de la tinción Gram, además se darán a conocer los resultados de las practicas microbiológicas que se utilizó para determinar la resistencia bacteriana a los antibióticos y las técnicas que se empleadas para identificar cada cepa resistente, por último se presentan las fotos tomadas en el laboratorio de cada uno de los análisis a los que se le sometieron durante el trabajo.

Se tomaron un total de cinco muestras en comercios locales distribuidos aleatoriamente en la ciudad de las cuales se pudieron aislar un total de 59 cepas a las cuales se les sometieron a las pruebas bioquímicas antes descritas a continuación se describirán los resultados obtenidos.

Las cepas llevan el nombre según el medio del que se tomó la colonia, el número de la colonia y el número de la muestra.

- Entonces tenemos que en la primera muestra que fue recolectada en una carnicería Doña Carne un total de 21 cepas distintas⁶ de estas corresponden al medio VRBD, 10 fueron sacadas del medio Macconkey,

5 de las cepas restantes al medio PCA, Las cuales son:

Medio de Cultivo VRBD	Medio de Cultivo Macconkey	Medio de Cultivo PCA
1c vrbd 1m	1c mac 1m	1cpca 1m
2c vrbd 1m	2c mac 1m	2cpca 1m
4c vrbd 1m	3c mac 1m	3cpca 1m
5c vrbd 1m	4c mac 1m	5cpca 1m
6c vrbd 1m	5c mac 1m	6cpca 1m.
7c vrbd 1m	6c mac 1m	

	7c mac 1m	
	8c mac 1m	
	10c mac 1m	
	11c mac 1m.	

Tabla 2 cepas obtenidas de la primera muestra

Como se puede apreciar en esta muestra hubo un gran número de UFC que además su crecimiento fue en un tiempo muy breve antes de las 24hrs, lo cual nos habla de una mala manipulación de los alimentos.

- En la segunda muestra tomada en una carnicería Doña Carne diferente a la anterior para ver si era posible duplicar los resultados en la carga bacteriana obtenida se recolectaron un total de 8 cepas las que corresponden a:

4 cepas del agar Macconkey y 4 cepas del agar PCA las cuales son:

Medio de Cultivo Macconkey	Medio de Cultivo PCA
1c mac 2m	1c pca 2m
2c mac 2m	2c pca 2m
3c mac 2m	3c pca 2m
4c mac 2m	4c pca 2m.

Tabla 3 cepas obtenidas de la segunda muestra

- En la tercera muestra obtenida de la carnicería El Carnicero se extrajeron un total de 8 cepas distintas que corresponden a:

4 cepas del agar VRBD, 1 cepa del agar Macconkey y 3 cepas del agar PCA:

Medio de Cultivo VRBD	Medio de Cultivo Macconkey	Medio de Cultivo PCA
----------------------------------	---------------------------------------	---------------------------------

3c vrbd3m	3c mac 3m	1cpca3m
4c vrbd 3m		2cpca3m
5c vrbd 3m		3cpca3m
6c vrbd 3m		

Tabla 4 cepas obtenidas de la tercera muestra

En la cuarta muestra obtenida de la carnicería santa teresita se lograron conseguir un total de 12 cepas que corresponden a:

5 cepas del agar VRBD, 3 cepas del agar Macconkey y 4 cepas del agar PCA:

Medio de Cultivo VRBD	Medio de Cultivo Macconkey	Medio de Cultivo PCA
1c vrbd 4m	1c mac 4m	1c pca 4m
2c vrbd 4m	2c mac 4m	2c pca 4m
3c vrbd 4m	3c mac 4m	3c pca 4m
4c vrbd 4m*		4c pca 4m
4c vrbd 4m-		

Tabla 5 cepas obtenidas de la cuarta muestra

Por ultimo la quinta muestra fue recogida de una carnicería El Carnicero diferente al anterior donde fueron recogidas un total de 10 cepas que corresponden a:

4 cepas del agar VRBD, 3 cepas del agar macconkey y 3 cepas del agar PCA:

Medio de Cultivo VRBD	Medio de Cultivo Macconkey	Medio de Cultivo PCA
1c vrbd 5m	1c mac 5m	1c pca 5m
2c vrbd 5m	2c mac 5m	2c pca 5m
3c vrbd 5m	3c mac 5m	3c pca 5m
4c vrbd 5m		

Tabla 6 cepas obtenidas en la quinta muestra

De esta forma por ejemplo: 1 c vrbd 1m corresponde entonces a la primera colonia sacado del medio vrbd de la primera muestra.

3.1 Resultados Tinción de Gram

Teniendo un total de 59 cepas aisladas de las cuales se les hizo tinción de Gram, sus resultados se exponen a continuación

Nombre	Tinción	
1c vrbd 1m	bacilos negativos	
2c vrbd 1m	bacilos positivos	
4c vrbd 1m	cocos positivos	
5c vrbd 1m	cocos positivos simples	
6c vrbd 1m	bacilos negativos	
7c vrbd 1m	cocos positivos ovalados presenta una forma muy extraña	
1c mac 1m	cocos positivos simples	
2c mac 1m	bacilos positivos	
3c mac 1m	Bacilos positivos	

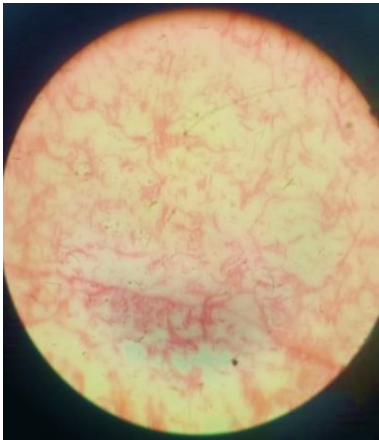
4c mac 1m	Cocos simples	
5c mac 1m	bacilos positivos	
6c mac 1m	bacilos positivos	
7c mac 1m	cocos positivos	
8c mac 1m	bacilos negativos	
10c mac 1m	Cocos positivos simples	
11c mac 1m	basilos negativos	
1cpca 1m	cocos positivos simples	
2cpca 1m	bacilos negativos	
3cpca 1m	bacilos negativos	
4cpca 1m	basilos negativos	
5cpca 1m	Basilos positivos	
6cpca 1m	bacilos negativos	
1c mac 2m	cocos positivos simples	
2c mac 2m	bacilos negativos	

3c mac 2m	Cocos positivos simples	
4c mac 2m	bacilos negativos	
1c pca 2m	Bacilos positivos	
2c pca 2m	cocos positivos simples	
3c pca 2m	cocos positivos forma de uva	
4c pca 2m	cocos positivos simples	
3c mac 3m	Bacilos positivos	
1cpca3m	cocos positivos simples	
2cpca3m	Cocos positivos en forma de uva	
3cpca3m	bacilos negativos	
3c vrbd3m	bacilos positivos	
4c vrbd 3m	bacilos negativos	
5c vrbd 3m	Bacilos negativos	
6c vrbd 3m	cocos positivos simples	
1c mac 4m	bacilos negativos	
2c mac 4m	bacilos positivos	

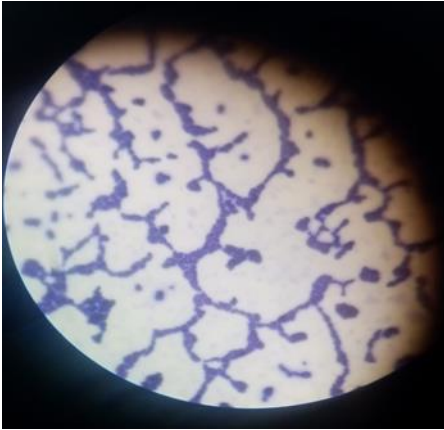
3c mac 4m	bacilos positivos	
1c vrbd 4m	cocos positivos	
2c vrbd 4m	bacilos negativos	
3c vrbd 4m	cocos positivos	
4c vrbd 4m*	bacilos negativos	
4c vrbd 4m-	bacilos negativos	
1c pca 4m	cocos positivos	
2c pca 4m	cocos positivos	
3c pca 4m	cocos positivos	
4c pca 4m	Bacilos positivos	
1c vrbd 5m	bacilos positivos	
2c vrbd 5m	cocos positivos	
3c vrbd 5m	cocos simples positivos	
4c vrbd 5m	Basilos negativos	
1c mac 5m	bacilos positivos	

