

## **1. TSA AGAR.**

### ***1.1. Escherichia coli.***

Es quizás el organismo procarionte más estudiado por el ser humano, se trata de una bacteria unicelular que se encuentra generalmente en los intestinos animales y por ende en las aguas negras. Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore Von Escherich, bacteriólogo alemán, quién la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor.

Ésta y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo. Además produce vitaminas B y K.

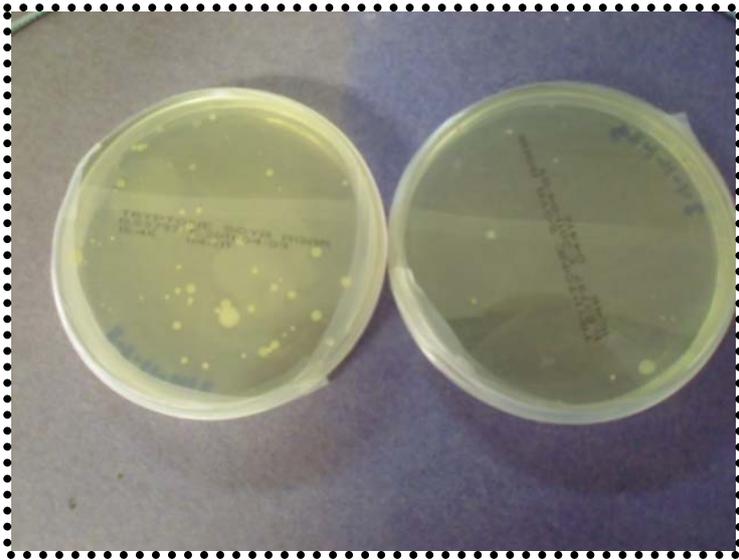
Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram (gramnegativo),

es anaeróbico facultativo, móvil

por flagelos peritricos, estructuras largas y delgadas que rodean su cuerpo que rotan en el sentido opuesto a las manecillas del reloj provocando que la bacteria se mueva a favor de las manecillas del reloj, no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa y su prueba de IMVIC es ++--.

Es una bacteria utilizada frecuentemente en experimentos de genética y biotecnología molecular.

*E. coli*, en su hábitat natural, vive en los intestinos de la mayor parte de changos sanos. Es el principal organismo anaerobio facultativo del sistema digestivo. En individuos sanos, es decir, si la bacteria no adquiere elementos genéticos que codifican factores virulentos, la bacteria actúa como un comensal formando parte de la flora intestinal y ayudando así a la absorción de nutrientes. En humanos, *E. coli* coloniza el tracto gastrointestinal de un neonato adhiriéndose a las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 h después de la primera comida.



**FOTO 23.** Placas de TSA Agar.

La presencia de *E. coli* puede causar infecciones intestinales y extra-intestinales generalmente severas, tales como infecciones del aparato excretor, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa.

Esto es debido a que la *E. coli* entérica está dividida por sus propiedades virulentas, pudiendo causar diarrea en humanos y otros animales, como cerdos, cabras, vacas, perros y caballos.

Otras cepas causan diarreas hemorrágicas por virtud de su agresividad, patogenicidad y toxicidad.

En muchos países ya hubo casos de muerte con esta bacteria. Generalmente les pasa a niños entre 1 año y 8 años. Causado generalmente por la contaminación de alimentos, y posterior mala cocción de los mismos, es decir, a temperaturas internas y externas menores de 70°C.

Son más comunes en mujeres por lo corto de la uretra (25–50 mm) en comparación con los hombres (unos 20 cm). Entre los ancianos, las infecciones urinarias tienden a ser de la misma proporción entre hombres y mujeres.



**FOTO 24.** Realizando los medios de cultivo.

Debido a que la bacteria invariablemente entra al tracto urinario por la uretra (una infección ascendente), los malos hábitos sanitarios pueden predisponer a una infección, sin embargo, otros factores cobran importancia, como el embarazo, hipertrofia benigna o maligno de próstata, y en muchos casos el evento iniciante de la infección es desconocida.

Aunque las infecciones ascendentes son las causantes de infecciones del tracto urinario bajo y cistitis, no es necesariamente ésta la causa de infecciones superiores como la pielonefritis, que puede tener origen hematógena.

