

- Isopos para tomar muestras bacterianas de dientes, comida, etc.
- Palillos mondadientes.
- Plumón marcador.

#### Procedimiento

1. Marcar las cajas de petri con el medio en el fondo con tu nombre, la fecha y el origen de las bacterias. Puedes dividir el medio en secciones, marcándolas en el exterior de la caja, y probar con diferentes objetos
2. Abre la cubierta de la caja y con cuidado presiona el objeto en la superficie del agar, asegúrate de hacerlo con suavidad para no romper el agar. Si quieres usar una muestra de comida, entonces humedece el isopo con la muestra y aplícalo en la superficie del agar, también puedes usar palillos para tomar tu muestra.
3. Cubre la caja en cuanto termines. Es importante exponerla lo menos posible al ambiente para que los microorganismos del aire no contaminen el medio de cultivo.
4. Escribe una hipótesis sobre lo que sucederá en cada una de las cajas.

Las cajas se dejarán a temperatura ambiente por una semana, así cualquier bacteria presente podrá crecer y formar colonias. Transcurrida la semana, observa qué sucedió en las cajas de petri.

1. Dibuja un esquema de lo observado en cada uno de tus medios de cultivo.
2. Explica por qué observaste o no crecimiento en la caja con medio que contenía antibiótico.
3. Discute cómo podrías prevenir una resistencia de los microorganismos al antibiótico.

#### Parte 2

Debido al incremento en la resistencia a antibióticos, los doctores y los bioquímicos clínicos deben probar a cuáles antibióticos son resistentes las bacterias infecciosas a fin de poder recetar adecuadamente.

**Objetivo.** En este ensayo probaremos si la bacteria *Escherichia coli* es resistente a la penicilina G y a la tetraciclina.

#### Materiales

- Un placa de agar estéril.
- Un cultivo de bacterias *Escherichia coli*.
- Un asa bacteriológica estéril.
- Un disco de antibióticos con tetraciclina.
- Un disco de antibióticos con penicilina G.
- Pinzas.

#### Procedimiento

1. Marca una de las placas de agar en el fondo con tu nombre y la fecha. Toma el asa bacteriológica estéril y sumérgela en el cultivo bacteriológico. Abre la caja y con cuidado desliza el asa numerosas veces en la superficie del agar, así la bacteria crecerá en toda la placa. Utiliza las pinzas para tomar uno de los discos con antibiótico y colócalo en uno de los extremos de la placa, aproximadamente a un centímetro del borde. En el lado opuesto coloca el disco del segundo antibiótico.
2. Cubre la caja de petri en cuanto hayas acabado con el segundo disco, para evitar la contaminación de tu cultivo. El cultivo será incubado a 37 °C por 48 horas para promover el crecimiento y después se mantiene bajo refrigeración.
3. En la siguiente sesión anota tus observaciones.
4. Explica por qué observaste o no ausencia de crecimiento alrededor de los discos de antibióticos.

#### IV. Bibliografía

Atlas y Bahrta, *Microbial Ecology*, Benjamin Cummings Co., 3ª edición, 1993.

Brock, T.D. et al., *Biología de los microorganismos*, Prentice-Hall, 8ª edición, 1997.

Davis, B.D. et al., *Microbiology*, J.B. Lippincott, 4ª edición, 1990.

Ingraham e Ingraham, *Microbiología* (tomos 1 y 2), Editorial Reverté, 1997.

Esperamos sus comentarios y sugerencias, que pueden hacer con atención a: Rosa María Catalá, al teléfono 56 22 72 97, fax 54 24 01 38, correo electrónico comoves@universum.unam.mx

Los profesores pueden copiar esta guía para su uso en clase. Para cualquier otro uso es necesaria la autorización por escrito del editor de la revista.



# Batallas microscópicas

De Esperanza Martínez Romero y Jesús Silva Sánchez

(No. 66, p. 16)

#### Maestros:

Esta guía se ha diseñado para que un artículo de cada número de *¿Cómo ves?* pueda trabajarse en clase con los alumnos, de modo que se adapte a los programas de ciencias naturales y a los objetivos generales de estas disciplinas a nivel bachillerato. Esperamos que la información y las actividades propuestas sean un atractivo punto de partida o un novedoso "broche de oro" para dar un ingrediente de motivación adicional a sus cursos.

#### I. Relación con los temarios del Bachillerato UNAM

Esta guía pueden usarla maestros de biología, química y ciencias de la salud o anatomía, ya que la temática se inserta dentro de la historia de la biomedicina y la farmacia, un área muy atractiva para los alumnos dada su experiencia personal con los antibióticos.

#### II. Glosario básico sobre antibióticos

A continuación se incluye un glosario básico de términos y conceptos indispensables para un mejor entendimiento del tema en la clase.