2c 5m	mac	cocos racimos de uva positivos	
3c 5m	mac	cocos simples positivos	
1c 5m	pca	cocos simples positivos	
2c 5m	pca	cocos simples positivos	
3c 5m	pca	cocos simples positivos	

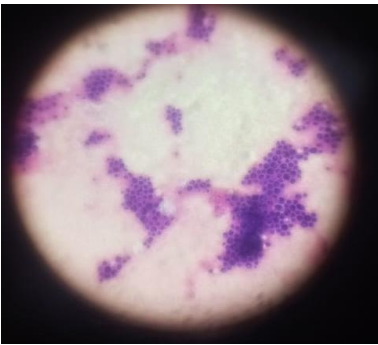
A continuación se presentara diferentes fotografías tomadas desde el microscopio de algunas de las cepas observadas



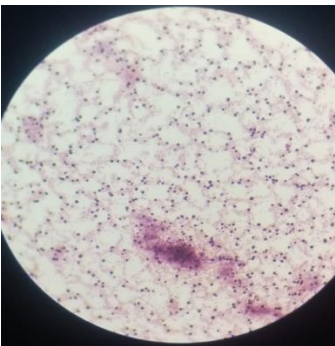
3 tincion gram bacilos negativos



4 tincion gram coco positivos con forma de racimos de uva



5 tincion gram cocos positivos



6 tincion gram cocos positivos



7 tinciongram cacos positivos

3.2 resultados antibiograma

Una vez se obtuvo cultivos puros a cada una de estas sepas se les realizo el antibiograma sometiéndolas a doce antibióticos diferentes: Ampicilina, Cloranfenicol, Gentamicina, Vancomicina Tetraciclina Amoxicilina, Eritromicina, Rifampicina, Estreptomina, Sulfametoxazol Trimetoprima, Acido Naladixico, Clindamicina de los cuales se obtuvieron los siguientes resultados los halos se midieron en centímetros (cm) la cual será dividida en dos partes las siglas NA se utiliza para señalar que no quedaba antibiótico para usar.

	Ampicilina AMP10	Cloranfenicol C30	Gentamicina CN10	Vancomicina VA30	Tetraciclina TE30	Amoxicilina AMC30
1c vrbd 1m	2,5cm	1,5cm	3cm	2cm	2cm	2cm
2c vrbd 1m	2cm	3cm	2,8cm	2,5cm	3cm	2,5cm
4c vrbd 1m	resistente	resistente	resistente	resistente	2,5cm	3,5cm
5c vrbd 1m	2cm	3cm	2,5cm	2,5cm	1cm	2,3cm
6c vrbd 1m	2cm	1,5cm	3cm	2cm	2,5cm	3,8cm
7c vrbd 1m	resistente	resistente	resistente	resistente	2,5cm	2,7cm
1c mac 1m	2,5cm	4cm	3cm	resistente	2,4cm	3,5cm
2c mac 1m	3cm	2,5cm	2cm	2cm	3cm	2cm

5c mac 1m	2,7cm	1,7cm	3cm	2cm	2,4cm	2cm
6c mac 1m	resistente	1,5cm	3,5cm	resistente	2,5cm	3cm
7c mac 1m	2cm	3cm	2,8cm	1,5cm	2,5cm	2,6cm
8c mac 1m	2cm	2cm	3cm	2,3cm	2cm	2cm
10c mac 1m	2,5cm	1,7cm	3cm	resistente	2,5	3,5cm
11c mac 1m	2cm	2,3cm	2,5cm	1,8cm	2,5cm	3cm
1cpca 1m	NA	NA	NA	NA	2,5cm	2cm
2cpca 1m	2,7cm	1,5ccm	2,7cm	2cm	2cm	2cm
3cpca 1m	NA	NA	NA	NA	2,3cm	3,5cm
4cpca 1m	3 cm	2,5cm	3,5cm	resistente	2,5cm	4cm
5cpca 1m	2,3cm	1,5cm	2,5cm	2cm	2,5cm	2,8cm
6cpca 1m	1,5cm	2cm	2,8cm	2cm	2cm	2,4cm
1c mac 2m	3cm	1,8cm	2cm	2cm	2cm	1cm
2c mac 2m	5,5c,m	4cm	2,5cm	2,3cm	2cm	1,5cm
4c mac 2m	3,5cm	2cm	2,8cm	2cm	1,5cm	1,5cm
1c pca 2m	2,8cm	2,4cm	3cm	2,4cm	2cm	4,5cm+
2c pca 2m	2cm	3cm	3cm	2,5cm	2,4cm	3,5cm
3c pca 2m	3cm	3 cm	3cm	2,5cm	3cm	3,5cm
4c pca 2m	3,7cm	2,3 cm	3cm	2,5cm	NA	NA
5c pca 2m	1 cm	3cm	2,8cm	2,5cm	2,5cm	4,5cm
3c mac 3m	3,5cm	2cm	2,5cm	2cm	NA	NA
1cpca3m	3,3cm	2,5cm	3,5cm	2,5cm	NA	1,8cm
2cpca3m	2,5cm	2,4cm	3cm	2,8cm	1,5cm	2cm
3cpca3m	resistente	3cm	2,5cm	resistente	1,5cm	1,5cm
3c vrbd3m	3cm	2,2cm	2,7cm	2,4cm	1,5cm	2cm
4c vrbd 3m	3,5cm	2,3cm	2,5cm	2,3cm	1,4cm	2cm
5c vrbd 3m	3,5cm	2cm	2,7cm	2,4cm	2cm	3,4cm
6c vrbd 3m	NA	NA	NA	NA	1,5cm	3,5cm

1c mac 4m	4cm	1,3cm	3cm	2,5cm	1,5cm	1,5cm
2c mac 4m	NA	NA	NA	NA	2,5cm	NA
3c mac 4m	2,5cm	3cm	2cm	resistente	2,5cm	4cm
1c vrbd 4mbhip	4,4cm	6mm	3,8cm	2,6cm	2,5cm	4cm
1c vrbd 4m	8mm	1cm	1,4cm	1cm	2,8cm	4,8cm
2c vrbd 4m	1cm	3cm	1,8cm	1cm	2cm	2,5cm
3c vrbd 4m	3,5cm	2cm	2,5cm	2cm	1,8cm	2,7cm
4c vrbd 4m-	2cm	3cm	2cm	resistente	1,5cm	2,2cm
4c vrbd 4m*	3,4cm	1cm	2,5cm	2cm	2,5cm	3,5cm
1c pca 4m	3cm	1,5cm	2,7cm	2cm	1,5cm	2,5cm
2c pca 4m	1,5cm	3cm	2,5cm	8mm	2,5cm	3,9cm
3c pca 4m	1cm	3cm	3cm	1cm	3cm	4cm
2c vrbd 5m	3,5cm	2,2cm	3cm	2,4cm	2,5cm	2,8cm
3c vrbd 5m	3,5cm	1,0cm	3cm	2,5cm	2,5cm	3,5cm
4c vrbd 5m	NA	NA	NA	NA	NA	NA
5c vrbd 5m	3cm	1,8cm	2,5cm	2cm	3cm	3,5cm
1c mac 5m	3,2cm	1,5cm	3,0cm	2cm	2,7cm	3,8cm
2c mac 5m	3cm	1,5cm	2,5cm	2cm	1,7cm	2,7cm
3c mac 5m	2cm	2,5cm	3cm	9mm	2cm	1,8cm
1c pca 5m	3,8cm	2cm	3cm	2cm	2cm	4cm
2c pca 5m	3cm	1,8cm	3cm	2cm	4cm	5cm+
3c pca 5m	3,5cm	2cm	2,8cm	2,4cm	2cm	NA