## **1.2. *Staphylococcus aureus*.**

Es una especie bacteriana integrada por formas cocáceas, que se dividen en más de un plano, por lo que se agrupan regularmente en racimos. Son inmóviles y carecen de esporas. Son gram positivas.

Su metabolismo es de tipo fermentativo, son aerobios y anaerobios facultativos, catalasa positivo y oxidasa negativo. Son capaces de fermentar la glucosa sin producción de gases y producen acetil metil carbinol. Fermentan el manitol con formación de ácidos y puede hacerlo en anaerobiosis. No hidrolizan el almidón y son capaces de crecer en presencia de un 40% de bilis. Soportan tasas elevadas de cloruro sódico, hasta un 15%.

La temperatura óptima de crecimiento va de 35 a 40°C y el pH óptimo oscila entre 7,0 y 7,5 aunque soportan pHs mucho más extremos.

Poseen una enzima, la coagulasa, que los diferencia del resto de las especies del género. Ésta tiene la facultad de reaccionar con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina.

Poseen igualmente una desoxirribonucleasa que es una nucleasa exocelular que depolimeriza el ADN. A esta enzima se la denomina termonucleasa por ser termoresistente en las cepas de *S. aureus*.

Debido a la característica de ser un agente patogénico que actúa como un microorganismo saprófito, se encuentra en la piel del individuo sano pero en ocasiones en que las defensas de la piel caen puede causar enfermedad. El principal grupo de riesgo son pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos.

Cerca de 2 mil millones de personas han sido colonizadas mundialmente por este microorganismo.

Su simple presencia puede provocar infección de piel y de partes blandas. A su vez tiene la capacidad de generar enfermedades como neumonía, sialadenitis, sepsis con o sin metástasis (osteítis, artritis, endocarditis, abscesos localizados) y orzuelos. También puede producir enfermedades por toxinas como el síndrome de la piel escaldada, el síndrome del shock tóxico y gastroenteritis.

Una peculiaridad de este microorganismo es el poseer resistencia mediante una  $\beta$  lactamasa inducible que le confiere resistencia ante la penicilina, esta  $\beta$  lactamasa está codificada en un plásmido presente en más del 90% de las cepas.

La resistencia al óxido nítrico es una cualidad peculiar del *Staphylococcus aureus*, capacidad que lo distingue de otros patógenos, incluyendo *Staphylococcus*

*epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus*. Esa resistencia se debe a que el microorganismo produce una enzima llamada lactato deshidrogenasa, que la faculta para tolerar el estrés causado por el radical del óxido nítrico. Esta observación se ha hecho en especies resistentes a la meticilina como las que son susceptibles al antibiótico, así como en cepas hospitalarias como adquiridas en la comunidad.

### **1.3. *Bacillus subtilis*.**

Las bacterias del género *Bacillus* son bacilos grampositivos esporulados, aerobios o facultativos y catalasa positivos. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza y son contaminantes frecuentes de las muestras clínicas; por ello, el simple hallazgo de un *Bacillus* en una muestra no es suficiente para considerar que está produciendo una infección.

*Bacillus subtilis* comúnmente se encuentra en el suelo. *B. subtilis* tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora, permitiendo al organismo tolerar condiciones ambientalmente extremas.

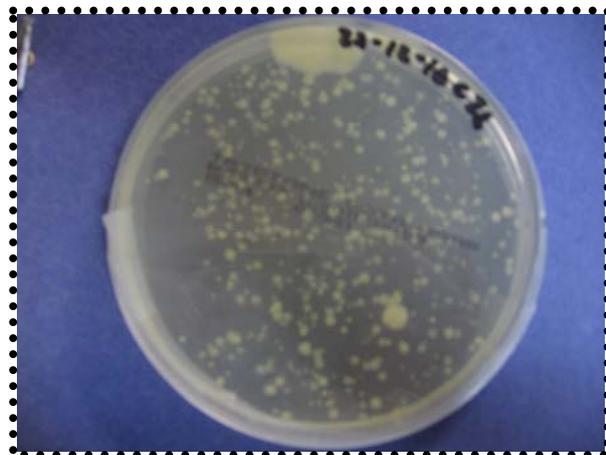
*B. subtilis* no es considerado patógeno humano; sin embargo puede contaminar los alimentos, pero raramente causa intoxicación alimenticia. Sus esporas pueden sobrevivir a la calefacción extrema que a menudo es usada para cocinar el alimento, y es responsable de causar la fibrosidad en el pan estropeado.

