

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

FACULTAD DE QUIMICA



TESINA

SOBRE SEMINARIO DE  
MICOLOGIA MEDICA



*presenta:*

*Yolanda Esthela Martinez y Valdez*

J50347

QUERETARO, QRO.

1980

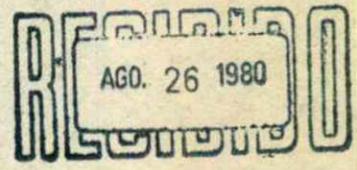
No. Reg. 3  
No. Título  
Clas.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUIMICA

FACULTAD DE QUIMICA  
BIBLIOTECA



❖ U. A. Q. ❖

TESINA

SOBRE SEMINARIO DE

MICOLOGIA MEDICA

FACULTAD DE  
QUIMICA



BIBLOTECA



presenta:

*Yolanda Esthela Martínez y Valdez*

QUERETARO, QRO

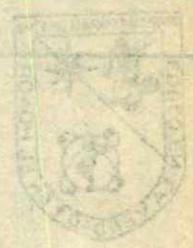
1980

No. Adq. J50347

No. Título

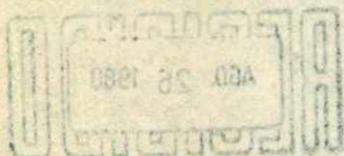
Clas. TS 616.969

M385m



FACULTAD DE QUIMICA

FACULTAD DE QUIMICA  
BIBLIOTECA



\* U. A. Q. \*

TESINA

SOBRE SEMINARIO DE

MICOLOGIA MEDICA



BIBLIOTECA

QUERETARO, GRO.

1980

UNIVERSIDAD AUTONOMA

DE

QUERETARO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

SEMINARIO

DE

MICOLOGIA MEDICA

TRABAJO

1

TEMA

FISIOLOGIA DE LOS GONGOS

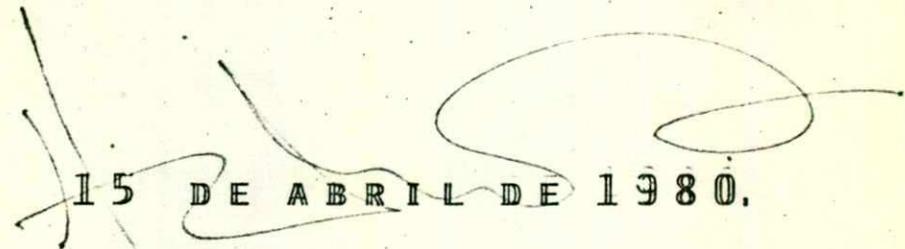
PROFESOR

Q.F.B. JORGE C. H. DE DIEGO. ✓

ALUMNA

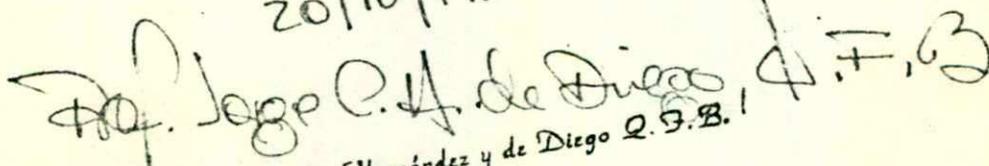
YOLANDA ESTHÉLA MARTÍNEZ  
Y VALDÉZ ✓

FECHA

  
15 DE ABRIL DE 1980.

~~ACREDITADA~~ "B"

20/10/1980

  
Jorge Carlos Hernández y de Diego Q.F.B. ✓

TEMAS

1.- FISILOGIA DE LOS HONGOS.

2.- CANDIDA ALBICANS.

3.- PRACTICA EN LABORATORIO.

I N D I C E

TEMA NO. 1

FISIOLOGIA DE LOS HONGOS

- 1.- GENERALIDADES.
- 2.- CARACTERES.
- 3.- ESTRUCTURAS SOMATICAS.
- 4.- NUTRICION.
- 5.- REDUCCION QUIMICA.
- 6.- MEDIO DE CULTIVO.
- 7.- ESTRUCTURA.
- 8.- MICROSCOPIA.
- 9.- CRECIMIENTO.
- 10.- CURVAS.
- 11.- CRECIMIENTO DE COLONIAS.
- 12.- METODOS DE PRESERVACION.
- 13.- DROGAS.
- 14.- CONCLUSIONES.
- 15.- BIBLIOGRAFIA.

- - -

# INDICE

TEMA NO. 2

## CANDIDA ALBICANS

### I 1.- GENERALIDADES.

- 1.- LEVADURAS.
- 2.- MORFOLOGIA.
- 3.- REPRODUCCION.
- 4.- FISION BINARIA.
- 5.- REPRODUCCION SEXUAL.

### II.- CANDIDIASIS.

- 1.- SINONIMIA.
- 2.- DEFINICION.
- 3.- DISTRIBUCION GEOGRAFICA.
- 4.- FUENTES DE INFECCION.
- 5.- SINTOMATOLOGIA.
- 6.- EXAMEN DE LABORATORIO.

### III.- MICOLOGIA.

- 1.- EXAMEN DIRECTO.
- 2.- CULTIVOS.
- 3.- INOCULACION ANIMAL.
- 4.- DIAGNOSTICO MICOLOGICO.
- 5.- PATOLOGIA.
- 6.- BIOPSIA.
- 7.- INMUNOLOGIA.
- 8.- HIPERSENSIBILIDAD.
- 9.- DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.
- 10.- PRONOSTICO.

### IV.- CONCLUSIONES.

### V.- BIBLIOGRAFIA.

INDICE

TEMA N.º 3

PRACTICA EN LABORATORIO.

- 1.- PREPARACION DE SOLUCION.
- 2.- OBSERVACION DE ESPORAS.
- 3.- ACTINOMICETOS.
- 4.- LEVADURAS.
- 5.- DIFERENCIACION DE CANDIDA ALBICANS.
- 6.- HONGOS OPORTUNISTAS.
- 7.- DERMATOFITOS.
- 8.- PRUEBAS DE SUCEPTIBILIDAD.
- 9.- OBJETIVOS.
- 10.- INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA.
- 11.- BIBLIOGRAFIA.

---

## GENERALIDADES.

LOS HONGOS SON VEGATALES SIMPLES INCOLOROS, Y TIENEN EN SUS CELULAS VERDADEROS NUCLEOS TIPICOS QUE SE REPRODUCEN POR MEDIO DE ESPORAS Y CARECEN DE CLOROFILIA, TIENEN EL CUERPO-CONSTITUIDO DE FILAMENTOS QUE GENERALMENTE SE RAMIFICAN Y QUE ESTOS FILAMENTOS TUBULARES POSEEN PAREDES CELULARES QUE CINTIENEN CELULOSA O QUITINA O AMBAS.

LOS HONGOS SON ORGANISMOS CON NUCLEO PORTADORES DE ESPORAS, ACLOROFILOS QUE POR LO GENERAL SE REPRODUCEN ASEXUAL O SEXUALMENTE.

EL ESTUDIO SISTEMATICO DE LOS HONGOS DATA SOLAMENTE 250 AÑOS PERO SU MANIFESTACION HA SIDO CONOCIDA POR EL HOMBRE DESDE MILES DE AÑOS.

ESPECIFICAMENTE LOS HONGOS SON RESPONSABLES DE GRAN PARTE DE LA DESCOMPOSICION DE LAS SUBSTANCIAS ORGANICAS. LOS HONGOS CAUSAN LA MAYOR PARTE DE LAS ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS, - TAMBIEN MUCHAS ENFERMEDADES DE ANIMALES Y DEL HOMBRE.

## CARACTERES.

LOS HONGOS CONSTITUYEN UN GRUPO DE ORGANISMOS VIVOS DESPROVISTOS DE CLOROFILA, SON GENERALMENTE INMOVILES, AUNQUE PUEDEN TENER CELULAS REPRODUCTORAS MOVILES, SE REPRODUCEN POR MEDIO DE ESPORAS, NO POSEEN TALLOS, RAICES NI HOJAS, NI TIENEN UN SISTEMA VASCULAR DESARROLLADO, SON POR LO GENERAL FILAMENTOSOS Y MULTICELULARES, SU NUCLEO PUEDE OBSERVARSE CON RELATIVA FACILIDAD, SU ESTRUCTURA SOMATICA SALVO ALGUNAS EXCEPCIONES MUESTRA PARA DIFERENCIACION Y PRACTICAMENTE NINGUNA DIVISION DEL TRABAJO.

LOS FILAMENTOS QUE CONSTITUYEN EL CUERPO DE UN HONGO SE ALARGAN POR CRECIMIENTO APECAL, PERO LA MAYOR PARTE DEL ORGANISMO ES POTENCIALMENTE CAPAZ DE CRECIMIENTO Y UN PEQUEÑO FRAGMENTO DE CUALQUIER PARTE DEL HONGO, ES SUFICIENTE PARA COMENZAR UN NUEVO INDIVIDUO. LAS ESTRUCTURAS REPRODUCTORAS ESTAN DIFERENCIADAS DE LAS ESTRUCTURAS SOMATICAS Y EXHIBEN UNA VARIEDAD DE FORMAS QUE SE UTILIZAN PARA LA CLASIFICACION, Y POR LO GENERAL LAS PARTES SOMATICAS SON MUY SIMILARES ENTRE SI.