Tabla 7 resultados antibiograma 1/2

	Eritromicina E15	Rifampicina RD5	Estreptomicina S10	Sulfametoxazol Trimetoprima SXT25	Naladixico NA30	Clindamicina
1c vrbd 1m	1cm	2,5cm	1,5cm	4,2cm	2,2cm	4cm
2c vrbd 1m	2cm	2,5cm	1,5cm	4cm	2cm	1cm
4c vrbd 1m	2cm	2cm	1,5cm	5cm	2,3cm	4,5cm
5c vrbd 1m	1,5cm	1cm	2,5cm	4,3cm	2,5cm	4cm
6c vrbd 1m	1,5cm	1cm	2cm	5cm	2cm	3,5cm
7c vrbd 1m	3,5cm	2,3cm	1,5cm	4cm	2cm	4,2cm
1c mac 1m	2,5cm	2cm	1,7cm	2,5m	2,2cm	4cm
2c mac 1m	2,4cm	2,5cm	1cm	4,3cm	2,3cm	4,5cm
5c mac 1m	1,5cm	2,3cm	1,5cm	4,6cm	2,3cm	4,5cm
6c mac 1m	1cm	1,5cm	1,5cm	3cm	2,5cm	7mm
7c mac 1m	3cm	3,5cm	1,5cm	4cm	1cm	1,5cm
8c mac 1m	8mm	2cm	2cm	4,5cm	2,3cm	4cm
10c mac 1m	3cm	2cm	1,5cm	4,5cm	2,5cm	4cm
11c mac 1m	resistente	2cm	2,2cm	4,2cm	2,4cm	3,3cm

1cpca 1m	1cm	1,5cm	NA	NA	NA	NA
2cpca 1m	1cm	NA	2cm	5cm	2,5cm	4cm
3cpca 1m	3cm	2cm	1,5cm	4cm	9mm	9mm
4cpca 1m	3cm	2,4cm	2cm	4cm	1,8cm	8mm
5cpca 1m	3,8cm	2,4cm	1,5cm	4,5cm	2cm	4cm
6cpca 1m	1cm	1,2cm	2cm	NA	NA	NA
1c mac 2m	1,5cm	1,5cm	2,5cm	4,5cm	2,4cm	3,5
2c mac 2m	1cm	1cm	1,5cm	2,8cm	2cm	resistente
4c mac 2m	8mm	1cm	1,5cm	4,4cm	2cm	4cm
1c pca 2m	4cm+	2,5cm	2,5cm	3cm	2,5cm	4cm
2c pca 2m	3,5cm	2cm	2,5cm	4cm	2,5cm	3,4cm
3c pca 2m	5cm+	4,5cm	2cm	4,5cm	2,4cm	4,3cm
4c pca 2m	NA	NA	NA	4cm	2cm	4cm
5c pca 2m	4cm	2,5cm	2cm	4,5cm	2,5cm	4cm
3c mac 3m	NA	NA	NA	4,5cm	2,5cm	3cm
1cpca3m	8mm	8mm	1,5cm	5cm	2cm	4cm

2cpca3m	8mm	2cm	NA	4cm	2,5cm	4cm
3cpca3m	1cm	8mm	1cm	3cm	2cm	4cm
3c vrbd3m	8mm	8mm	NA	2,7cm	2cm	4cm
4c vrbd 3m	1cm	8mm	NA	2,7cm	2,5cm	4,3cm
5c vrbd 3m	3cm	2cm	NA	4,5cm	2cm	3,7cm
6c vrbd 3m	4cm	3cm	NA	4,1cm	2cm	3,5cm
1c mac 4m	8mm	NA	1,5cm	3cm	2,5cm	4cm
2c mac 4m	1cm	NA	NA	2,5cm	2,7cm	3,3cm
3c mac 4m	4cm	NA	1,5cm	2,5cm	3,4cm	resistente
1c vrbd 4mbhip	3,5cm	NA	1,5cm	NA	NA	NA
1c vrbd 4m	4cm	2,5cm	2cm	4,5cm	2cm	4cm
2c vrbd 4m	1cm	NA	1,5cm	4,5cm	2cm	4cm
3c vrbd 4m	1,2cm	NA	2cm	4,5cm	2cm	3,7cm
4c vrbd 4m-	8mm	NA	NA	2,7cm	2,2cm	4cm
4c vrbd 4m*	3,5cm	NA	1,5cm	2,5cm	2cm	resistente
1c pca 4m	1cm	NA	1,7cm	4cm	1,8cm	3cm

2c 4m	pca	3,7cm	NA	1,7cm	3cm	2,5cm	4,5cm
3c 4m	pca	4cm	2,3cm	NA	2,9cm	2cm	4cm
2c 5m	vrbd	4cm	NA	2,5cm	4cm	2cm	2,5cm
3c 5m	vrbd	4cm	NA	2cm	4,5cm	2,5cm	4cm
4c 5m	vrbd	NA	NA	NA	3cm	2,3cm	4cm
5c 5m	vrbd	3,5cm	NA	NA	4cm	2cm	2cm
1c 5m	mac	4,7cm	NA	NA	3cm	2,3cm	4cm
2c 5m	mac	4cm	NA	2,4cm	4,2cm	2cm	4,7cm
3c 5m	mac	1cm	NA	NA	4,5cm	2,1cm	3cm
1c 5m	pca	4cm	NA	2,5cm	2,5cm	2,5cm	8mm
2c 5m	pca	5cm+	NA	NA	4,5cm	2,3cm	4,7cm
3c 5m	pca	8mm	NA	NA	5,5cm	2,7cm	5cm

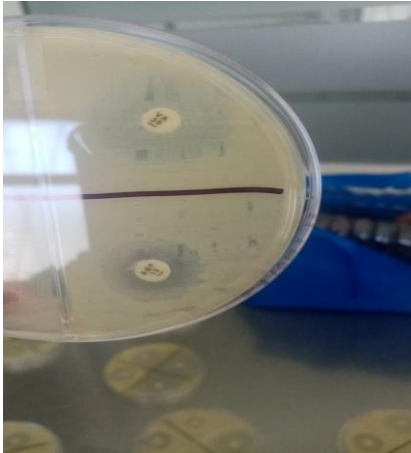
Tabla 8 resultados antibiograma 2/2

Como podemos apreciar en la tabla de resultados un total de once cepas resistentes a antibióticos, las cuales corresponden a:

- 4c VRBD 1m bacteria Gram + de forma cocácea simple muestra resistencia a 4 ATB distintos: ampicila AMP10 chloramphenicol C30 gentamicin CN10 Vancomycin VA30

- 7c vrbd 1m Gram + con forma extraña similar los cocobacilos: es resistente a un total de 4 antibioticos: ampicila AMP10 chloramphenicol C30 gentamicin CN10 vancomycin VA30
- 10c mac 1m Gram + de forma cocacia simple muestra resistencia a un atb vancomycin VA30.
- 6c mac 1m bacteria Gram + de forma bacilar resistente a dos atb distintos ampicila AMP10 y a vancomycin VA30.
- 4cpca 1m esta bacteria es Gram - con forma bacilar mostro resistencia a vancomycin VA30
- 2c mac 2m bacteria Gram - de forma bacilar resistente a un solo antibiótico la clindamycin DA2.
- 3cpca3m Gram- de forma bacilar resistente a dos antibióticos en total: ampicila AMP10 y vancomycin VA30.
- 11c mac 1m Gram negativos de forma bacilar mostro resistencia a un solo atb eritromicina E15
- 3c mac 4m Gram + de forma bacilar resistente a dos atb: vancomycin VA30 y clindamycin DA2
- 4c vrbd 4m- bacteria Gram – de forma bacilar mostro resistencia a un solo antibiótico la vancomycin VA30.
- 4c vrbd 4m* bacteria Gram – de forma bacilar mostro resistencia a un solo antibiótico clindamycin DA2.