Algunas especies de *Bacillus* producen esporas extraordinariamente resistentes y por ello se utilizan para controlar la eficacia de los procedimientos de esterilización. La destrucción de esporas de *B. subtilis* se utiliza para controlar la eficacia de la esterilización por calor seco y óxido de etileno.

### **1.4. *Candida albicans*.**

*Candida albicans* es un hongo diploide asexual (forma de levadura), saprófito de la familia de los Sacaromicetos.

Normalmente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina. Está envuelta en un rol relevante en la digestión de los azúcares mediante un proceso de fermentación.



**FOTO 25.** Medio de cultivo.

Debido a esto *Candida albicans* puede asumir patogeneidad provocando la candidiasis; en ese caso se presenta como una afección vaginal (vaginitis), de la cavidad oral (muguet), del intestino o de la piel.

En un físico debilitado, inmunodeprimido o convaleciente de un larga cura antibiótica, la *Candida* se multiplica en modo anómalo y, atraviesa el intestino, para entrar al torrente sanguíneo, donde libera sus propias toxinas provocando la candidemia. Este fenómeno da lugar a síntomas algunos abdominales, mala digestión, gases e hichazón, molestias intestinales (estreñimiento o diarrea), intolerancia alimentaria, irritabilidad, insomnio, pérdida de la memoria, dolores de cabeza y depresión. La candidosis induce también una disminución de la absorción de las sustancias nutritivas por lo que se podría producir un estado de malnutrición.

### **1.5. *Aspergillus Níger*.**

*Aspergillus niger* es un hongo que produce un moho negro en vegetales -muy común en la lechuga, el tomate o la acelga-. Es una de las especies más corrientes del género *Aspergillus*.

El *Aspergillus* es un género de alrededor de 200 hongos. Puede existir en dos formas básicas: levaduras e hifas. El *Aspergillus* es filamentoso (compuesto de cadenas de células, llamadas hifas, el tipo de hongos opuesto a las levaduras, que se componen de una sola célula redonda).

Al ser un hongo *Aspergillus niger* no causa tantas enfermedades como otras especies de *Aspergillus*, pero en altas concentraciones puede producir aspergilosis, que provoca alteraciones pulmonares. Esta enfermedad aparece con más frecuencia en horticultores, ya que inhalan el polvo del hongo con más facilidad.

Para tratar esta enfermedad existen ciertos tratamientos entre los que destacan la limpieza y desbridamiento del oído, el tratamiento antimicótico (gotas), la transposición de cerumen en casos resistentes y antiinflamatorios no esteroideos (los esteroides deben utilizarse con mucha cautela, pues pueden ocasionar empeoramiento por inmunosupresión localizada)...

### **1.6. *Pseudomonas aeruginosa*.**

Es una bacteria Gram-negativa, aeróbica, con motilidad unipolar. Es un patógeno oportunista en humanos y también en plantas.

Como otras *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* secreta una variedad de pigmentos como piocianina, fluoresceína y piorubina. King, Ward, & Raney desarrollaron

"*Pseudomonas Agar P*" para mejorar la producción de piocianina y piorubina; y "*Pseudomonas Agar F*" para la fluoresceína.

*P. aeruginosa* es a menudo identificada, por su olor a uvas in vitro. La identificación clínica definitiva de *P. aeruginosa* frecuentemente incluye, tanto identificar la producción de piocianina y fluoresceína como determinar su habilidad de crecer a 42 °C.

*P. aeruginosa* es capaz de crecer en combustibles como queroseno o gasóleo, ya que es un microorganismo capaz de nutrirse a partir de hidrocarburos, causando estragos de corrosión microbiana, y creando una gelatina oscura que a veces se identifica inadecuadamente con un alga.

Al igual que con otras infecciones, los síntomas incluyen fiebre, escalofríos, y la producción de materia purulenta en las heridas infectadas.