#### ESTRUCTURAS SOMATICAS.

EL TALO DE LOS HONGOS ESTA FORMADO TÍPICAMENTE POR HILOS O FILAMENTOS MICROSCOPICOS, CUYAS RAMAS DISPUESTAS EN TODAS DIRECCIONES SE ENTIENDEN SOBRE O DENTRO DEL SUBSTRATO UTILIZADO COMO ALIMENTO Y SE LE DONOMINA A CADA UNO DE LOS FILAMENTOS COMO \* HIFAS \* TEJIDOS DE TELA DE ARAÑA. LAS HIFAS ESTAN CONSTITUIDAS POR UNA PARED TUBULAR DELGADO, TRANSPARENTE INTERIORMENTE LLENA O SOLO REVESTIDA POR UN ESTRATO DE PROTOPLASMA EL CUAL PUEDE SER CONTINUO O INTERRUMPIDO A INTERVALOS IRREGULARES POR TABIQUES O PAREDES TRANSVERSALES QUE DIVIDEN A LAS HIFAS EN CELULAS, LAS PAREDES TRANSVERSALES SE LLAMAN SEPTAS -- PARTICION O CERCO.

EN LA FORMA SEPTADA EL PROTOPLASMA DE UNO Y OTRO LADO DEL TABIQUE SE CONECTAN POR FILAMENTOS DE SUBSTANCIA VIVA QUE PASAN A TRAVES DE UN PORO CENTRAL DEL SEPTO.

LA COMPOSICION QUIMICA DE LA PARED DE LAS CELULAS NO ES LA MISMA EN TODOS LOS HONGOS, EN LA MAYORIA DE LOS HONGOS PARTICULARMENTE EN LAS FORMAS SUPERIORES, LA PARED DE LA CELULA ESTA COMPUESTA PRINCIPALMENTE POR QUITINA, ALGUNOS CASOS LAS SUBSTANCIAS PRESENTES EN LAS HIFAS JOVENES PUEDEN DESAPARECER CASI COMPLETAMENTE CUANDO LAS HIFAS ENVEJECEN.

LOS HONGOS POSEEN NUCLEOS ORGANIZADOS QUE SE PUEDEN OBSERVAR CADA UNO CON SU MEMBRANA NUCLEAR, SU NUCLEOLO, Y LOS FILAMENTOS DE CROMATINA QUE DURANTE LA DIVISION SE ORGANIZAN EN CROMOSOMAS.

LOS NUCLEOLOS DE LAS PARTES SOMATICAS DE LA MAYORIA DE LOS HONGOS SON EXTREMADAMENTE PEQUEÑOS.

LOS HONGOS EN CUYAS HIFAS NO HAY SEPTAS LOS LLAMADOS ASEPTADOS, LOS NUCLEOS ESTAN INCLUIDOS EN EL CITOPLASMA Y DISTRIBUIDOS MAS O MENOS UNIFORMEMENTE EN TODA LA MASA, Y ESTE ESTADO SE LLAMA «CENOCITICO» CADA UNA DE LAS CELULAS DE LAS HIFAS SEPTADAS PUEDEN CONTENER UNO, DOS O MUCHOS NUCLEOLOS.

LA MASA DE HIFAS QUE CONSTITUYE EL TALO DE UN HONGO SE LLAMA «MICELIO» EL MICELIO DE ALGUNOS HONGOS SUPERIORES FORMA CORDONES GRUESOS EN ALGUNOS DE ESTOS CORDONES « LAS RIZOMORFAS » LAS HIFAS PIERDEN SU INDIVIDUALIDAD Y SE FORMAN TEJIDOS COMPLEJOS QUE MUESTRAN UNA DIVISION DE TRABAJO.

LOS CORDONES TIENEN UNA CORTEZA GRUESA Y DURA Y UN EXTREMO DE CRECIMIENTO CUYA ESTRUCTURA RECUERDA LA DEL EXTREMO DE UNA RAIZ.

LOS MICELIOS DE LOS HONGOS PARASITOS CRECEN SOBRE LA SUPERFICIE O MAS A MENUDO DENTRO DEL HOSPEDANTE YA EXTENDIENDOSE POR ENTRE LAS CELULAS O BIEN PENETRANDO EN ELLAS. SI EL MICELIO ES INTERCELULAR EL ALIMENTO SE ABSORBE A TRAVES DE LA PARED O MEMBRANA DE LA CELULA DEL HOSPEDANTE. SI EL MICELIO PENETRA DENTRO DE LAS CELULAS DE LA PARED DE LAS HIFAS SE PONEN EN CONTACTO DIRECTO CON EL PROTOPLASMA DEL HOSPEDANTE.

EL MICELIO GENERALMENTE COMIENZA COMO UN TUBO GERMINAL CORTO EMERGENTE DE UNA ESPORA EN GERMINACION, LAS ESPORAS

SON PEQUEÑAS UNIDADES DE PROPAGACION PRODUCIDAS POR LA MAYORIA DE LOS HONGOS Y SIRVEN PARA PRODUCIR NUEVOS INDIVIDUOS DE LA MISMA ESPECIE, EL MICELIO TIENDE A CRECER MAS O MENOS IGUALMENTE EN TODAS DIRECCIONES.

#### NUTRICION .

LOS HONGOS AL IGUAL QUE LA MAYORIA DE LAS BACTERIAS SON HETEROTROFOS PUES NINGUN HONGO ES CAPAZ DE CRECER BIEN EN USENCIA DE SUBSTANCIAS ALIMENTICIAS ORGANICAS, Y NINGUNO ES CAPAZ DE UTILIZAR EL DIOXIDO DE CARBONO COMO UNICA FUENTE DE CARBONO.

LOS HONGOS OBTIENEN SU ALIMENTO COMO PARASITOS INFECTANDO ORGANISMOS VIVOS O COMO SAPROBIOS \*VIDA PODRIDA\* ATACANDO SUBSTANCIAS ORGANICAS MUERTAS, LA MAYORIA DE LOS HONGOS CONOCIDOS PARASITOS O NO SON CAPACES DE VIVIR SOBRE MATERIA ORGANICA MUERTA, COMO LO DEMUESTRA EL HECHO DE PODER CULTIVARLOS ARTIFICIALMENTE SOBRE MEDIOS SINTETICOS.

LOS HONGOS QUE VIVEN SOBRE LA SUBSTANCIA MUERTA SON INCAPACES DE INFECTAR LOS ORGANISMOS VIVOS Y SE LLAMAN SAPROBIOS OBLIGADOS. AQUELLAS QUE SEGUN LAS CIRCUNSTANCIAS PUEDEN CAUSAR ENFERMEDAD O VIVIR SOBRE SUBSTANCIA ORGANICA MUERTA SE LLAMAN PARASITOS FACULTATIVAS \*SAPROBIOS FACULTATIVOS\* Y LOS QUE SOLO PUEDEN VIVIR SOBRE PROTOPLASMA VIVO PARASITOS OBLIGADOS.

LOS HONGOS SE DIFERENCIAN DE LA MAYORIA DE LAS PLANTAS, POR REQUERIR ALIMENTO YA ELABORADO PUES SON INCAPACES DE MANUFACTURAR EL PROPIO, PERO CUANDO DISPONEN DE CARBOHIDRATOS EN CUALQUIER FORMA, PREFERENTEMENTE GLUCOSA, SACAROSA O MALTOSA, LA MAYORIA DE LOS HONGOS PUEDEN SINTETIZAR SUS PROPIAS PROTEINAS, UTILIZANDO FUENTES INORGANICAS U ORGANICAS DE NITROGENO Y DIVERSOS ELEMENTOS MINERALES AGENCIALES PARA SU CRECIMIENTO.

LOS ESTUDIOS DE LABORATORIO HAN ESTABLECIDO QUE EL C, H, O, N, P, K, MG, S, B, MN, CU, MO, FE, Y ZN, SON NECESARIOS PARA MUCHOS HONGOS.

COMO REGLA GENERAL LA GLUCOSA ES LA MEJOR FUENTE DE CARBON Y LOS COMPUESTOS ORGANICOS NITROGENADOS LA MEJOR FUENTE DE NITROGENO, LE SIGUEN LOS COMPUESTOS AMONIACALES Y LOS NITRATOS. MUCHOS HONGOS SON CAPACES DE SINTETIZAR LAS VITAMINAS QUE REQUIEREN PARA SU CRECIMIENTO Y REPRODUCCION.

LOS HONGOS GENERALMENTE ALMACENAN EL EXCESO DE ALIMENTO EN FORMA DE GLUCOGENO O DE ACEITE, CADA HONGO TIENE SUS EXIGENCIAS ALIMENTICIAS ALGUNOS SON OMNIVOROS Y PUEDEN SUBSISTIR SOBRE CUALQUIER SUBSTRATO QUE CONTENGA SUBSTANCIAS ORGANICAS. OTROS HONGOS SON MAS RESTRINGIDOS EN SUS DIETAS.

LAS ENZIMAS QUE UN HONGO PUEDE PRODUCIR GOBIERNAN EN GRAN MEDIDA DE SU CAPACIDAD PARA UTILIZAR COMO ALIMENTO CIERTAS SUBSTANCIAS.

A LA NUTRICION LO INCUBREN LAS RELACIONES ENTRE UN MICROORGANISMO Y SU AMBIENTE. CON RESPECTO A SUS REQUERIMIENTOS MATERIALES PARA LA VIDA Y LA REPRODUCCION, TODOS LOS DISTINTOS MICRO ORGANISMOS PARA SU NUTRICION REQUIEREN DE DOS COSAS, ENERGIA Y MATERIAS PRIMAS PARA LA SINTESIS DE SUS CONSTITUYENTES CELULARES.

DESDE EL PUNTO DE VISTA DEL SUMINISTRO DE ENERGIA EXISTEN POCAS DIFERENCIAS FUNDAMENTALES ENTRE LAS BACTERIAS QUIMIOSINTETIZANTES Y LOS MICROORGANISMOS HETEROTROFOS. EN AMBOS CASOS LAS FUENTES PRINCIPALES DE ENERGIA SON REACCIONES DE OXIDACION, EN QUE INTERVIENEN, RESPECTIVAMENTE INORGANICOS U ORGANICOS. ESTOS SIRVEN PARA PROPORCIONAR CAPACIDAD REDUCTORA Y TAMBIEN FOSFATOS DE ALTA ENERGIA POR FOSFORILIZACION OXIDATIVA.