A continuación se observan fotos correspondientes a este análisis

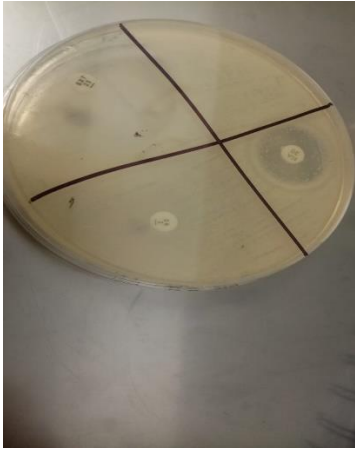


8-3 crecimiento bacteriano con doble halo de crecimiento

En la anterior imagen se puede apreciar como el crecimiento bacteriano fue interrumpido en primera instancia por la acción del medicamento pero se puede apreciar un doble halo de inhibición donde la biomasa bacteriana avanzo hasta que se vio interrumpida nuevamente.

Esto se debe a que en primera instancia las bacterias que fueron inoculadas en el medio de cultivo eran sensibles a ese medicamento pero las bacterias que siguieron reproduciéndose generaron mecanismos para eludir al medicamento, en esta ocasión las no han generado mecanismos que pudieran mantener en el tiempo sin embargo ese resultado del análisis evidencia in situ el riesgo de que una bacteria genere mecanismos de resistencia a los antibióticos de forma rápida.

A las bacterias que en un inicio eran sensibles a un medicamento pero con el tiempo se evidencia una reducción de esta sensibilidad o derechamente su resistencia se les laman bacterias mutante, pues mutan cambian sus mecanismos de defensa contra un bactericida



9-3 bacteria resistente a clindamicina

La bacteria expuesta en esta foto se puede apreciar claramente como prolifera en el medio sin la existencia de un halo lo que evidencia que ese antibiótico en específico ya no surge efecto para el tratamiento de esa bacteria.



10-3 bacteria resistente a ampicilina, clonanfencol, gentamicina y vancomicina

Esta bacteria muestra resistencia a 4 antibióticos diferentes en esta placa Petri podríamos estar hablando de una súper bacteria, este nombre se las llevan aquellas bacterias que muestran una resistencia a la mayoría de antibióticos a los que se puede acceder.



11-3 bacterias resistentes a distintos antibióticos

En la anterior foto podemos apreciar distintas placas de Petri sembradas con distintas bacterias mostrando todas la resistencia de al menos un antibiótico.



12-3 ejemplos de distintos antibiogramas

En la imagen anterior se evidencia una pequeña parte de las placas utilizadas en la técnica microbiológica.

3.3 Resultados Pruebas bioquímicas

Las cepas bacterianas antes mencionadas a las que se le determino resistencia a al menos un antibiótico se les sometió a pruebas bioquímicas para poder ser

identificadas, dichos resultados se expondrán en la siguiente tabla que será dividida en 7 partes.

Nom bre	tincion gram	catal asa	oxida sa	citra to	rojo de metilo	voges pakeu r
4c vrbd 1m	cocos positivos simples	-	+	-	+	-
7c vrbd 1m	cocos positivos similar a cocobacilos	-	+	+	+	-
10c mac 1m	cocos positivos simples	-	+	-	+	-
6c mac 1m	bacilos positivos	+	+	+	+	-
3c mac 4m	bacilos positivos	-	-	+	+	-
4cpc a 1m	basilos negativos	-	-	+	+	-
3cpc a3m	basilos negativos	-	+	+	-	+
11c mac 1m	basilos negativos	-	+	+	-	+

2c mac 2m	bacilos negativos	+	-	+	-	+
4c vrbd 4m-	bacilos negativos	+	-	+	+	-
4c vrbd 4m*	bacilos negativos	+	-	+	+	-

Tabla 9 resultados pruebas bioquimicas 1/7

	MIO		
Nombre	movilidad	indol	D.ornitina
4c vrbd 1m	-	-	-
7c vrbd 1m	-	-	-
10c mac 1m	-	-	-
6c mac 1m	+	-	-
3c mac 4m	-	+	-
4cpca 1m	-	-	-
3cpca3m	-	+	-
11c mac 1m	-	-	-
2c mac 2m	-	-	-

4c vrbd 4m-	+	+	+
4c vrbd 4m*	+	+	+

Tabla 10 resultados pruebas bioquímicas 2/7

Se puede observar en los resultados anteriores que todas aquellas sepas que corresponden a cocos no presentan movilidad, esto debido a que no tienen flagelos que puedan ayudarles a movilizarse por el medio, en contraste con aquellos que si tienen forma basilar y son móviles nos habla de la presencia de flagelo en la estructura celular.

	TSI			LIA	
Nombre	sup/fondo	Gas	H2S	sup/fondo	H2S
4c vrbd 1m	K/A	-	-	n/a	-
7c vrbd 1m	K/A	-	-	n/a	-
10c mac 1m	A/A	+	-	n/a	-
6c mac 1m	A/A	-	-	n/a	-
4cpca 1m	A/A	-	-	n/a	-
11c mac 1m	K/A	-	+	n/a	-
2c mac 2m	R/R	-	-	n/a	-
3cpca3m	K/A	-	-	n/a	-
3c mac 4m	K/A	+	-	n/a	-

4c vrbd 4m-	K/A	-	-	n/a	-
4c vrbd 4m*	K/A	-	-	n/a	-

Tabla 11 resultados pruebas bioquímicas 3/7

	oxidacion de carbohidratos						
Nombre	xilosa	maltosa	sucrosa	glucosa	fructosa	galactosa	lactosa
4c vrbd 1m	básico	alcalino	acido	básico	alcalino	alcalino	alcalino
7c vrbd 1m	básico	alcalino	alcalino	básico	básico	básico	básico
10c mac 1m	acido	básico	acido	básico	alcalino	básico	básico
6c mac 1m	acido	acido	acido	básico	alcalino	alcalino	básico
4cpca 1m	básico	básico	alcalino	alcalino	alcalino	básico	básico
11c mac 1m	básico	alcalino	alcalino	alcalino	acido	alcalino	básico
2c mac 2m	básico	básico	acido	acido	alcalino	básico	alcalino
3cpca3 m	alcalino	básico	alcalino	acido	alcalino	alcalino	alcalino
3c mac 4m	básico	básico	básico	básico	básico	acido	básico
4c vrbd 4m-	acido	alcalino	acido	básico	básico	alcalino	acido
4c vrbd 4m*	acido	acido	acido	acido	básico	acido	alcalino

Tabla 12 resultados pruebas bioquimicas 4/7

Nombre	hidrolisis del almidón	Hidrolisis de gelatina
4c vrbd 1m	-	+
7c vrbd 1m	-	+
10c mac 1m	-	+
6c mac 1m	-	-
4cpca 1m	-	-
11c mac 1m	-	+
2c mac 2m	-	+
3cpca3m	-	+
3c mac 4m	-	+
4c vrbd 4m-	-	+
4c vrbd 4m*	-	+

Tabla 13 resultados pruebas bioquimicas 5/7

	oxido fermentacion	
Nombre	tuvo abierto	tuvo cerrado
4c vrbd 1m	amarillo	amarillo
7c vrbd 1m	amarillo	amarillo

10c mac 1m	amarillo	amarillo
6c mac 1m	amarillo	amarillo
4cpca 1m	amarillo	amarillo
11c mac 1m	amarillo	amarillo
2c mac 2m	amarillo	amarillo
3cpca3m	amarillo	amarillo
3c mac 4m	amarillo	amarillo
4c vrbd 4m-	amarillo	amarillo
4c vrbd 4m*	amarillo	amarillo

Tabla 14 resultados pruebas bioquímicas 6/8

Aquí podemos apreciar que todas las cepas presentan el mismo mecanismo fermentativo.

