PRÁCTICA DE MICROBIOLOGIA E INMNULOGIA

GUIA DE PRÁCTICA N° 4			
FECHA:	30 de abril del 2025		
NOMBRE DEL DOCENTE:	MsC. Silvia Reinoso		
ASIGNATURA:	Microbiología e inmunología		
LUGAR DE LA PRÁCTICA:	**Virtual**		
PUESTOS DE TRABAJO:			
INTEGRANTES:		**GRUPO N°:**	
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			

TEMA DE PRÁCTICA:

- Susceptibilidad de las bacterias a los a antibióticos (Antibiograma).

RESULTADO DEL APRENDIZAJE

- Diferencia los principales microorganismos causantes de las principales enfermedades bucodentales y los métodos de control de microorganismos.

OBJETIVOS DE LA PRÁCTICA

- Determinar la sensibilidad de un cultivo bacteriano a los antibióticos, usando el método de Kirby Bauer e interpretar los resultados.

FUNDAMENTO TEÓRICO

SUSCEPTIBILIDAD DE LAS BACTERIAS A LOS A ANTIBIÓTICOS

La resistencia de las bacterias es el principal obstáculo para la eficacia terapéutica de los antibióticos, pues no sólo puede anular la acción curativa si se manifiesta en el curso del tratamiento, sino que tiene a la larga consecuencias todavía más graves para el conjunto de la población, ya que provoca la desaparición de las cepas susceptibles y la propagación de las resistentes. Ese es el motivo por el cual la determinación de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos haya adquirido tanta importancia y sea indispensable para hacer de los antibióticos un uso racional y para preservar la eficacia de este grupo tan valioso de agentes terapéuticos. (Aulacio, M. 2020)

Los antibiogramas son métodos in vitro que determinan la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específicas y estandarizadas. La meta principal del estudio de susceptibilidad es proveer al clínico algunas recomendaciones sobre la terapia que puede ser más apropiada en pacientes con una infección específica. No obstante, la correlación exacta entre los resultados in vitro y la respuesta clínica es muchas veces difícil de predecir, ya que existen numerosos factores que influencian la interacción de los agentes antimicrobianos y los microorganismos en un determinado paciente.

La metodología usada para realizar el antibiograma toma en consideración algunos de estos factores para determinar más eficientemente cómo un microorganismo podría responder in vivo a un determinado antibiótico. Existen diversos métodos para determinar la sensibilidad bacteriana a los antibióticos, presentando además cada uno de estos métodos, múltiples variantes. (Aulacio, M. 2020)

Cualquiera que sea el método seleccionado, el medio de cultivo a emplear ha de ser aquel que permita un buen desarrollo del microorganismo cuya sensibilidad se determina y además no debe ejercer ningún efecto inhibidor sobre la actividad antibacteriana de los antibióticos o quimioterápicos ensayados. Usualmente se utiliza el agar de Mueller-Hinton en las pruebas de sensibilidad de microorganismos aeróbicos de rápido crecimiento. Cuando se trata de estreptococos u otros microorganismos exigentes, se le añade al Mueller-Hinton, 5% de sangre desfibrinada. De los métodos existentes, el más popular es el del disco de papel. La variante más utilizada de este método es la de Kirby Bauer, la cual consiste en utilizar una sola concentración de antibiótico y medir el tamaño de la zona de inhibición. (Aulacio, M. 2020)

Método de Kirby Bauer

En este método el microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico. Las placas se incuban por 16-18 horas a 35- 37°C. Durante la incubación, el antibiótico difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al microorganimos en estudio. El diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente (S, I, o R) de acuerdo a tablas publicadas por los organismos encargados del control de tales métodos, por ejemplo, el Comité Nacional de Estandar de Laboratorios Clínicos de los Estados Unidos de Norteamérica (National Committee for Clinical Laboratories Standards). Fig 1.

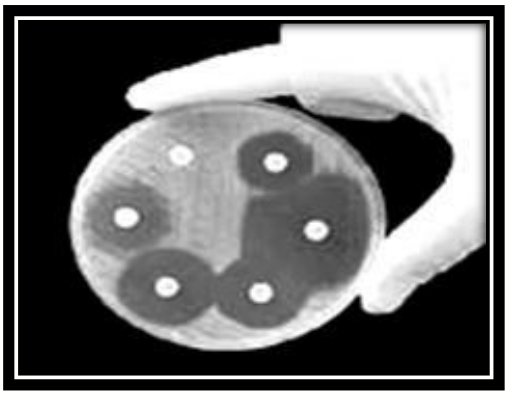

Fig. 1. Antibiograma: Método de Kirby Bauer
Fuente: https://images.app.goo.gl/Xbscf9XaeAxdRUa66

MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	
• Simuladores virtuales	• Hisopos
• Internet	• Mechero
• Computador	• Asa de siembra
• Agar Muller Hilton	• Regla
• Discos de antibióticos	• Escala Mc Farland
• Cultivo de bacterias	

PROCEDIMIENTO

Evaluación de la actividad antimicrobiana frente a antibióticos

1. Observar el video propuesto https://www.youtube.com/watch?v=G7VXQ2vwA4M
2. Preparar un tubo con un inóculo del microorganismo a analizar acorde al patrón de turbidez

3. Sembrar en el agar Müller Hilton toda la placa con el inoculo, y colocar los diferentes grupos de antibióticos.
4. Incubar las muestras a 37°C por 24-48h e interpretar los resultados.