COMO PUEDE SUPONERSE LA MAYORIA DE LOS ORGANISMOS -  
DE ESTA CATEGORIA SON AEROBIOS YA QUE EL RENDIMIENTO ENERGETICO -  
DE UNA REACCION DE OXIDACION ES PEQUEÑA SI SIRVEN COMO ACEPTO -  
RES FINALES DE HIDROGENO SUBSTANCIAS QUE ESTEN MENOS OXIDADAS --  
QUE EL OXIGENO ATMOSFERICO. LOS ORGANISMOS HETEROTROFOS QUE COM -  
PRENDEN LA MAYORIA DE LAS BACTERIAS, HONGOS Y PROTOZOOS, UTILI -  
ZAN UNA AMPLIA SERIE DE COMPUESTOS ORGANICOS COMO FUENTE DE ENER -  
GIA EN LAS REACCIONES DE OXIDACION.

### REDUCCIONES QUIMICAS.

EN CONDICIONES ANAEROBIAS LA ENERGIA QUE SE HA HE--  
CHO ASEQUIBLE POR LAS REACCIONES CATABOLICAS ES SOLO UNA PEQUEÑA  
PROPORCION DE LA QUE SE OBTIENE EN CONDICIONES AEROBIAS. ESTO -  
SUCEDE PORQUE LA ENERGIA LIBERADA EN UNA REACCION DE OXIDACION -  
REDUCCION ES PROPORCIONAL A LA DIFERENCIA EN EL POTENCIAL REDOX -  
DE LA REACCION DE DONACION DE HIDROGENO Y EL DE LA REACCION DE -  
ACEPTACION DE HIDROGENO. EN EL METABOLISMO AEROBIO EL ACEPTOR -  
FINAL ES EL OXIGENO ATMOSFERICO, PERO EN LOS ORGANISMOS ANAERO -  
BIOS LOS ACEPTORES FINALES DE HIDROGENO SON ORDINARIAMENTE COM -  
PUESTOS INTERMEDIOS METABOLICOS, COMO ACETALDEHIDO, ACIDO PIRUVI -  
CO O ACIDO OXALACETICO CUYOS POTENCIALES REDOX SON MUCHO MAS BA -  
JOS QUE EL DEL OXIGENO Y, POR CONSIGUIENTE, ESTAN MAS CERCA DE -  
LOS POTENCIALES REDOX DE LAS REACCIONES DE DONACION DE OXIGENO -  
OXIDACION\* QUE SIRVEN COMO FUENTE DE ENERGIA. POR CONSIGUIENTE  
EN CONDICIONES ANAEROBIAS CUALQUIER REACCION DE UN POTENCIAL RE -  
DOX MAS ELEVADO, QUE PUEDA SERVIR COMO ACEPTORA DE HIDROGENO, --  
DETERMINARA UN INCREMENTO DE LA ENERGIA DISPONIBLE Y PODRA SER -  
CONSIDERADA POR SI MISMA COMO UNA FUENTE DE ENERGIA. EN LOS --  
ANAEROBIOS, MUCHAS DE LAS OXIDACIONES INORGANICAS ANTES DESCRI -  
TAS PUEDEN INVERTIRSE PARA SERVIR COMO REACCIONES ACEPTORAS DE -  
HIDROGENO CON POTENCIALES REDOX MUCHO MAS ELEVADOS QUE LOS DE --  
LAS FERMENTACIONES TIPICAS. DAREMOS AQUI ALGUNOS EJEMPLOS.

REDUCTORES DE NITRATOS.- UN GRAN NUMERO DE ORGANISMOS SON CAPACES DE REDUCIR LOS NITRATOS A AMONIACO, ESTE ES UN PASO ESENCIAL PARA LA UTILIZACION DE LOS NITRATOS COMO FUENTE DE NITROGENO PARA EL CRECIMIENTO. ALGUNOS ORGANISMOS PUEDEN -- INCLUSO UTILIZAR ESTA REACCION COMO UNA REACCION DE ACEPTACION DE HIDROGENO EN CONDICIONES ANAEROBIAS, EN ESTAS CIRCUNSTANCIAS SE ACUMULA EL AMONIACO EN EL MEDIO DE CULTIVO. DE ESTE MODO REDUCE LOS NITRATOS A AMONIACO. ES MAS FRECUENTE, SIN EMBARGO, -- QUE LOS ANAEROBIOS REDUZCAN LOS NITRATOS A NITRITOS, A OXIDO -- NITROSO O A NITROGENO.

#### MATERIAS PRIMAS DE SINTESIS.

CARBONO.- LA DIVISION DE LOS MICROORGANISMOS EN AUTOTROFOS Y HETEROTROFOS SE BASA EN LAS DIFERENCIAS CON RESPECTO A SU NUTRICION CARBONADA.

LOS ORGANISMOS AUTOTROFOS PUEDEN ASIMILAR EL DIOXIDO DE CARBONO COMO UNICA FUENTE DE CARBON, MIENTRAS QUE LOS ORGANISMOS HETEROTROFOS REQUIEREN COMPUESTOS ORGANICOS COMO MATERIAS PRIMAS PARA SUS ACTIVIDADES SINTETIZANTES, AUNQUE ESTA DISTINCION ESTA LEJOS DE SER TAJANTE.

HETEROTROFOS.- EXISTE UNA GRAN VARIACION EN LA COMPLEJIDAD DE LOS COMPUESTOS ORGANICOS QUE NECESITAN LOS HETEROTROFOS PARA SU CRECIMIENTO. ALGUNOS MICROORGANISMOS, COMO LAS LEVADURAS Y ALGUNOS PROTOZOOS, PUEDEN UTILIZAR MATERIALES TAN --- SENCILLOS COMO EL ACETATO COMO PUNTO DE PARTIDA PARA EL METABOLISMO, AUNQUE ALGUNO DE ESTOS ORGANISMOS TIENEN QUE TOMAR UNA -- PEQUEÑA PROPORCION DE CARBONO EN FORMA DE VITAMINA. LOS AZUCARES SENCILLOS CONSTITUYEN EL SUSTRATO CARBONADO UTILIZABLE CON MAYOR FACILIDAD PARA MUCHOS HETEROTROFOS Y LA FUENTE UNICA DE -- CARBONO PARA ALGUNOS SAPROFITOS Y PARASITOS FACULTATIVOS. SIN EMBARGO, OTROS HETEROTROFOS REQUIEREN ADEMAS DE LOS AZUCARES, --

COMPUESTOS ORGANICOS MAS COMPLICADOS COMO LAS VITAMINAS, LOS PARASITOS OBLIGADOS EXIGEN PROBABLEMENTE TAMBIEN COMPUESTOS INTERMEDIOS METABOLICOS LABILES QUE SE PUEDEN OBTENER SOLO DE LAS CELULAS O DE OTROS ORGANISMOS VIVIENTES.

NITROGENO.- LOS MICROORGANISMOS EXHIBEN UNAS VARIAS CAPACIDADES DE UTILIZACION FRENTE A DIFERENTES FUENTES DE NITROGENO PARA LA SINTESIS DE PROTEINAS Y DE ACIDOS NUCLEICOS. MUCHOS ORGANISMOS SON AUTOTROFOS CON RESPECTO A SUS EXIGENCIAS DE NITROGENO, PUDIENDO CRECER CON COMPUESTOS INORGANICOS COMO UNICA FUENTE DE NITROGENO, COMO NITRATOS, AMONIACO E INCLUSO NITROGENO GASEOSO. OTROS MICROORGANISMOS, ESPECIALMENTE ALGUNAS BACTERIAS Y PROTOZOOS EXIGEN FORMAS ORGANICAS DE NITROGENO, COMO AMONIACO, Y BASES PURICAS Y PIRIMIDINICAS. LA NUTRICION DE ESTOS ORGANISMOS ES UNA CONSECUENCIA DE HABER PERDIDO POR MUTACION GENICA, A TRAVES DE SU EVOLUCION, ALGUNO DE LOS SISTEMAS ENZIMATICOS QUE SE ENCUENTRAN EN LOS AUTOTROFOS CON RESPECTO AL NITROGENO. CUANDO LOS ORGANISMOS, EN EL LABORATORIO, SE CULTIVAN REPETIDAMENTE POR PASES EN MEDIOS RICOS EN MATERIA ORGANICA, APARECEN PERDIDAS SIMILARES CONSECUTIVAS A MUTACIONES.

NITRATOS DE AMONIACO.- LA MAYORIA DE LAS ALGAS Y HONGOS Y BACTERIAS PUEDEN UTILIZAR COMO UNICA FUENTE DE NITROGENO LOS NITRATOS Y LAS SALES AMONIACALES. SON BASTANTE MAS LOS ORGANISMOS QUE PUEDEN UTILIZAR EL AMONIACO QUE LOS QUE PUEDEN UTILIZAR LOS NITRATOS, Y ESTO SE CORRESPONDE CON LOS SISTEMAS BIOQUIMICOS DE LA ASIMILACION DE LOS NITRATOS. ESTA CONSTA PROBABLEMENTE DE UNA REDUCCION A NITRITO, A HIPONITRITO, A HIDROXILAMINA Y FINALMENTE, A AMONIACO, EL CUAL SE ASIMILA DESPUES A AMINOACIDOS Y GASES NITROGENADA.

VITAMINAS.- SE DA EL NOMBRE DE VITAMINAS A LOS MATERIALES ORGANICOS COMPLEJOS QUE SON REQUERIDOS EN PEQUEÑAS CANTIDADES POR LOS ORGANISMOS VIVIENTES PARA SU NORMALIDAD O PARA SU CRECIMIENTO.