Nombre	DNASA
4c vrbd 1m	-
7c vrbd 1m	-
10c mac 1m	-

6c mac 1m	-
4cpca 1m	-
11c mac 1m	-
2c mac 2m	-
3cpca3m	-
3c mac 4m	-
4c vrbd 4m-	-
4c vrbd 4m*	-

Tabla 15 resultados pruebas bioquímicas 7/7

Como se puede apreciar en la tabla anterior ninguna cepa tiene la capacidad de degradar el DNA, es decir que carece de la enzima DNASA los microorganismos característicos que tienen esta encima son los *Staphylococcus* spp por lo que se descarta nuevamente su presencia en las cepas encontradas que tienen resistencia a algún antibiótico.

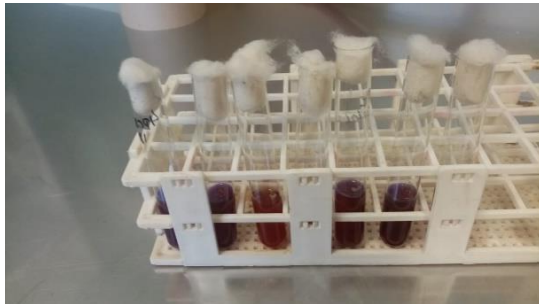
A continuación se presentan fotos tomadas de las pruebas realizadas a cada una de las cepas.

4cpca1m



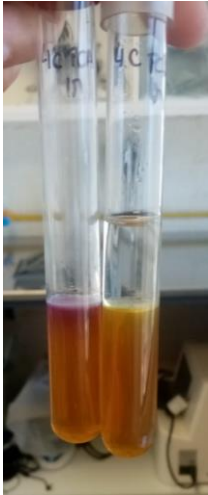
13-3 pruebas imvic 4cpca1m

En la imagen que se presenta anteriormente podemos apreciar cómo reacciona el cultivo bacteriano presente a los medios de cultivo a los que se les somete.



14-3 fermentacion de carbohidratos 4cpca1m

La fermentación de carbohidrato se evidencia con la coloración amarilla en el medio lo que se traduce en esta ocasión que no fermenta ninguno de los carbohidratos que se utilizaron.



15-3 oxido fermentación 4cpca1m

En la práctica de laboratorio oxido fermentación una coloración amarilla en ambos tubos nos habla de que el microorganismo fermentativo.



16-3 hidrolisis de gelatina 4cpca

El halo que se aprecia en el agar evidencia que la bacteria pudo utilizar la gelatina como nutriente lo que se traduce en el cambio de opacidad en el medio cuando se revela con el reactivo.



17-3 hidrolisis de almidón 4cpca1m

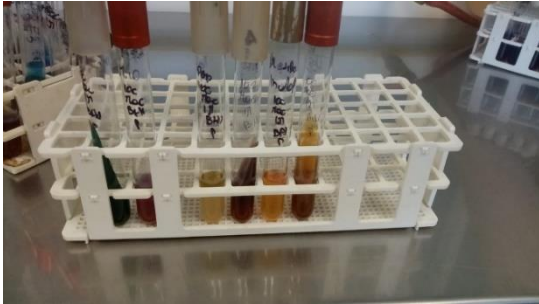
La coloración azul que se forma con la reacción del almidón y el lugol es típica si una bacteria utilizara el almidón se vería un halo alrededor de la siembra



18-3 Fermentación de la lactosa 4cpca1m

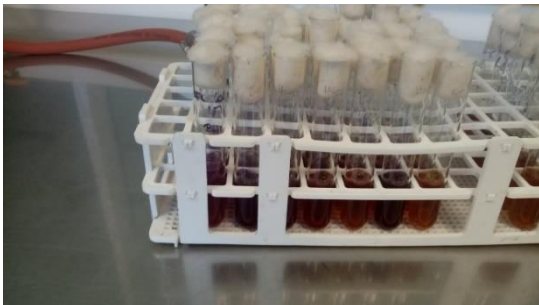
En el medio Agar Macconkey se ve la hidrolisis de la lactosa cuando la colonia toma una tonalidad roja o rosada lo que en este caso no es así ya que se ve una coloración blanquesina.

10cmac1m



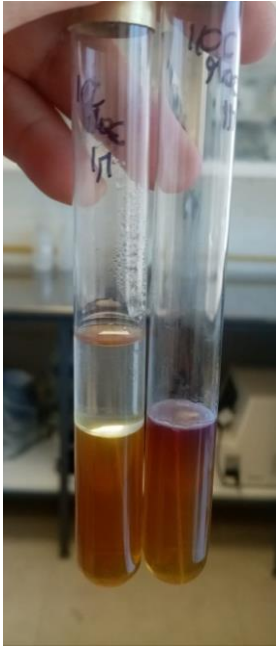
19-3 pruebas imvic 10cmac1m

La anterior imagen evidencia las reacciones de la bacteria en los diferentes medios de cultivo.



20-3 fermentacion de carbohidratos 10cmac1m

En la imagen anterior podemos observar como la bacteria es capaz de fermentar dos azúcares: xilosa y sucrosa.



21-3 oxido fermentación 10cmac1m

Evidenciado con un color amarillo se demuestra como la bacteria es fermentadora



22-3 hidrolisis de gelatina 10cmac1m

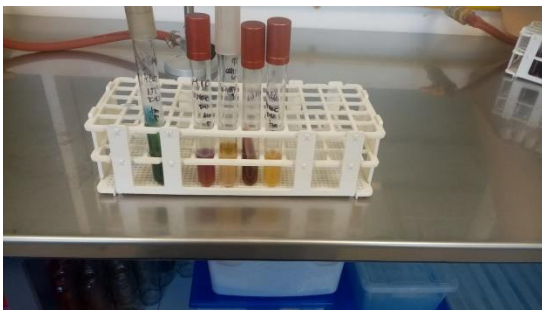
Podemos ver en la imagen que la bacteria es capas de hidrolizar la gelatina



23-3 hidrolisis de almidón 10cmac1m

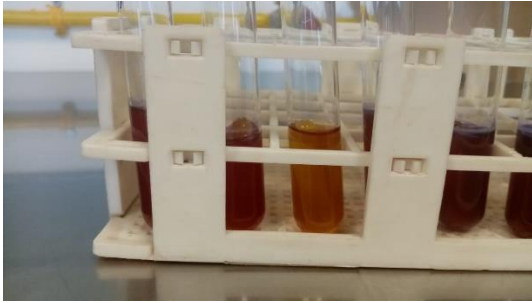
Con la ausencia de un halo incoloro se descarta la hidrolisis de almidón para esta cepa

11mac1m



24-3 pruebas imvic 11mac1m

La imagen mostrada evidencia la reacción bioquímica de la bacteria en los distintos medio.



25-3 Fermentación de carbohidratos 11mac1m

La bacteria es capaz de fermentar la fructosa.



26-3 oxido fermentación 11mac1m

La bacteria es fermentadora esto se ve con la coloración amarilla de ambos tubos.