Para llevar a cabo el tratamiento contra esas infecciones *P. aeruginosa* es frecuentemente aislada de sitios no estériles (boca, esputo, y demás) y en esas circunstancias, frecuentemente representa una colonización, sin infección. El aislamiento de *P. aeruginosa* de especímenes no estériles debería interpretarse con cautela y el aviso del microbiólogo o el médico infectólogo deberían corroborarse antes del comienzo del tratamiento. A veces, no es necesario tratar.

Cuando *P. aeruginosa* es aislada de sitios estériles (sangre, hueso, etc.) debe tomarse con mucha seriedad y en la mayoría de los casos requiere tratamiento rápido.

*P. aeruginosa* es naturalmente resistente a una gran cantidad de diferentes familias de antibióticos. Es indispensable usarlos con una guía de tratamiento acorde con los resultados de antibiogramas, más que elegir determinado antibiótico empíricamente.

## **2. GLUCOSA SABOURAUD + CLORANFENICOL AGAR.**

### ***2.1. Escherichia coli.***

Ver punto 1.1.

### ***2.2. Staphylococcus aureus.***

Ver punto 1.2.

### ***2.3. Candida albicans.***

Ver punto 1.4.

### ***2.4. Aspergillus niger.***

Ver punto 1.5.

### **2.5. *Penicillium spp.***

Las especies de *Penicillium* son reconocidas por su denso cepillar como las estructuras del espora-cojinete. Los conidióforos son simples o ramificados y son terminados por los racimos de fialides en forma de botella. Las esporas (conidios) se producen en cadenas secas de las extremidades de los fialides, con la espóra más joven en la base de la cadena, y son casi siempre verdes. La ramificación es una característica importante para identificar especie del *Penicillium*. Algunos no son ramificados y llevan simplemente un racimo de fialides en la tapa del estípote. Otros pueden tener un racimo de ramas, cada cojinete un racimo de fialides. Un tercer tipo tiene ramas el llevar de una segunda pedido de ramas, llevando alternadamente un racimo de fialides. Estos tres tipos de sistemas del cojinete de la espóra (penicilli) se llaman monoverticillate, biverticillate y terverticillate respectivamente.



**FOTO 26.** Preparando los medios de cultivo.

El *Penicillium* es un género grande y encontrado casi por todas partes, y siendo comúnmente el género de hongos más abundante en suelos. La fácil proliferación de los *Penicillium* en los alimentos es un problema. Algunas especies producen toxinas y pueden hacer el alimento no comestible o aún peligroso. Es una buena práctica desechar los alimentos que demuestran el desarrollo de

cualquier moho. Por otra parte otras especies de *Penicillium* son beneficiosas para los seres humanos. Los quesos tales como el roquefort, brie, camembert, stilton, etc. se crean a partir de su interacción con algunos *Penicillium* y son absolutamente seguros de comer. La penicilina es producida por el hongo *Penicillium chrysogenum*, un moho ambiental.

### **2.6. *Trichophyton mentagrophytes.***

Su morfología macroscópica es muy variada en función de las distintas cepas, aunque podemos describir dos tipos básicos: las cepas con morfología de tipo granular y aspecto pulverulento, de color blanquecino o cremoso y bordes desflecados e

irregulares, con reverso de color marrón oscuro o rojizo y las cepas con morfología de tipo aterciopelado, con pliegues radiados y circulares y micelio blanco brillante y muy denso que suele virar a rosado en las colonias más viejas, su reverso es de color amarillento a rojizo.

Microscópicamente, la característica más destacable es la presencia de abundantes microconidias sésiles, redondas o subesféricas, formando racimos o grupos a lo largo de las hifas maduras. Las cepas de tipo aterciopelado suelen producir también microconidias en forma de lágrima que dificultan su diferenciación con *T. rubrum*. Sin embargo, una de las características microscópicas diferenciales de *T. mentagrophytes* es la formación de hifas en espiral o zarzillos. Pueden aparecer también hifas en forma de raqueta y clamidosporas.

Aunque no es habitual, y menos en las cepas de tipo granular, podemos encontrar macroconidias lisas y de tamaño variable, en forma de puro o claviformes, con 3 a 5 células, más gruesas y cortas que en *T. rubrum*.