LO ESCENCIAL DE ESTA DEFINICIÓN ES QUE SE REQUIEREN PEQUEÑAS CANTIDADES, SE EXCLUYEN, PUES LOS MATERIALES QUE SE UTILIZAN ORDINARIAMENTE POR LOS HETEROTROFOS COMO FUENTES PRINCIPALES DE ENERGIA, DE CARBONO O DE NITROGENO, NO EXISTE UNA DISTINCION TAJANTE ENTRE LAS VITAMINAS Y AQUELLOS AMINOACIDOS Y BASES PARA LOS CUALES PUEDEN TENER LOS ORGANISMOS UNA EXIGENCIA ESPECIFICA, PERO EN LA PRACTICA ESTOS COMPUESTOS NO SE CONSIDERAN COMO VITAMINAS. EL CONCEPTO DE LAS VITAMINAS HA SIDO DE MAYOR VALOR EN EL ESTUDIO DE LA NUTRICION ANIMAL Y EN PARTICULAR DE LAS EXIGENCIAS DIETETICAS HUMANAS, PERO EL DESCUBRIMIENTO DE QUE LOS MICROORGANISMOS PUEDEN TENER EXIGENCIAS SEMEJANTES HA HECHO QUE SE VERIFIQUEN AMPLIOS ESTUDIOS SOBRE ESTE ASPECTO DE LA MICROBIOLOGIA. MUCHOS MICROORGANISMOS Y ESPECIALMENTE LAS BACTERIAS Y LOS PROTOZOOS NECESITAN PARA SU CRECIMIENTO DE MUCHOS DE LOS COMPUESTOS QUE SE HAN VISTO QUE SON NECESARIOS PARA CONSERVAR LA SALUD DE LOS ANIMALES SUPERIORES, ADEMAS MUCHAS BACTERIAS MUESTRAN TAMBIEN EXIGENCIAS ESPECIALES QUE NO EXHIBEN LOS ANIMALES.

VITAMINAS Y ENZIMAS.- SE HA DEMOSTRADO QUE A UN NUMERO CONSIDERABLE DE VITAMINAS SON NECESARIAS COMO CONSTITUYENTES O PRECURSORAS DE ENZIMAS Y DE COENZIMAS. LA CANTIDAD DE UNA ENZIMA QUE CONTIENE UNA CELULA ES PROBABLEMENTE MUY PEQUEÑA Y ESTO EXPLICA LOS PEQUEÑISIMOS REQUERIMIENTOS DE SUBSTANCIAS VITAMINICAS QUE MUESTRAN NORMALMENTE LAS CELULAS. EN ESTE LUGAR NO ES POSIBLE MAS QUE DAR UNOS POCOS EJEMPLOS, PERO ESTOS BASTARAN PARA MOSTRAR LAS RELACIONES GENERALES ENTRE LAS VITAMINAS Y LA NUTRICION Y EL METABOLISMO.

A.- LA TIAMINA.- \*VITAMINA B1\* ES METABOLICAMENTE-ACTIVA, LO MISMO QUE SU DERIVADO PIROFOSFORICO, LA DIFOSFOTIAMINA, QUE ES UNA COENZIMA IMPORTE PARA CIERTO NUMERO DE ENZIMAS QUE CATALIZAN LA RUPTURA DE LOS ENLACES CARBONO - CARBONO.

TODOS LOS ORGANISMOS ESTUDIADOS PUEDEN LLEVAR A CABO LA FOSFORILIZACION DE LA TIAMINA, PERO VARIA SU CAPACIDAD PARA SINTETIZAR LA TIAMINA MISMA. MUCHOS PUEDEN SINTETIZAR LA MOLECULA ENTERA, ALGUNOS REQUIEREN SOLO PIRIMIDINA Y OTROS TIAZOL OTROS PUEDEN COMBINAR AMBAS PARTES SI SE LES SUMINISTRA, Y UNOS POCOS PRINCIPALMENTE LEVADURAS PUEDEN UTILIZAR SOLAMENTE LA TIAMINA MISMA. EN MUCHOS MICROORGANISMOS SE HALLA UNA DEFICIENCIA EN TIAMINA, SEA EN UNA FORMA O EN OTRA, SE TRATA DE LA DEFICIENCIA VITAMINICA MAS FRECUENTE ENTRE LOS HONGOS FILAMENTOSOS.

B.- LA RIBOFLAVINA, - «VITAMINA B<sub>2</sub>» ES UNO DE LOS COMPUESTOS NATURALES QUE SE PUEDEN UTILIZAR COMO FUENTE DEL NUCLEO DE LA ALOXACINA O DE LOS NUCLEOTIDOS FLAVINICOS. ES, EN EFECTO UNA ALOXACINA SUSTITUIDA. LA MAYOR PARTE DE LOS MICROORGANISMOS SON CAPACES DE LA SINTESIS DE SUS FLAVINAS A PARTIR DE COMPUESTOS MAS SENCILLOS.

C.- EL PIRIDOXAL, - «VITAMINA B<sub>6</sub>» LA PIRIDOXINA Y LA PIRIDOXAMINA, ESTRECHAMENTE REALACIONADAS CON EL, SON PRECURSORES DEL PIRIDOXAL FOSFATO. SON VARIABLES SEGUN LOS MICROORGANISMOS, LOS REQUERIMIENTOS EN PIRIDOXAL FOSFATO Y LA CAPACIDAD DE LOS DISTINTOS PRECURSORES PARA SATISFACER AQUELLOS. ENTRE LOS ORGANISMOS QUE EXHIBEN UNA DEFICIENCIA EN PIRIDOXAL FOSFATO VARIOS HONGOS UTILIZAN CON FACILIDAD LA PIRIDOXINA, MUCHAS BACTERIAS UTILIZAN LA PIRIDOXAMINA O EL PIRIDOXAL, UNAS POCAS EXIGEN EL PIRIDOXAL FOSFATO MISMO.

D.- EL ACIDO PANTOTEMICO, - ES UN CONSTITUYENTE IMPORTANTE DEL COMPLEJO PANTOTEMINO DE LA COENZIMA A, TANTO EN LAS BACTERIAS EN LAS ESPECIES DE LACTOBACILLUS Y EN ACETOBACTER -- SUBOXYDANS, COMO EN LAS LEVADURAS TAMBIEN SE HAN DEMOSTRADO REQUERIMIENTOS DE ESTAS VITAMINAS.

E.- OTRAS VITAMINAS.- LOS COMPUESTOS ORGANICOS NECESARIOS PARA EL CRECIMIENTO DE VARIOS MICROORGANISMOS COMPRENDEN LO SIGUIENTE, BIOTINA, ACIDO FOLICO «QUE ES UN PRECURSOR EN ALGUNOS ORGANISMOS ACIDO P-AMINO-BENZOICO», ACIDO LIPOICO, CIANOCOBALAMINA «VITAMINA B<sub>12</sub>» INOSITOL, COLINA, PUTRESCINA, HEMINA Y BASES PURICAS Y PIRIMIDINICAS «O LOS NUCLEOTIDOS DE -- ELLAS».

ELEMENTOS INORGANICOS.- EN LOS CONSTITUYENTES CELULARES DE LOS MICROORGANISMOS SE HALLAN UNOS 20 ELEMENTOS COMBINADOS QUE SON APARENTEMENTE NECESARIOS PARA EL CRECIMIENTO NORMAL. YA SE HA HABLADO DE CARBONO Y DEL NITROGENO, EL HIDROGENO Y EL OXIGENO SE DERIVA DEL AGUA Y DE OTROS COMPUESTOS, EL AGUA ES ESENCIAL PARA TODOS LOS SERES VIVOS, LOS OTROS ELEMENTOS QUIMICOS SE OBTIENEN PRINCIPALMENTE DE FUENTES INORGANICAS PERO ALGUNOS MICROORGANISMOS TIENEN EXIGENCIAS MAS ESPECIALIZADAS Y CIERTOS DE LOS ELEMENTOS NECESITAN HALLARSE EN COMBINACION ORGANICA. SE CONSIDERA EN GENERAL CONVENIENTE LA CLASIFICACION DE LOS ELEMENTOS INORGANICOS EN DOS CLASES, SEGUN LA MAGNITUD DE LOS REQUERIMIENTOS QUE DE ELLOS SE TENGA, LOS ELEMENTOS PRINCIPALES SON AQUELLOS QUE SE NECESITAN EN CANTIDADES RELATIVAMENTE GRANDES, JUGANDO UN IMPORTANTE PAPEL ESTRUCTURAL O FISIOLOGICO, LOS ELEMENTOS SECUNDARIOS «OLIGOELEMENTOS» SON GENERALMENTE COMPONENTES DE ENZIMAS Y DE COENZIMAS Y EN CONSECUENCIAS SE NECESITAN SOLO EN PEQUEÑAS CANTIDADES Y ADEMAS SOLAMENTE DURANTE EL CRECIMIENTO ACTIVO DEL ORGANISMO.

ELEMENTOS PRINCIPALES.- EL FOSFORO ES UN COMPONENTE IMPORTANTE DE LOS NUCLEOTIDOS, ACIDOS NUCLEICOS, FOSFOLIPIDOS Y COMPUESTOS INTERMEDIOS METABOLICOS. LA MAYOR PARTE DE LOS MICROORGANISMOS PUEDEN SATISFACER SUS EXIGENCIAS EN FOSFORO A FAVOR DE LOS ORTOFOSFATOS INORGANICOS, PERO ALGUNOS PUEDEN TENER REQUERIMIENTOS ESPECIFICOS PARA CIERTOS COMPUESTOS FOSFORILIZADOS QUE ELLOS MISMO NO PUEDEN FOSFORILIZAR.

**AZUFRE.**- EL AZUFRE TIENE IMPORTANCIA ESTRUCTURAL COMO CONSTITUYENTE DE LAS PROTEINAS Y TIENE TAMBIEN UN SIGNIFICADO METABOLICO EN LOS GRUPOS PROSTETICOS DE ALGUNAS ENZIMAS Y EN LA COENZIMA A. LOS SULFATOS CONSTITUYEN SU FUENTE MAS COMUN.