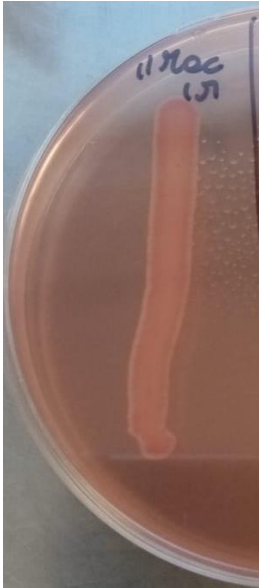
27-3 hidrolisis de gelatina 11mac1m

La bacteria es capaz de hidrolizar la gelatina.



*28-3 hidrolisis de almidon
11mac1m*

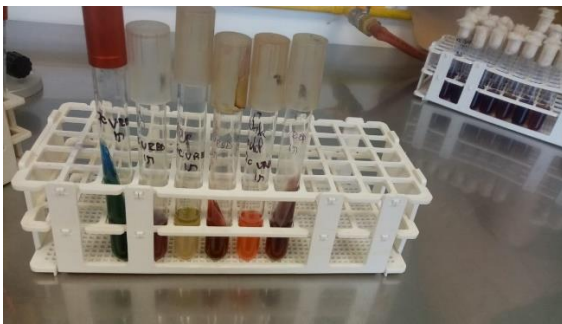
La bacteria como se puede ver en la imagen es incapaz de hidrolizar el almidón.



29-3 fermentación de la lactosa 11mac1m

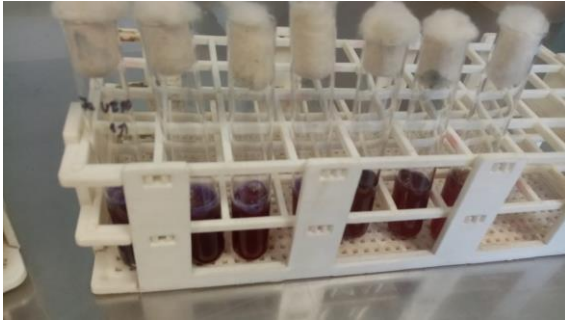
La fermentación de la lactosa en esta placa se puede ver ya que la bacteria tiene una coloración rojiza.

7cvrbd1m



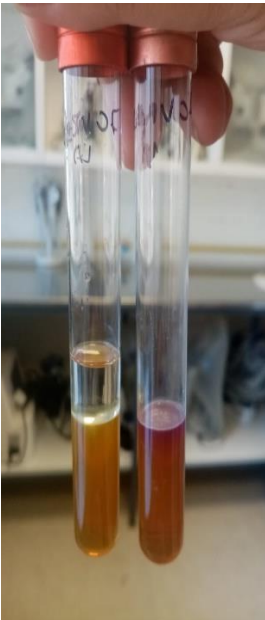
30-3 pruebas imvic 7cvrbd1m

Podemos ver en la imagen como la cepa 7cvrbd reacciona a los medios de las pruebas bioquímicas.



31-3 fermentacion de carbohidratos 7cvrbd1m

En este caso el microorganismo no es capaz de fermentar ninguno de los carbohidratos que se utilizaron.



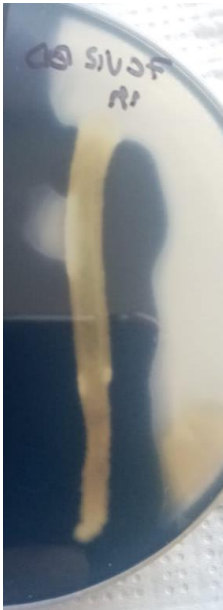
32-3 oxido fermentación 7cvrbd1m

El mecanismo de acción del microorganismo es fermentativo,



33-3 hidrolisis de gelatina 7cvrbd1m

La cepa hidroliza la gelatina al utilizarlo como nutriente.



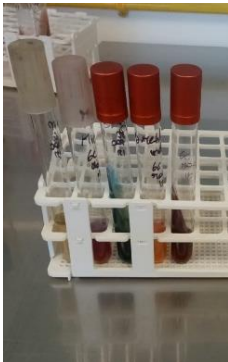
34-3 hidrolisis de almidon 7cvrbd1m

en este caso la bacteria no es capas de usar el almidon como nutriente lo que se evidencia con la ausencia de un halo alrededor de la siembra.



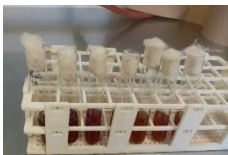
35-3 fermentación de la lactosa 7cvrbd1m

6cmac1m



36-3 pruebas imvic 6cmac1m

Se presenta en la imagen anterior las diferentes reacciones que tuvo la bacteria en las pruebas bioquímicas



37-3 fermentación de carbohidratos 6cmac1m

Esta sepa es capaz de fermentar la xilosa, maltosa y sucrosa.



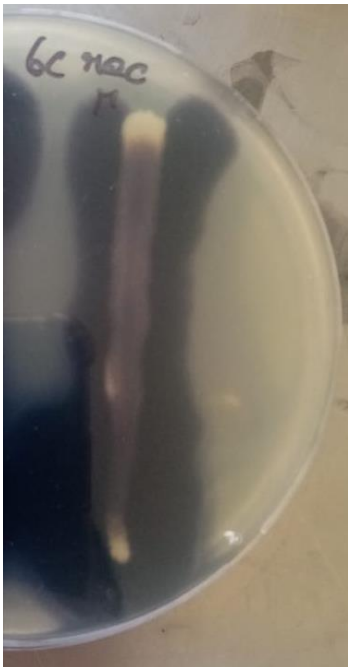
38-3 oxido fermentación 6cmac1m

El microorganismo es fermentativo que se evidencia debido a la coloración amarilla de los tubos de ensayo.



39-3 hidrolisis de gelatina 6cmac1m

No es capaz de utilizar la gelatina como fuente de nutrición.



40-3 hidrolisis de almidón 6cmac1m

No es capaz de degradar el almidón presente en el medio



41-3 fermentación de la lactosa 6cmac1m

Se puede ver la fermentación de la lactosa con la coloración rojiza en e crecimiento bacteriano.

4vrbd1m



Buscar imagen invic

42-33 fermentación de carbohidratos 4vrbd1m



43-3 oxido fermentación 4vrbd1m

En la foto anterior se puede ver que el microorganismo es fermentativo además un desplazamiento del agar por producción de gas



44-3 hidrolisis de gelatina 4vrbd1m

Es capaz de hidrolizar la gelatina.



45-3 hidrolisis de almidon 4vrbd1m

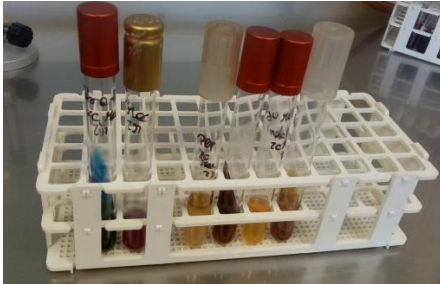
No utiliza el almidon como fuente de energia



46-3 fermentacion de la lactosa 4vrbd1m

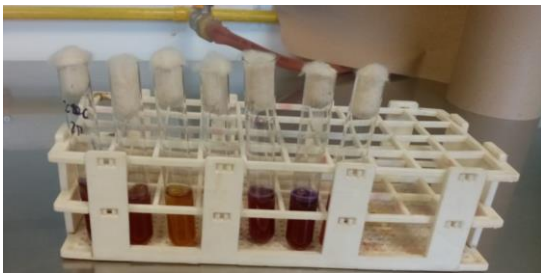
En este caso la bacteria no fermenta la lactosa ya que el crecimiento bacteriano se ve blanquecino.

2cmac2m



47-3 pruebas invic 2cmac2m

Se puede ver la reacción bacteriana frente a las pruebas bioquímicas



48-3 fermentacion de carbohidratos 2cmac2m

La bacteria es capas de fermentar la sucrosa.