**Antibiosis.** La relación general entre un antibiótico y un organismo infeccioso es de antibiosis. Esta palabra se refiere a una asociación de dos organismos en la que uno se daña o es matado por el otro. La relación entre seres humanos y la enfermedad que ocasionan los microorganismos

de antibiosis. Si una persona es afectada por microorganismos, su cuerpo resulta lastimado; si el ataque es repelido por las defensas del cuerpo, los microorganismos son los lastimados. Cuando el sistema de defensa de una persona no puede controlar la antibiosis a su favor, se usan los antibióticos para inclinar la balanza hacia la salud.

**Homeostasis.** El balance del cuerpo entre la salud y la enfermedad se llama homeostasis. Esto en su mayor parte depende de la relación del cuerpo y las bacterias con que vive. Por ejemplo, las bacterias están siempre presentes sobre la piel humana. Cuando la piel sufre una rotura o cortada, las bacterias son capaces de penetrar el cuerpo y ocasionar la infección. Comúnmente las bacterias invasoras son destruidas por las células sanguíneas llamadas fagocitos y por diversas acciones del sistema inmune. Cuando la cantidad de bacterias sobrepasa al sistema inmune, hay una resistencia baja a la infección, resulta la enfermedad y se necesitan los antibióticos para ayudar a restaurar la homeostasis

**Acción de los antibióticos.** Los antibióticos pueden ser bacteriostáticos (las bacterias no se multiplican) o bactericidas (las bacterias se mueren). Para desempeñar estas funciones, los antibióticos deben ponerse en el contacto con las bacterias.

Se cree que los antibióticos interaccionan con la superficie de bacterias, ocasionando un cambio

en su capacidad de reproducirse. La prueba de la acción de un antibiótico en el laboratorio muestra cuánta exposición al fármaco es necesaria para frenar la reproducción o para matar a las bacterias. Aunque a una gran cantidad de un antibiótico le tome un tiempo menor matar a las bacterias, tal dosis comúnmente haría que la persona se enferme por el fármaco. Por lo tanto, los antibióticos se dan en una serie de cantidades menores. Esto asegura que las bacterias sean eliminadas o reducidas a un número suficiente como para que el cuerpo las pueda combatir. Cuando se toma poco antibiótico, las bacterias pueden desarrollar métodos para protegerse y entonces no se podrá combatir eficazmente la enfermedad.

**Administración de antibióticos.** Para combatir organismos infecciosos, un antibiótico puede aplicarse externamente, como a una cortada sobre la piel, o directamente a la corriente sanguínea.

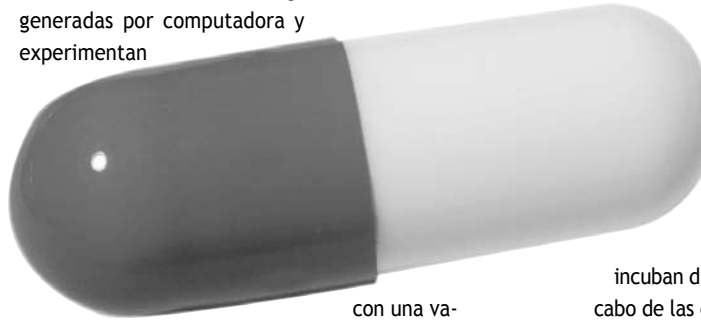
La aplicación local puede ser sobre la piel, en los ojos, o sobre la membrana mucosa. Los antibióticos para el uso local están disponibles en forma de polvos, ungüentos o cremas.

La aplicación oral se refiere a las tabletas, líquidos, y cápsulas que se tragan. El antibiótico puede liberarse en el intestino delgado para ser absorbido en la corriente sanguínea o bien disolverse en la boca, donde se absorbe mediante la membrana mucosa.

Las aplicaciones fuera del intestino se llaman parenterales, por ejemplo a través de inyecciones que pueden ser subcutáneas (debajo la piel), intramusculares (en un músculo), o intravenosas (en una vena). La administración parenteral de un antibiótico se usa cuando se requiere de una concentración fuerte y rápida del antibiótico en la corriente sanguínea.

**Fabricación.** Antes todos los antibióticos se producían utilizando organismos vivos. Este proceso, conocido como biosíntesis, se usa todavía en la fabricación de algunos de estos fármacos. Los organismos fabrican el antibiótico; en el laboratorio se les dan las condiciones adecuadas para hacerlo y se extrae el producto.