**EL POTASIO.**- ES PRINCIPALMENTE IMPORTANTE COMO REGULADOR FISIOLÓGICO Y COMO ACTIVADOR ENZIMÁTICO, LAS PROPIEDADES DE LAS MEMBRANAS SEMIPERMIABLES SE AFECTAN A MENUDO GRAVEMENTE POR LA AUSENCIA DE ESTE ELEMENTO. LOS IONES POTASIOS SE TOMAN FACILMENTE POR TODOS LOS MICROORGANISMOS.

**EL CALCIO.**- LO MISMO QUE EL POTASIO, ES MUY NECESARIO POR SU EFECTO FISIOLÓGICO SOBRE LAS ENZIMAS Y SOBRE LAS MEMBRANAS CELULARES.

**EL MAGNESIO.**- JUEGA UN IMPORTANTE PAPEL EN MUCHOS SISTEMAS ENZIMÁTICOS FUNCIONANDO A MENUDO COMO ENLACES ENTRE UNA ENZIMA Y SU SUSTRATO. ADEMÁS ES UN CONSTITUYENTE DE LA CLOROFILA, Y PUEDE SER UTILIZADO A PARTIR DE SOLUCIONES DE SUS SALES.

**EL SODIO.**- TIENE FUNCIONES SEMAJANTES A LAS DEL POTASIO AUNQUE SE PRESENTE EN GRANDES CANTIDADES EN LAS VACUOLAS DE MUCHOS MICROORGANISMOS, NO ES GENERALMENTE ESENCIAL PARA EL CRECIMIENTO, AUNQUE SE HA DEMOSTRADO UN REQUERIMIENTO ESPECÍFICO DE EL EN LAS ALGAS VERDE-AZULADAS.

**EL HIERRO.**- EL HIERRO SE CONSIDERA A VECES COMO UN ELEMENTO SECUNDARIO, SU EXIENCIA PARTICIPA ALGO DE LAS DE AMBAS CATEGORIAS DE ELEMENTOS. ES NECESARIO PARA LA SINTESIS DE CITOCROMOS Y DE OTRAS ENZIMAS.

## DROGAS

MICOSIS SISTEMATICAS.- LAS INFECCIONES MICOTICAS SON CAUSADAS POR UNA VARIEDAD DE HONGOS Y TIENEN UNA AMPLIA DISTRIBUCION GEOGRAFICA. AUNQUE SU INCIDENCIA ES MUY BAJA, ALGUNAS DE ELLAS OCURREN MUY COMUNMENTE EN CIERTAS PARTES - DEL MUNDO, LA COCCIDIOIDOMICOSIS EN CALIFORNIA, SUS MANIFESTACIONES CLINICAS SON EXCESIVAMENTE VARIADAS, CON ALGUNAS SEMEJANZAS A LAS ENFERMEDADES GRANULOMATOSAS.

COCCIDIOIDOMICOSIS.- LA COCCIDIOIDOMICOSIS ES UNA INFECCION DEBIDA A COCCIDIOIDES IMMITIS, QUE SE ENCUENTRA EN LA PARTE SUROESTE DE LOS ESTADOS UNIDOS, MEXICO, Y SUDAMERICA.

LA FORMA PRIMARIA AFECTA A LOS BRONQUIOS Y LOS PULMONES. LOS SINTOMAS SON FIEBRE, TOS, Y ERITREMA NUDOSOS, LOS GERMENES SE PUEDEN ENCONTRAR EN EL CULTIVO DE ESPUTO, Y LAS PRUEBAS CUTANEAS PUEDEN SER POSITIVAS DESPUES DE 10-14 DIAS.

TRATAMIENTO.- LA ANFOTERICINA B HA PROBADO SER EN ALGUNOS PASIENTES CON COCCIDIOIDOMICOSIS DISEMINADA, PERO NO DEBE SER USADA EN LAS FORMAS BENIGNAS.

HISTOPLASMOSIS.- LA HISTOPLASMOSIS ES CAUSADO POR HISTOPLASMA CAPSULATUM, UN PEQUEÑO ORGANISMO PARECIDO A LAS LEVADURAS EN LOS TEJIDOS, Y UN HONGO PARECIDO AL MOHO EN EL CULTIVO. TIENE UNA DISTRIBUCION MUNDIAL. INVADIR PRIMORDIALMENTE AL SISTEMA RETICULO ENDOTELIAL, CAUSANDO AGRANDAMIENTO DEL HIGADO, BAZO, Y NODULO LINFATICO, Y MANIFESTACIONES COMO FIEBRE, ANEMIA, Y LEUCOPENIA.

NO HAY TERAPEUTICA ESPECIFICA, LA ANFOTERICINA B HA DEMOSTRADO SER UTIL EN ALGUNOS PACIENTES CON HISTOPLASMOSIS PROGRESIVA, LAS SULFONAMIDAS, PUEDEN SER DE VALOR EN LAS FORMAS MODERADAS DE LA FACE AGUDA.

CRIPTOCOCOSIS.- LA CRIPTOCOCOSIS, AFECTA PRIMORDI  
ALMENTE AL RIÑON Y AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL, PERO PUEDE -  
INVADIR OTRAS ESTRUCTURAS, SU DISTRIBUCION ES MUNDIAL Y ES CA  
USADA POR CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. LAS LESIONES CUTANEAS SON-  
PUSTULAS, ULCERAS GRANULOMATOSAS, LA AFECCION MENINGEA ES LA  
LESION HABITUAL DEL SNC, COMUNMENTE LA ENFERMEDAD SE TOMA CO  
MO MENINGITIS TUBERCULOSA, SI NO SE ENCUENTRAN LOS MICROORGA  
NISMOS.

NO HAY TERAPEUTICA ESPECIFICA PARA LA CRYPTOCOCO-  
SIS LA ANFOTERICINA B, HA TENIDO EXITO EN ALGUNOS CASOS.

BLASTOMICOSIS.- LA VARIEDAD NORTEAMERICANA, PRODU  
CE LESIONES GRANULOMATOSAS, ULCERANTES DE LA PIEL, Y LESIONE  
S PARECIDAS A LA TUBERCULOSAS EN LOS PULMONES, Y A VECES EN -  
OTRAS ESTRUCTURAS, HABITUALMENTE LA FORMA CUTANEA NO DA SIN--  
TOMAS GENERALES, PERO LA FORMA PULMONAR, TIENE POR LO GENERAL  
SINTOMAS QUE NO SON DIFERENTES DE AQUELLOS DE LA TUBERCULOSI  
S PULMONAR. LA VARIEDAD SUDAMERICANA AFECTA A LAS MEMBRANAS  
DE LA BOCA Y DEL INTESTINO, PULMONES, PIEL, Y TEJIDO LINFATI  
CO.

TRATAMIENTO.- NO EXISTE TERAPEUTICA ESPECIFICA , -  
LA ANFOTERICINA B, PARECE SER EL MEJOR MEDICAMENTO DISPONIBL  
E PARA EL TRATAMIENTO.

CANDIDIASIS.- LA CANDIDIASIS ES UNA INFECCION DE -  
LA BOCA, VAGINA, PIEL, Y UÑAS LA DISEMINACION A LOS RIÑONES, -  
MIOCARDIO, Y ENCEFALO, SIGUE A LAS ENFERMEDADES DEBILITANTES -  
GRAVES, TRATADAS CON ANTIBIOTICOS Y GLUCOCORTICOIDES, LA END  
OCARDITIS, RESULTA DE LA INOCULACION DE LA VALVULA CARDIACA--  
QUE YA ESTAN DAÑADAS. LA ENFERMEDAD PULMONAR ESTA SIEMPRE SO  
BREPUESTA EN LAS LESIONES PULMONARES PREEXISTENTES. EL HONG  
O OCURRE COMO PARTE DE LA FLORA NORMAL DE LA BOCA, Y PUEDE -  
ESTAR PRESENTE EN GRANDES CANTIDADES DURANTE LA TERAPEUTICA -  
CON ANTIBIOTICOS.

LA ADMINISTRACION I.V. DE ANFOTERICINA B COMO LA

## DESINFECCION ESTERILIZACION

LA DESINFECCION.- ES LA DESTRUCCION DE UNA POBLACION DE MICROORGANISMOS NOCIVOS SIN QUE SEA NECESARIO LLEGAR A UNA ESTERILIZACION ABSOLUTA.

LA ESTERILIZACION, ES LA ERRADICACION COMPLETA DE TODOS LOS MICROORGANISMOS DEL MATERIAL A ESTERILIZAR.

ALGUNOS AGENTES ANTIMICROBIANOS SE UTILIZAN PRINCIPALMENTE PARA MATAR LOS GERMESES, MIENTRAS QUE OTROS SE UTILIZAN PARA DETENER SU CRECIMIENTO O MULTIPLICACION. SE DESCRIBEN, PUES, LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS COMO BACTERICIDAS O BACTERIOSTATICOS, SEGUN SE UTILICEN PARA MATAR LAS BACTERIAS O PARA PARALIZAR SU CRECIMIENTO. LOS AGENTES QUE MATAN SON ESCENCIALES PARA LA ESTERILIZACION Y LA DESINFECCION PERO MUCHOS DE LOS AGENTES TERAPEUTICOS MAS VALIOSOS SON MAS BACTERIOSTATICOS QUE BACTERICIDAS, INHIBIENDO LA MULTIPLICACION DE LOS AGENTES INFECCIOSOS Y CAPACITANDO ASI A LAS DEFENSAS DEL CUERPO PARA DESTRUIRLOS.

DESINFECCION Y ESTERILIZACION.- LA ELECCION DE LOS AGENTES PARA LA DESINFECCION Y LA ESTERILIZACION DEPENDE DE LA NATURALEZA DE LOS MATERIALES TRATADOS O DE SI SE REQUIERE O NO UNA ESTERILIDAD ABSOLUTA. POR EJEMPLO LA UTILIZACION DEL CALOR PARA LA ESTERILIZACION SE LIMITA A LOS MATERIALES QUE NO SE ESTROPEAN POR AQUEL, Y LOS TOXICOS NO SE PUEDEN UTILIZAR PARA LA ESTERILIZACION DE LOS ALIMENTOS O DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.