Básicamente, las características que lo diferencian de *T. rubrum*, además de la formación de hifas en espiral, son: la producción de Ureasa (aunque hay algunas cepas de *T. rubrum* que también la producen) y la positividad en el test de los pelos perforados.

### **3. TSN AGAR.**

#### ***3.1. Escherechia coli.***

Ver punto 1.1.

#### ***3.2. Clostridium perfringens.***

*Clostridium perfringens* es una bacteria anaeróbica Gram-positiva, inmóvil y formadora de esporas que se encuentra en los intestinos de los seres humanos y de varios animales homeotermos, en el suelo, en el agua, en los alimentos (sobre todo en las carnes que no están bien cocinadas), entre otros. Las enfermedades causadas pueden ser fatales ya que produce toxinas que pueden causar enfermedades como la enteritis necrótica o la gangrena gaseosa.

En la gangrena gaseosa, el clostridio provoca destrucción de los tejidos infectados si persiste. Esto es provocado por la liberación de exoenzimas específicos que atacan a las moléculas constituyentes de los tejidos de animales: fosfolipasas,

hemolisinas, colagenasas, proteasas., que provocan la putrefacción del tejido acompañada de una producción de gas, y de ahí su nombre ("gaseosa").

La solución, llegado este nivel, es la amputación de la zona afectada; de no ser así la infección suele acabar con la muerte del animal (cerdos, pollos, caballos, humanos...).

Es un indicador de contaminación fecal de las aguas. Se destruye con temperaturas superiores a 121°C.

Esta bacteria es una de las más distribuidas, cuyo reservorio es el suelo, el polvo, el tubo digestivo, la piel y las moscas; las cuales contribuyen al transporte de las esporas.

En frío cualquier alimento puede vehiculizarlo, los brotes principales han sido en alimentos cárnicos, en comidas preparadas en grandes cantidades o en salsas, incluso contaminación in situ por manipuladores.

Los síntomas son dolor abdominal, diarrea acuosa (no hay sangre ni moco), náuseas, cuadro benigno que desaparece a las 12-18 horas.

La enteritis necrotizante, producida por cepas tipo C, presenta una incubación de 24 horas, dolor abdominal, diarrea con sangre, vómitos, necrosis intestinal.

El tratamiento es evitar cocinar los alimentos en grandes cantidades, higiene adecuada en la manipulación, enfriamiento y refrigeración adecuadas, evitar cocinar con mucha antelación.

### **3.3. *Clostridium sporogenes*.**

*Clostridium* es un género de bacterias anaerobias, bacilos grampositivas, parásitas y saprófitas algunas de ellas, que esporulan, y son móviles, en general por intermedio de flagelos peritricos. Toman la forma de fósforo, palillo de tambor o huso de hilar, de ahí su nombre griego "Klostro", que significa huso de hilar.

Los *Clostridium* son organismos que se observan solos, en parejas o a lo máximo en cadenas cortas. Son móviles por flagelos peritricos -con la excepción de *C. perfringes*. Algunas especies producen cápsula y forman esporas de aspectos esféricos u ovalados, situados en el centro del bacilo o en un extremo subterminal y resistentes al calor. Crecen a temperatura de 37 °C y a un pH entre 7 y 7,4, de modo que son fácilmente inactivadas a pH ácido o básico, como el ácido estomacal, el de limpiadores y desinfectantes como el cloro e incluso el pH de ácidos orgánicos encontrados en el zumo de limón, por ejemplo. Son fermentadoras de azúcares, aspecto que resulta de utilidad en la diferenciación de las especies.

Poseen antígenos somáticos y flagelares que permiten dividirlos en tipos y subtipos. Producen exotoxinas de efecto necrosante, hemolíticas y potencialmente letales. Las toxinas son nombradas con letras, así por ejemplo, la toxina necrosante es nombrada con la letra C y la enteritis en animales es causada por las toxinas B, D y E.

Las especies de *Clostridium* están ampliamente distribuidas en el ambiente, habitando el tracto gastrointestinal tanto de humanos como animales. A pesar del interés en relación de *Clostridium* por razón de que estos organismos están involucrados con diarrea en niños y en la etiología del cáncer de colon, hay pocos datos disponibles sobre el hábitat intestinal de la bacteria.

#### **3.4. *Pseudomonas aeruginosa*.**

Ver punto 1.6.