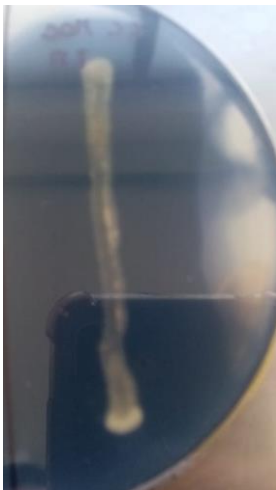
49-3 oxido fermentación 2cmac2m

La cepa bacteriana tiene un mecanismo fermentativo



50-3 hidrolisis de gelatina 2cmac2m

Es capas de hidrolizar la gelatina



51-3 hidrolisis de almidon 2cmac2m

No es capas de utilizar el almidon como fuente de energia



52-3 fermentacion de la lactosa 2cmac2m

Es fermentador de la lactosa ya que se ve un color rosado en el crecimiento bacteriano.

3cpca3m



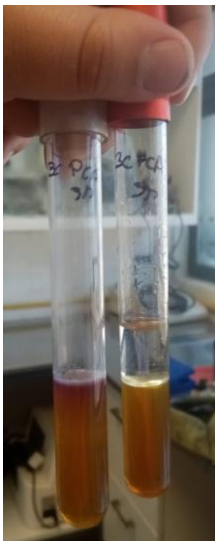
53-3 pruebas imvic 3cpca3m

Se puede ver los mecanismos de acción de la bacteria frente a las pruebas bioquímicas



54-3 fermentacion de carbohidratos 3cpca3m

Es capas de fermentar la glucosa en la prueba de fermentacion de carbohidratos.



55-3 oxido fermentación 3cpca3m

La bacteria es de acción fermentativa debido al color amarillo del medio.



56-3 hidrolisis de gelatina 3cpca3m

La bacteria hidrolisa la gelatina.



57-3 hidrolisis de almidon 3cpca3m

El microorganismo no hidroliza el almidón



58-3 fermentacion de la lactosa 3cpca3m

El microorganismo no fermenta la lactosa ya que el crecimiento bacteriano no tiene una coloración rosada.

3cmac4m

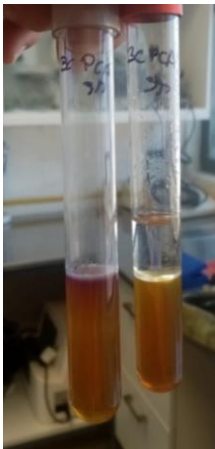


59-3 pruebas imvic 3cmac4m



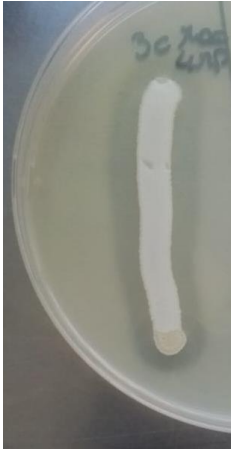
60-3 fermentacion de carbohidratos 3cmac4m

Esta cepa puede fermentar solo la galactosa.



61-3 oxido fermentación 3cmac4m

Esta bacteria tiene una acción fermentativa ya que el medio se torno amarillo en ambos tubos de ensayo.



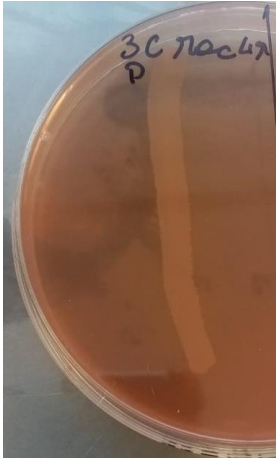
62-3 hidrolisis de gelatina 3cmac4m

Hidroliso la gelatina ya que se muestra un halo incoloro alrededor de la siembra.



63-3 hidrolisis de almidon 3cmac4m

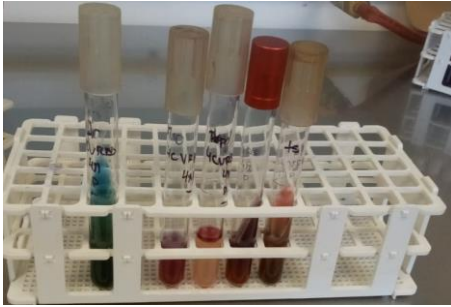
No hidroliza el almidon



64-3 fermentacion de la lactosa 3cmac4m

No fermenta la lactosa

4cvrbd4m-



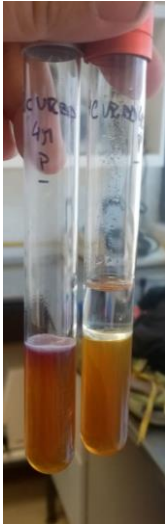
65-3 pruebas imvic 4cvrbd4m-

En la imagen anterior se puede apreciar las pruebas bioquímicas y como reacciono la cepa.



66-3 fermentacion de carbohidratos 4cvrbd4m-

Esta bacteria puede fermentar los carbohidratos xilosa sucrosa y lactosa



67-3 oxido fermentación 4cvrbd4m-

La bacteria es fermentativa.



68-3 hidrolisis de gelatina 4cvrbd4m-

La bacteria hidroliza la gelatina



69-3 hidrolisis de almidon 4cvrbd4m-

La bacteria no hidroliza el almidon presente en el medio por esto no se ve un halo a su alrededor.



70-3 fermentacion de la lactosa 4cvrbd4m-

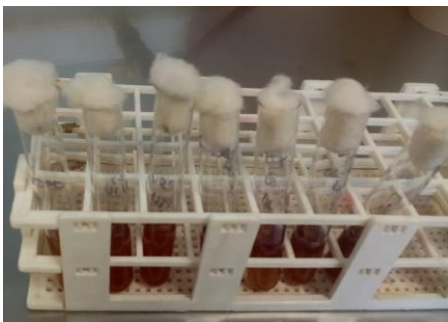
No fermenta la lactosa

4cvrbd4m*



*71-3 pruebas imvic 4cvrbd4m**

Podemos ver como se comporta la bacteria frente las pruebas bioquímicas en la anterior imagen.



*72-3 fermentacion de carbohidratos 4cvrbd4m**

La bacteria puede fermentar la xilosa, maltosa, sucrosa, glucosa y lactosa



73-3 oxido fermentación 4cvrbd4m*

Esta bacteria tiene una acción fermentativa evidenciado en la coloración amarilla.



74-3 hidrolisis de gelatina 4cvrbd4m*

Hidroliza la gelatina.



75-3 hidrolisis de almidon 4cvrbd4m*

No hidroliza el almidon.



*76-3 fermentacion de la lactosa 4cvrbd4m**

No fermenta la lactosa ya que no tiene una coloración rosácea o roja

Conclusión y discusión

Con los anteriores procedimientos realizados durante la investigación para el presente trabajo de título se pudo recolectar información de cada una de las cepas resistentes a antibióticos. De este modo podemos saber a través de los medios de cultivo macconkey y vrbd que las cepas recolectadas pertenecen a enterobacterias, considerando que estos medios de cultivo son específicos para ese grupo de bacterias. Por otro lado, con respecto al agar Baird Parker y agar DNASA se descarta la presencia de bacterias pertenecientes al género Staphylo, por lo que las siguientes bacterias de forma cocosea que se lograron identificar en la muestra, ya sea que estén presentes como su reservorio natural o que se deba a contaminación cruzada, por mala manipulación de los alimentos serían de la familia Enterococcus o Streptococcus, bacterias Gram positivas catalasa negativa que crecen con formas de cocos simples, en pares o con forma de cadena.