LA PREPARACION DE LOS INSTRUMENTOS Y EQUIPOS EN LA CIRUGIA ASEPTICA Y LA ESTERILIZACION DE LOS MEDIOS Y APARATOS PARA LOS CULTIVOS DE MICROORGANISMOS PRESENTAN PROBLEMAS SEMEJANTES Y EN ELLAS SE EMPLEAN METODOS SIMILARES.

EL CALOR ES EL AGENTE LETAL MAS COMUN Y EL CALOR HUMEDO, QUE ES MUCHO MAS EFICAZ QUE EL CALOR SECO. SE EMPLEA SIEMPRE QUE ES POSIBLE LA ESTERILIZACION POR EL CALOR HUMEDO-SE LLEVA A CABO DE ORDINARIO EN EL AUTOCLAVE POR EL VAPOR DE AGUA A 121 GRADOS CENTRIGRADOS. ES SUFICIENTE PARA MATAR TODOS LOS ORGANISMOS, PERO GENERALMENTE DURA 20 MINUTOS, LO QUE EN LA PRACTICA ES SUFICIENTE PARA LA MAYORIA DE LOS CASOS. LA TEMPERATURA DE 121 GRADOS CENTRIGRADOS CORRESPONDE A UNA PRESION DE VAPOR DE 1,0546 KG/CM. «O 1 ATMOSFERA» SUPUESTO QUE TODO EL AIRE QUE PREVIAMENTE LLENABA EL AUTOCLAVE HAYA SIDO DESPLAZADO POR EL VAPOR. SI SE VAN A ESTERILIZAR MATERIALES VOLUMINOSOS SE DEBE DAR TIEMPO SUFICIENTE PARA PERMITIR QUE EL CALOR PENETRE EN LOS MATERIALES, Y SE REQUIERE UNA MAYOR EXPOSICION AL VAPOR A PRESION. PARA LOS MATERIALES QUE SE NECESITA MANTENER SECOS \*P. EJ. CRISTALERIA ACEITES\* O A LOS QUE NO PERJUDICA UNA LARGA PERMANENCIA A TEMPERATURA ELEVADA SE UTILIZA EL CALOR SECO EN HORNO A 160 GRADOS CENTRIGRADOS DURANTE UNA HORA. ALGUNOS MEDIOS DE CULTIVO SE ALTERAN MUCHO POR EL TRATAMIENTO POR EL CALOR, DE MODO QUE SE ESTERILIZAN POR OTROS METODOS, COMO LA FILTRACION DE LAS DISOLUCIONES DE AZUCARES O DEL SUERO A TRAVES DE UN VIDRIO POROSO O DE OTRO TIPO DE FILTRO BACTERIOLOGICO. LAS HABITACIONES QUE SE UTILICEN PARA VERIFICAR LAS INOCULACIONES DEBEN ESTAR CONVENIENTEMENTE ESTERILIZADAS CON LUZ ULTRAVIOLETA PRODUCIDA POR UNA LAMPARA DE CUARZO CON VAPOR DE MERCURIO.

EFFECTOS LETALES DEL CALOR.- LAS BACTERIAS SON RAPIDAMENTE DESTRUIDAS POR CALOR, Y LA UTILIZACION DE ESTE EN UNA U OTRA FORMA ES UNO DE LOS MEDIOS MAS CONVENIENTES PARA DESTRUIRLAS. LOS EFFECTOS LETALES DEL CALOR SON INFLUIDOS NOTABLEMENTE POR LA HUMEDAD, EL LLAMADO CALOR HUMEDO ES AGENTE LETAL MUCHO MAS EFICAZ QUE EL CALOR HUMEDO DIFIERE SEGUN LA ESPECIE, LAS FORMAS PATOGENAS, EN GENERAL, SON MENOS RESISTENTES.

LA RESISTENCIA DE UNA ESPECIE DADA DEPENDE DE DOS FACTORES IMPORTANTES, LA CAPACIDAD DE LOS MICROBIOS PARA FORMAR ESPORAS, Y LOS ANTECEDENTES DE CULTIVO.

LAS ESPORAS SIMPLES SON MAS RESISTENTES QUE LAS FORMAS VEGETATIVAS.

LOS CULTIVOS EN CRECIMIENTO ACTIVO EN LA FASE LOGARITMICA, SUELEN SER MENOS RESISTENTES QUE LAS CELULAS EXTRAIDAS DE CULTIVOS QUE CONTIENEN NUMEROS MAXIMOS DE ORGANISMOS VIABLES.

LA MUERTE DE UN MICROBIO POR CALOR DEPENDE NO SOLO DE LA TEMPERATURA ALCANZADA, SINO TAMBIEN DEL TIEMPO DE EXPOSICION, POR EJEMPLO, EL BACILO DE LA TUBERCULOSIS ES DESTRUIDO POR EXPOSICION DE 30 MINUTOS A 58 GRADOS C, 20 MINUTOS A 59 GRADOS C, Y DOS MINUTOS A 65 GRADOS C, ASI, PUES, CABE CALCULAR EL PUNTO TERMINO LETAL DE UNA BACTERIA DADA POR EXPOSICION DE DIVERSAS TEMPERATURAS POR UN TIEMPO CONSTANTE O BIEN EL TIEMPO DE EXPOSICION. AMBOS SON UTILES, PROBABLEMENTE MAS EL ULTIMO.

ESTERILIZACION POR CALOR.- LA APLICACION DE CALOR HUMEDO PARA DESTRUIR BACTERIAS PUEDE HACERSE DE DIVERSAS MANERAS. LA ESTERILIZACION MEDIANTE VAPOR A PRESION ES LA MAS EFICAZ, PORQUE PERMITE LOGRAR TEMPERATURAS SUPERIORES A 100 GRADOS C, EN PRESENCIA DE HUMEDAD.

EL CALOR SECO ES MUCHO MENOS EFICAZ COMO GERMICIDA QUE EL HUMEDO, ES NECESARIO MANTENER TEMPERATURAS DE 160 A 170 GRADOS C, DURANTE DOS A TRES HORAS PARA LOGRAR LA DESTRUCCION COMPLETA.

LA ESTERILIZACION POR CALENTAMIENTO ES UNA TECNICA UTIL Y COMUN DE LA NATURALEZA DEL MATERIAL POR ESTERILIZAR DEPENDE QUE SE USE CALOR HUMEDO O SECO.

LOS MEDIOS BACTERIOLÓGICOS, SOLUCIONES, ETC., SON ESTERILIZADOS POR VAPOR A PRESIÓN EN AUTOCLAVES, SUPONIENDO QUE CONTENGAN SUSTANCIAS TERMOSTABLES, EN TANTO QUE LA VITRERIA, AGUJAS, JERINGAS, SUELEN ESTERILIZARSE MEDIANTE CALOR SECO, EN UNA ESTUFA CON TERMOSTATO.

RADIACION.- LA LUZ VISIBLE EJERCE ESCASOS EFECTOS BIOLÓGICOS SOBRE LOS MICROORGANISMOS QUE NO CONTIENEN CLOROFILA, EXCEPTUANDO LA PRESENCIA DE CIERTOS COLORANTES QUE AUMENTAN LA ABSORCIÓN DE LUZ Y ENERGÍA PARA PRODUCIR INACTIVACIÓN. ESTO PARECE DEBERSE EN GRAN PARTE A LA FORMACIÓN DE PEROXIDOS, Y ES INHIBIDO EN PRESENCIA DE CATALASA. EL FENÓMENO SE LLAMA SENSIBILIZACIÓN FOTODINÁMICA.

LOS EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA RADIACION, COMENZANDO EN LA ZONA ULTRAVIOLETA, SE HACEN INTENSOS Y LA ACTIVIDAD BACTERICIDA BIEN CONOCIDA DE LA LUZ DIRECTA DEL SOL SE DEBE A SU CONTENIDO EN LUZ ULTRAVIOLETA. LOS EFECTOS DE RADIACIONES IONIZANTES, RAYOS X Y RAYOS GAMMA «RAYOS X CORTOS» QUE SON LOS MÁS FRECUENTEMENTE USADOS, RESULTAN AUN MÁS INTENSOS

SON DOSIS RELATIVAMENTE GRANDES DE RADIACION, LOS MICROBIOS, SON INACTIVADOS, YA NO PUEDEN REPRODUCIRSE, O, EN EL CASO DE LOS PATÓGENOS, PRODUCIR INFECCIÓN, AUNQUE NO SE AFECTEN LOS SIGNOS EVIDENTES DE VIABILIDAD, COMO LA RESPIRACIÓN. CON DOSIS MENORES INSUFICIENTES PARA INACTIVAR, LOS MECANISMOS GENÉTICOS DE LOS MICROBIOS IRRADIADOS SE HACEN INESTABLES, Y EL RÉGIMEN DE MUTACIÓN AUMENTA DEL NORMAL ESPONTÁNEO DE QUIZA  $10^{-8}$  HASTA LLEGAR A  $10^{-3}$ .

TANTO LUZ ULTRAVIOLETA COMO LAS RADIACIONES IONIZANTES SON ONDAS ELECTROMAGNÉTICAS EMITIDAS EN CUANTOS, PERO DIFERENTES EN SUS EFECTOS BIOLÓGICOS, QUE SE PRODUCEN POR DIFERENCIAS DE ABSORCIÓN Y PORQUE SUS CUANTOS LLEVAN CANTIDA -

DES MUY DIFERENTES DE ENERGIA.

RADICACION ULTRAVIOLETA.- LOS EFECTOS DE LA RADICACION ULTRAVIOLETA SON MUCHO MENORES QUE LOS DE LA RADICACION IONIZANTE.