Otra alternativa es la síntesis, donde las moléculas de posibles antibióticos se diseñan y sintetizan usando métodos experimentales. Por ejemplo, todos los tipos de penicilina poseen un núcleo químico idéntico. El sustituyente del anillo es diferente en cada tipo; cambiando éste se diseñan fármacos con efectos potencialmente diferentes sobre distintos organismos. Actualmente los fabricantes utilizan imágenes de los anillos generadas por computadora y experimentan



con una variedad interminable de posibles cadenas. Se han desarrollado antibióticos con vida media larga (el período de eficacia), lo que permite tomar la medicina una vez en 24 horas en vez de cada 6 u 8 horas. Los antibióticos desarrollados recientemente son también más efectivos contra una gama más amplia de infecciones.

**Espectro bacteriano.** La acción de un antibiótico se mide en términos de espectro bacteriano. Algunos, como la penicilina, actúan en un sector restringido: atacan sólo a cocos *gram* negativos y *gram* positivos, espiroquetas y bacterias *gram* positivas. Por esta razón se les denomina de espectro limitado. Otro antibiótico que actúa en un sector muy limitado es la nistanina, utilizado contra *Candida albicans*; a este antibiótico se le llama de espectro selectivo. Otros antibióticos, como las tetraciclinas y el cloramfenicol, lo hacen en múltiples sectores y por eso se dice que son de amplio espectro.

**Antibiograma.** El antibiograma es una prueba de resistencia o sensibilidad de las bacterias bajo la acción de diversos antibióticos. Si un microorganismo está en contacto con el fármaco y aún así persiste su capacidad vital, se deduce la inoperancia farmacológica del producto para

tal microorganismo. Y si la zona que rodea al antibiótico está totalmente libre, es decir, que no hay desarrollo de la bacteria, ésta es sensible al fármaco. La zona circundante al antibiótico, llamada halo de inhibición, es de gran valor clínico para iniciar, continuar o modificar una terapia.

Para hacer un antibiograma se suele utilizar la técnica de difusión en placa de petri Fue descrita inicialmente por Vincent y Vincent en 1944 y modificada parcialmente por otros investigadores. Al medio de cultivo para las bacterias colocado en cajas de petri, se le adicionan discos o comprimidos de antibióticos, separados entre sí convenientemente, se incuban durante 12 horas a 18 horas a 37 °C, al cabo de las cuales se efectúa la lectura.

Las técnicas de un antibiograma requieren experiencia en el laboratorio y conocimientos bacteriológicos adecuados. Factores a tener en cuenta que podrían causar problemas en la validez de la prueba son:

- Consistencia del medio de cultivo.
- Cantidad de antibiótico contenida en cada disco ensayado.
- Material infeccioso fresco.
- Tiempo de incubación y espera para efectuar la lectura.
- Medición correcta del halo inhibitorio.
- Calidad de la inhibición.
- Prever posible contaminación del antibiograma por empleo de técnicas defectuosas.

### III. Experimento

Este experimento, como todos los que se realizan con bacterias, requiere de un gran cuidado y medidas de seguridad adecuadas. EN NINGÚN MOMENTO SE DEBE ENTRAR EN CONTACTO DIRECTO CON LOS CULTIVOS. Es importante trabajar con la protección necesaria, como cubrebocas, guantes y bata. Todo el material contaminado debe desecharse para su incineración y el área de trabajo debe ser esterilizada con una solución de cloro.



### Antecedentes

Los antibióticos atacan específicamente a las bacterias sin causar daño en las células del organismo. Los antibióticos como la penicilina matan a las bacterias inhibiendo la síntesis de la pared celular que es necesaria para su supervivencia. Sin la pared celular el contenido de la célula bacteriana se derrama y la célula se destruye. Las células animales no necesitan una pared celular para sobrevivir, por lo tanto estos antibióticos no las dañan.

Los antibióticos son muy poderosos frente a infecciones bacterianas, pero algunas bacterias han desarrollado formas de resistirlos. El uso extensivo de antibióticos ha resultado en la evolución de bacterias que no pueden ser erradicadas por los antibióticos, amenazando la vida y la salud. Enfermedades que fueron virtualmente erradicadas con la introducción de estas medicinas, cada vez son más difíciles de curar.

### Parte 1

**Objetivo.** En este experimento se incuban bacterias en un medio sólido (cajas de agar). Cada equipo tiene dos cajas de agar, una de ellas contendrá agar con ampicilina y la otra no tendrá antibiótico. Se probará si la adición de antibiótico al medio de crecimiento inhibe el desarrollo bacteriano comparando los microorganismos que crecieron en las dos condiciones.

### Materiales

- Una caja de petri con medio de crecimiento agar estéril marcada con la letra A (Antibiótico).
- Una caja de petri con medio de crecimiento agar estéril sin marcar (sin antibiótico).
- Objetos para probar la presencia de microorganismos en ellos (monedas, llaves, plumas).