Sin embargo, los estreptococos con bacterias anaerobios facultativos, lo que no condice con los resultados obtenidos en la prueba oxido fermentación que en cada cepa tiene un mecanismo fermentativo, por lo tanto, las cepas de forma cocasia que se presentaron en este trabajo solo pueden ser partes de la familia enterococos, estas serían 4c vrbd 1m y 10c mac 1m. La primera es resistente a cuatro antibióticos: diferentes ampicilina AMP10mg chloramphenicol C30mg gentamicin CN10mg vancomycin VA30mg, mientras que la segunda solo es resistente solo a vancomycin VA30mg

Con la prueba LIA se descartan la presencia de Proteus y Salmonella pero se sospecha la presencia de las bacterias Yersinia y Shigella.

Con lo anterior antes dicho se comparó los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas llegando a las siguientes bacterias.

La cepa de nombre 6c mac 1m corresponde a la bacteria listeria monocytogenes bacteria que tiene como características bioquímicas: bacilos positivos y oxidasa negativos, rojo de metilo positivo Voges Paskeur negativo indol negativo no son

productoras de gas ni H₂S características que comparten entre si, esta cepa mostro una resistencia a dos antibióticos distintos: ampicila AMP10 y vancomycin VA30.

La cepa bacteriana de nombre 2c mac 2m tiene las características de *Serratia marcescens* dicha bacteria es un bacilo Gram negativo, móvil, catalasa positivo , oxidasa negativo. citrato positivo, rojo metilo negativo, voges proskeuer negativo , indol negativo, la producción de gas es variable y no produce moléculas de H₂S además hidroliza la gelatina, esta bacteria solo es resistente a clindamycin DA2 mg.

Las cepas 4c vrbd 4m- y 4c vrbd 4m* las cuales muestran los mismos resultados en la pruebas bioquímica, esto nos dice que son la misma bacteria o bacterias del mismo género que en este caso comparten características con las bacterias del genero *Campylobacter* spp, estas son bacterias Gram negativos de forma bacilar, catalasa positivas, oxidasa positivas, no productoras de H₂S, DNASA negativos. La primera cepa 4c vrbd 4m- mostro resistencia para un antibiótico: vancomycin VA30mg mientras que la segunda solo mostro resistencia al antibiotico clindamycin DA2 mg.

Las cepas de nombres 7cvrbd1m, 4cpca 1m, 11c mac 1m, 3cpca3m, 3cmac 4m no fue posible identificarlas de forma bibliográficas. La cepa de nombre 7cvrbd1m es resistente a cuatro antibióticos: ampicila AMP10 mg, chloramphenicol C30mg, gentamicin CN10mg, vancomycin VA30mg, mientras que la cepa 4cpca 1m solo es resistente a un antibiotico la vancomycin VA30mg, de la misma manera que 11c mac 1m, 3cpca3m 3cmac 4m son resistentes a los antibioticos eritromicina E15 ampicila AMP10 respectivamente.

En conclusión se lograron aislar un total de 59 cepas, cultivos puros mediante las técnicas muestreo, preparación de muestra, sembrado de microorganismos y por ultimo tinción Gram cumpliendo así el primer objetivo específico se cumplió

A estos cultivos bacterianos se les sometió a doce antibióticos distintos para medir su sensibilidad estos antibióticos: fueron ampicilina AMP10 cloranfenicol C30 gentamicina CN10 vancomicina VA30 tetraciclina TE30 amoxicilina AMC30 eritromicina E15 rifampicina RD5 estreptomicina S10 sulfametoxasol trimethoprima

SXT25naladixic NA30 clindamicina DA2 descubriendo un total de 11 cepas resistentes a antibióticos que equivalen a un 18,64% de las cepas aisladas, de esta manera se cumple el segundo objetivo específico.

De estas 59 cepas, 11 cepas bacterianas mostraron resistencia a al menos un antibiótico de estas se lograron identificar un total de 6 siendo *Listeria monocitogenes*, *Serratia marcescens*, *Campylobacter* spp y *Enterococcus* spp, cumpliéndose mediante a la categorización de las bacterias entonces el tercer objetivo específico de este trabajo.

Es por lo anterior mencionado que a través del cumplimiento de los objetivos específicos determinados se logro dar cumplimiento al objetivo general de este trabajo de título ya que se logró Identificar un total de 6 bacterias resistentes a los antibióticos de amplio y bajo espectro, procedente de las muestras obtenidas del pollo que fueron muestreadas en carnicerías locales de la ciudad de viña del mar. Lo cual es de suma importancia considerando que esta investigación permite identificar estas bacterias causales de enfermedad en el organismo humano, y con la creciente resistencia a los antibióticos que se ha podido apreciar en las últimas décadas se está corriendo el riesgo que en un futuro no exista tratamiento para aliviar el malestar de la gente; considerando que organizaciones mundiales de la salud han señalado en más de un ocasión la gran problemática que ha surgido las últimas décadas con relación a la resistencia bacteriana a los antibióticos.

Es en éste punto que la carrera de control de calidad en alimentos cumple un rol fundamental en la constante búsqueda de la inocuidad de los alimentos para evitar que éstos causen alguna enfermedad al consumidor. actualmente existen dos principales enfoques principales para lograr dicho control de calidad, siendo el primero, el control en una línea de procesos y el segundo control se da a través de las investigaciones de laboratorio microbiológico donde se analizan las características y se evidencian los microorganismos presente en un alimento y se generan planes para mitigar los riesgos que se presenten en esas instancias, que es el enfoque en el cuál se centra el presente trabaja de título para poder lograr ser un aporte en el ámbito investigativo de resistencia a los antibióticos. Problema en

increciente latencia que pone en riesgo a la población de no poner atención en la consecuencias que significa que un antibiótico no genere una respuesta positiva para un tratamiento de enfermedades, considerado que a lo largo de la historia la mayor cantidad de decesos se a generado a causa de enfermedades que no cuentan con medicamentos efectivos para éstas.

Es por este motivo que queda abierta la posibilidad a futuro para que otros profesionales puedan tomar de referencia ésta incipiente investigación y les permita tener una guía para ampliar sus conocimientos en el área o llevar a cabo investigaciones similares de área, utilizando otras técnicas de identificación más específicas o diferentes a las aplicadas para averiguar de qué microorganismo bacteriano se tratan las cepas que de manera bibliográfica fue posible lograrlo, empleando técnicas como pcr para así poder estudiar los efectos de estas bacterias en el organismos de sujetos colonizados por estas bacterias, con el fin de encontrar más y mejores tratamientos para tratar la infección, sin tal vez la necesidad de recurrir a antibióticos.

A nivel personal puedo decir que mi formación académica me ha brindado las herramientas necesarias para desenvolverme en el campo laboral, dándome las competencias para poder llevar a cabo este trabajo de título, asegurarme de que un alimento sea inocuo para el consumidor, permitiendo mi desarrollo profesional en el área investigativa; ya que, en la formación académica se nos imparte la rigurosidad con la que debemos abordar una problemática y las practicas necesarias para llevar a cabo la parte experimental en un laboratorio.

Lincografía/bibliografía

https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/6323/INTA_CIE_P_Rodriguez_R_Riesgos_microbiologicos_asociados_carne_aviar.pdf?sequence=2&isAllowed=y

<https://www.achipia.gob.cl/wp-content/uploads/2018/05/Perfil-de-Riesgo-Campylobacter-spp-en-carnes-de-aves-de-corral-v1-2017.pdf>

<file:///C:/Users/USM/Downloads/Dialnet-CalidadYSeguridadMicrobiologicaDeLaCarneDePolloCon-46794.pdf>

<https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/548/Silva%2C%20Julia%20-%20Facultad%20de%20Ciencias%20Veterinarias.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

<https://www.isl.gob.cl/wp-content/uploads/2015/04/D.S-N---977actualizado-2013.pdf>

Revisada el 6 de junio <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2013/ei132f.pdf>

Revisada el 7 de junio <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/campylobacter-coli.html>