RADIACION IONIZANTE.- INCLUYE RAYOS ALFA «NUCLEOS DE ATOMOS DE HELIO» BETA ELECTRONES DE RAPIDO MOVIMIENTO, GAMMA Y X. AL PASAR LA RADIACION IONIZANTE A TRAVES DE UN MICROBIO CHOCA CON ATOMOS SUCESIVOS, EXPULSANDO ELECTRONES Y CREANDO ZONAS CILINDRICAS DE IONIZACION INTENSA. LA IONIZACION SECUNDARIA PRODUCIDA POR LOS ELECTRONES EXPLULSADOS EN DIFERENTES VIAS «RADIACION DELTA» PUEDE TENER SIGNIFICACION CUANTITATIVA, ESPECIALMENTE CON RADIACION ALFA.

LESIONES POR RADIACION.- LOS EFECTOS SON FUNDAMENTALEMTE BIOQUIMICOS Y PARECEN COMPRENDER LESIONES DE MECANISMOS GENETICOS, CON BLOQUEO DE SINTESIS DE DNA. TAMBIEN SE INHIBEN OTRAS REACCIONES SINTETICAS NOTABLEMENTE LA FORMACION DE ENZIMAS DE ADAPTACION. LOS PROCESOS DE DIVISION CELULAR PARECEN AFECTARSE MAS QUE ALGUNOS PROCESOS SINTETICOS, Y CIERTOS BACILOS CONTINUAN CRECIENDO DURANTE UN TIEMPO EN FORMA FILAMENTOSA, PERO NO SE REPRODUCEN.

DESINTEGRACION CELULAR.- LA CELULA BACTERIANA PUEDE SER DESTRUIDA POR MEDIOS FISICOS EN DIVERSAS FORMAS. LAS CELULAS, POR EJEMPLO, PUEDEN SER DESECADAS, COMUNMENTE CON ACETONA, O CONGELADAS, Y TRITURADAS CON ALUMBRE. LA CELULA TAMBIEN PUEDE SER TRITURADA AGITANDO VIGOROSAMENTE CON PEQUEÑAS ESFERAS DE CRISTAL O PARTICULAS SIMILARES.

LAS BACTERIAS TAMBIEN PUEDEN SER DESTRUIDAS SOMETIENDOLAS A CAMBIOS SUBITOS DE PRESION, DEL ORDEN DE 500 A 600 ATMOSFERAS, APLICANDO Y SUSPENDIENDO RAPIDAMENTE LA PRESION.

ELEMENTOS SECUNDARIOS.- EL NUMERO DE ELEMENTOS SECUNDARIOS CONOCIDOS AUMENTA DIA A DIA A MEDIDA QUE LAS TECNICAS MAS DEPURADAS HACEN POSIBLE DEMOSTRAR LA NECESIDAD DE ALGUNOS ELEMENTOS MAS, EN LA ACTUALIDAD SE SABE QUE DETERMINADOS MICROORGANISMOS TIENEN REQUERIMIENTOS DEFINIDOS DE LOS SIGUIENTES,

MN, ZN, MO, CO, B, CO, LA MAYORIA SE PUEDE ASIMILAR A PARTIR DE SALES INORGANICAS, PERO ALGUNOS ORGANISMOS Y PARTICULARMENTE -- LOS PROTOZOOS REQUIEREN QUE EL COBALTO ESTE EN LA FORMA DE CIANOCOBALAMINA COMPLEJO PORFIRINICO QUE CONTIENE COBALTO Y QUE -- FUNCIONA COMO UNA COENZIMA EN LA SINTESIS DE LOS COMPUESTOS -- DE METILO Y DE LOS NUCLEOTIDOS DEL ADN.

#### ENSAYO MICROBIOLOGICO DE NUTRIENTES

EL HECHO DE QUE CIERTOS NUTRIENTES SON NECESARIOS PARA EL CRECIMIENTO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS Y DETERMINAN EL INCREMENTO DEL CRECIMIENTO QUE PUEDE TENER LUGAR, HACE POSIBLE EL CALCULO DE LAS CANTIDADES DE ESOS NUTRIENTES EN LOS EXTRACTOS BRUTOS QUE LOS CONTIENEN, EN GENERAL EL ENSAYO MICROBIOLOGICO DE UN DETERMINADO NUTRIENTE SE BASA EN LA COMPARACION DEL CRECIMIENTO DE UN MICROORGANISMO EN UN MEDIO QUE CONTIENE CIERTAS CANTIDADES DEL EXTRACTO BRUTO, SE SUPONE QUE CUANDO ESTEN PRESENTE IGUALES CANTIDADES DEL NUTRIENTE SE PRODUCIRA UN CRECIMIENTO IGUAL, EL MEDIO DE CULTIVO QUE SE UTILICE EN ESTE PROCEDIMIENTO SE DEBE SELECCIONAR CUIDADOSAMENTE DE MODO QUE CONTenga TODOS LOS NUTRIENTES NECESARIOS PARA UN CRECIMIENTO VIGOROSO CON LA EXCEPCION DEL QUE SE ENSAYA, SE DEBE INCLUIR LAS SUSTANCIAS DE LAS QUE SE SABE QUE ESTIMULAN EL CRECIMIENTO SOLO LIGERAMENTE, PUES DE OTRA MANERA ESTAS SUSTANCIAS PRESENTES EN EL EXTRACTO BRUTO PODRIAN PROPORCIONAR RESULTADOS FALSOS.

INCORPORACION DE NUTRIENTES.- AL CONSIDERAR LA FISILOGIA DE LOS SERES VIVOS SE SUELE SUPONER LA EXISTENCIA EN LAS CELULAS DE MEMBRANAS SEMIPERMIABLES, A LAS QUE CONCIERNE LA REGULACION DE LA INCORPORACION DE AGUA Y DE OTROS NUTRIENTES, NO SIEMPRE SE CONOCE CON CERTEZA LA EXACTA LOCALIZACION DE ESTA MEMBRANA. DESDE EL PUNTO DE VISTA QUIMICO LAS MEMBRANAS SON -- PROBABLEMENTE LIPOPROTEINAS Y LOS ESTUDIOS SOBRE LA PERMIABILIDAD SUGIERE QUE LAS MOLECULAS PEQUEÑAS PUEDEN ENTRAR EN LAS CELULAS A TRAVES DE POROS EN LAS MEMBRANAS. LA MAYORIA DE LOS -- MICROORGANISMOS CRECE NORMALMENTE EN UN MEDIO ACUOSO, LOS COMPUESTOS DE PEQUEÑO PESO MOLECULAR PUEDEN SER INCORPORADAS A TRAVES DE LAS MEMBRANAS DE LA CELULA DESDE LA SOLUCION AMBIENTE. -- EN ALGUNOS PROTOZOOS O MOHOS MUCOSOS, LAS MOLECULAS SON INGERIDAS ENTERAS POR LA CELULA Y DIGERIDAS DESPUES.

INCORPORACION DE AGUA.- CUANDO DOS SOLUCIONES ESTAN SEPARADAS POR UNA MEMBRANA SEMIPERMIABLE, EL AGUA TENDERA A PASAR POR SIFUCION PASIVA DE LA MAS DILUIDAS DE LAS DOS SOLUCIONES A LA MAS CONCENTRADA ESTE PROCESO DE OSMOSIS CONTINUARA -- HASTA QUE LAS CONCENTRACIONES DE AMBAS SOLUCIONES SEA LA MISMA O HASTA QUE SE APLIQUE SOBRE LAS SOLUCION MAS CONCENTRADA UNA PRESION HIDROSTATICA SUFICIENTE. LA MAYORIA DE LAS CELULAS TOMAN EL AGUA POR OSMOSIS. EN LA MAYOR PARTE DE LOS ORGANISMOS -- SE ALCANZA FINALMENTE EL EQUILIBRIO CUANDO LAS MEMBRANAS CELULARES RIGIDAS O LAS MEMBRANAS PLASMATICAS EJERCEN LA SUFICIENTE -- PRESION SOBRE EL CITOPLASMA EN EXPANSION PARA DETENER EL PROCESO DE ENTRADA DE AGUA, EN LOS ORGANISMOS QUE NO TIENEN MEMBRANA RIGIDA NO CABE ESTA RESTRICCION Y EL ORGANISMO SE VE FORZADO A CRECER DENTRO DE UNA ESCALA LIMITADA DE PRESIONES OSMOTICAS O -- DE OTRO MODO TIENE QUE HABER ALGUN MECANISMO PARA EXPULSAR EL EXCESO DE AGUA DE LA CELULA COMO LOS MOVIMIENTOS REGULARES DE -- LAS VACUOLAS CONTRACTILES DE ALGUNOS PROTOZOOS Y ALGAS.

DIGESTION EXTRACELULAR.- MUCHOS ORGANISMOS SAPROFITOS Y PARASITOS TIENEN LA CAPACIDAD DE DIGERIR A FAVOR DE ENZIMAS QUE SEGREGAN EN LA SOLUCION AMBIENTE PARTICULAS DE MATERIALES ORGANICOS QUE SON DEMASIADO GRANDES PARA ENTRAR EN LAS CELULAS DIRECTAMENTE POR DIFUSION PASIVA O POR LA ACCION DE LAS PERMIASAS. LOS PRODUCTOS DE LA DIGESTION SON GENERALMENTE DE BAJO PESO MOLECULAR, LOS CUALES PUEDEN ASI ENTRAR CON FACILIDAD EN LAS CELULAS A TRAVES DE LAS MEMBRANAS PLASMATICAS. ENTRE LAS ENZIMAS ASI PRODUCIDAS ESTAN LAS CELULASAS Y LAS AMILASAS, QUE SON TÍPICAMENTE LOS PRODUCTOS DE LOS HONGOS SAPROFITOS COMO LAS ESPECIES DE CHAETOMIUM Y ASPERGILLUS NIGER. LOS HONGOS PARASITOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES SEGREGAN FRECUENTEMENTE PECTINASA COMPLEJO ENZIMATICO QUE ENTRE OTRAS ACCIONES HIDROLIZA EL PECTATO CALCICO QUE FORMA LA LAMINA MEDIA DE LA MEMBRANA CELULAR DEL HUESPED.