5. Ingresar al enlace de VIRTUAL INTERCTIVE BACTERIOLOGY LABORATORY http://learn.chm.msu.edu/vibl/content/antimicrobial.html#
6. Seleccionar **Susceptibilidad antimicrobiana**
7. Dar click en "Click to open the **module"**
8. Seleccionar **START**
9. Colocar la regla sobre cada disco y medir el halo de inhibición
10. Interpretar y llenar la tabla de resultados.
11. Seleccionar **MENU/RESERT** para seleccionar las siguientes muestras

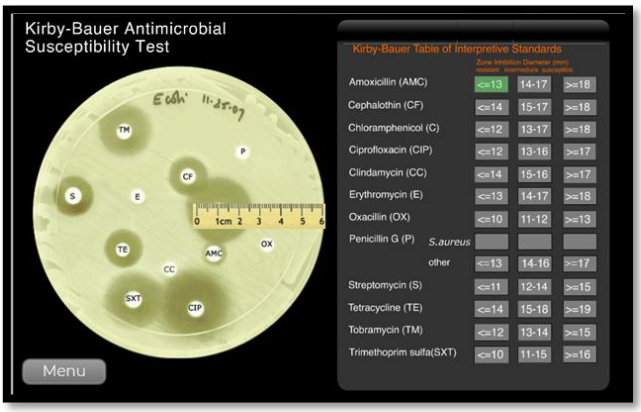

Fig. 2. Aplicativo Método de Kirby Bauer
Fuente: https://www.youtube.com/watch?v=G7VXQ2vwA4M

OBSERVACIONES Y/O RESULTADOS

1. **Esquema en el que se detalle el procedimiento para un antibiograma en base al video propuesto.**

2. **Interpretación de resultados**

N° de muestra	Resultados	Interpretación	Posibles mecanismos de resistencia

3. Detalle la siguiente información de los antibióticos utilizados en el antibiograma

Antibiótico	Estructura química	Mecanismo de acción	Mecanismo de resistencia	Efecto bactericida/bacteriostático
Ejemplo: Amoxicilina	Betalactamico penicilina	Inhibidor de la síntesis de la pared celular	Modificación de enzimas Modificación del sitio diana	Bactericida

CONCLUSIONES

(Espacio para que desarrollen los estudiantes)

- (Colocar la interpretación general en base a los resultados obtenidos)

RECOMENDACIONES

- Leer la guía de práctica con anticipación al día de realización.
- Revisar los contenidos estudiados en la unidad
- Contar con un dispositivo electrónico conectado a una buena señal de internet
- Contar con los insumos necesario para el desarrollo de la práctica.

CUESTIONARIO

1. ¿Qué es un antibiograma y cuál es la importancia para la evaluación in vitro de la susceptibilidad frente a los antibióticos?
2. ¿Qué es la resistencia bacteriana y como puede transmitirse?
3. ¿Qué medio se utiliza para realizar pruebas de susceptibilidad a antibióticos? si las especificaciones del fabricante son: disolver 25 g de medio en 1 litro de agua destilada, describa el proceso para preparar 55 cajas del medio de cultivo.
4. Realice un esquema en el que resuma los mecanismos de resistencia que presentan las bacterias frente a los diferentes grupos de antibióticos y a que familias de antibióticos se asocian estos mecanismos de resistencia. (Cap 16. Libro Microbiología Liébana Ureña)
5. Investigue ¿Cuáles son los antibióticos que se prescriben en procesos infecciosos orales?
6. Si un paciente presenta el siguiente resultado en el antibiograma: Gentamicina (S), Amoxicilina (S), Eritromicina (S), Cefazolina (R), Amoxicilina + Ac. Clavulámico (S). Mencione cual es el posible mecanismo de resistencia del microorganismo. Justifique su respuesta.
7. Mujer de 45 años presenta disuria y polaquiuria. Su médico diagnostica infección urinaria y prescribe trimetoprima-sulfametoxazol por 3 días. Es su tercera ITU en un año, todas tratadas igual. La paciente interrumpe el antibiótico al sentirse mejor. Una semana después acude al hospital con fiebre, escalofríos y síntomas urinarios. Urocultivo*: E. coli* >100,000 UFC/mL, resistente a trimetoprima-sulfametoxazol. 1. ¿Qué factores contribuyeron al desarrollo de resistencia antimicrobiana en este caso, y cómo se relacionan con la recurrencia y agravamiento de la infección urinaria?

FIRMA DOCENTE	FIRMA RESPONSABLE DE LABORATORIO
MsC. Silvia Reinoso O.	**Dr. Carlos Espinoza**