#### MEDIOS DE CULTIVO.

MEDIOS QUE CONTIENEN PRODUCTOS NATURALES.- PARA EL AISLAMIENTO DEL MICROORGANISMOS Y EL ESTUDIO DE LOS RASGOS ESENCIALES DE SU FISILOGIA SE UTILIZAN A MENUDO MEDIOS DE CULTIVO-RELATIVAMENTE IMPUROS ESTOS MEDIOS SE BASAN EN PRODUCTOS NATURALES Y REPRESENTAN INTENTOS DE REPRODUCIR EL AMBIENTE NATURAL DEL ORGANISMO A ESTUDIAR, ENTRE LOS MEDIOS MAS DIFUNDIDOS POR EL CULTIVO DE LOS HETEROTROFOS ESTAN LOS QUE CONTIENEN EXTRACTOS DE CARNE, SANGRE, LECHE, PEPTONAS, CASEINA HIDROLIZADA, EXTRACTO DE LEVADURA, EXTRACTO DE MALTA O EXTRACTO DE PATATA, TODOS ELLOS EN DISTINTO GRADO, SON FUENTES BRUTAS DE VITAMINAS, DE AMINOACIDOS Y DE BASES Y SE SUPLEMENTAN EN OCASIONES CON AZUCARES Y CON SALES MINERALES.

MEDIOS DE CULTIVO SINTETICO.- PARA LA INVESTIGACION PRECISA DE LOS REQUERIMIENTOS NUTRITIVOS SE TIENEN QUE UTILIZAR MEDIOS DE CULTIVO SOMPLETAMENTE SINTETICOS. LA COMPOSICION DE UN MEDIO DE CULTIVO MINIMO SE PUEDE DETERMINAR DE UNA DE LAS DOS MANERAS SIGUIENTES. SE HAN VERIFICADO INTENTOS PARA HACER CRECER EL ORGANISMO EN DETERMINADAS MEZCLAS DE PRODUCTOS QUIMICOS PUROS GENERALMENTE AZUCARES, AMINOACIDOS, BASES, VITAMINAS, SALES INORGANICAS, POR OTRA PARTE SE PUEDEN HACER INTENTOS DE REEMPLAZAR PROGRESIVAMENTE LOS COMPONENTES DE UN MEDIO DE CULTIVO IMPURO POR COMPUESTOS QUIMICOS PUROS, SI ES NECESARIO LOS PRODUCTOS NATURALES SE ANALIZAN QUIMICAMENTE Y SE COMPRUEBAN SU COMPONENTE AÑADIENDOLOS A UN MEDIO DE CULTIVO SOLO O COMBINADOS. MUCHOS ORGANISMOS SON MUY SENSIBLES AL PH DE SU MEDIO DE CULTIVO Y A VECES A LA TENSION DE OXIGENO O A LA CONCENTRACION EN DIOXIDO DE CARBONO. ADEMAS EL CRECIMIENTO PUEDE PARALIZARSE POR LA INTERACCION ENTRE LOS NUTRIENTES AUNQUE TODOS LOS ESENCIALES ESTEN PRESENTES.

EXAMEN MICROSCOPICO.- LOS METODOS QUE SE USAN PARA EXAMENES MICROSCOPICOS DE LOS HONGOS VARIAN SEGUN LA NATURALEZA DEL MATERIAL Y EL OBJETO DEL EXAMEN. TODOS LOS HONGOS SON GRAN POSITIVOS Y PUEDEN ENCONTRARSE EN FROTIS TEÑIDOS CON COLORACION DE GRAM PERO SU MORFOLOGIA NO ESTA CLARA. LAS PREPARACIONES HUMEDAS POCO O NADA TEÑIDAS PROPORCIONAN MAS DATOS.

MUESTRAS.- LAS LESIONES ABIERTAS O QUE DRENAN ES TAN CASI SIEMPRE TAN CONTAMINADAS SECUNDARIAMENTE POR BACTERIAS QUE ES MUY DIFICIL ENCONTRAR LOS HONGOS. UN METODO SIMPLE PARA OBSERVAR LAS CELULAS DE LEVADURA, GRANULOS DE MICETOMA O UNIDADES MICELIANAS EN PUS, EXUDADO O ESPUTO, ES TRATAR LA MUESTRA CON HIDROXIDO POTASICO. EN LAS DERMATOMICOSIS LA INFECCION BACTERIANA SECUNDARIA NO INTERFIEREN PARA DEMOSTRAR CON EL MICROSCOPIO LOS ELEMENTOS FUNGOSOS, LOS DERMATOFITOS VIVEN EXCLUSIVAMENTE EN LA QUERATINA, Y LAS MUESTRAS DEBEN TOMARSE DE RASPADOS

## DE LAS CAPAS CORNEAS, PARTE SUPERIOR DE VESICULAS.

EL MATERIAL DEBE MONTARSE EN HIDROXIDO DE SODIO DEL 10 AL 20 0/0 CALIENTE QUE DISUELVE O HACE TRANSPARENTE LOS ELEMENTOS TISULARES, Y BLANQUEA EL PIGMENTO EN LOS GRANULOS DEL MICETOMA, PERO SUELE AFECTAR A LOS HONGOS CON MAYOR LENTITUD Y EXAMINAR EN PREPARACIONES HUMEDAS SIN TEÑIR. DEBE TENERSE CUIDADO PARA DISTINGUIR ENTRE ESPORAS Y GLOBULOS DE GRASA, Y ENTRE MICELIOS Y BANDAS DE FIBRINA. LOS HONGOS PUEDEN DEMOSTRARSE EN CORTES DE TEJIDO COMO PAREDES DE ABSCESO Y TEJIDOS GRANULOMATOSOS, CON EL COLORANTE DE UNNA-PAPPEENHEIM «VERDE DE METILO Y PIRONINA» LA TINSION DE HOTCHKISS-MACMANIS «ACIDO PIRYODICO-SCHIFF» LA DE GRIDLEY «UNA PAS MODIFICADA» O LA DE GOMORI «PLATA -- CON METANAMINA» LA TINSION DE GOMERI SE RECOMIENDA PARA DESCUBRIR LOS POCOS MICROORGANISMOS EN UNA PIEZA VOLUMINOSA, Y LA DE GRIDLEY PARA DISTINGUIR EL DETALLE DE LAS ESTRUCTURAS DEL HONGO, LOS ACTINOMICETOS NO SE TIÑEN CON ESTAS TECNICAS PARA ESTOS ORGANISMOS SE RECOMIENDA LA TINSION MODIFICADA DE GRAM O LA DE BROWN Y BREEN.

CULTIVOS.- SE TOMA UN POCO DE LA PORCION DE CRECIMIENTO DE LA COLONIA, SE SEPARA EN UNA GOTTA DE AGUA Y SE EXAMINA EN UNA PREPARACION HUMEDA, PUEDEN VERSE VARIAS EXTRACTURAS. PERO LA DISPOSICION DE LOS ELEMENTOS RESULTA MUY PERTUBADA, LOS CULTIVOS EN LAMINILLAS MUESTRAN LA ESTRUCTURA Y DISPOSICION DEL CRECIMIENTO Y PUEDEN MONTARSE EN FORMA PERMANENTE, SE RECOMIENDA ESPECIALMENTE PARA IDENTIFICACION DE DERMATOFITOS, NO SE RECOMIENDA PARA COCCIDIODES, LOS CULTIVOS EN PORTAOBJETOS SON UTILES CUANDO QUIEREN CONSERVARSE INTACTO EL CULTIVO PARA ESTUDIO ULTERIORES, SE CORTA DE UNA PLACA UN PEQUEÑO FRAGMENTO CUADRADO DE MEDIO DE SABOURAUD, QUE SE COLOCA SOBRE UN PORTAOBJETO ESTERIL, LAS SUPERFICIES DE CORTES SE INOCULAN CON UN CULTIVO DE HONGO, Y EL MEDIO SE CUBRE CON UN CUBREOBJETO, CON ESTO SE OBTIENEN UN SANDWISH FORMADO POR UN FRAGMENTO DE MEDIO DE SABOURAUD ENTRE UN PORTA Y UN CUBREOBJETOS.

EL CONJUNTO SE PONE EN UNA CAJA DE PETRI EN LA CUAL SE MANTIENE LA HUMEDAD CON UN PEDAZO DE PAPEL FILTRO EMPAPADO - EN GLICERINA AL 50 O/O, ES POSIBLE OBSERVAR AL MICROSCOPIO -- EL DESARROLLO DEL HONGO A PARTIR DE LA SUPERFICIES DE CORTE DEL TROZO DEL MEDIO A TRAVES DEL CUBREOBJETOS, UTILIZANDO UNA ILUMINACION REDUCIDA. PARTE DE LOS HONGOS SE PEGAN A VECES AL CUBREOBJETOS, Y SI SE QUIERE ESTO PUEDE SEPARARSE A UNA GOTTA DE --- AZUL DE ALGODON DE LACTOFENOL SOBRE OTRO CUBREOBJETOS. MEDIANTE ESTA TECNICA ES POSIBLE ESTUDIAR HONGOS TEÑIDOS, RESPETANDO SU DISPOSICION ESTRUCTURAL.

LA MAYOR PARTE DE LOS HONGOS CRECEN MUY RAPIDAMENTE, PERO LAS FORMAS PATOGENAS SULEN HACERLO CON MAYOR LENTITUD- QUIZAS SE NECESITEN TRES A CUATRO SEMANAS DE INCUBACION, SU -- MORFOLOGIA SE AFECTA NOTABLEMENTE SEGUN EL MEDIO DONDE SE DESARROLLA EN GENERAL NO TIENE NECESIDADES NUTRITIVAS EXCEPCIONALES Y CRECEN CON FACILIDAD SOBRE TODOS LOS MEDIOS BACTERIOLOGICOS - USUALES, ESPECIAL SI SE AÑADE AZUCAR.

OTROS DE LOS MEDIOS DE CULTIVO DE LOS YA MENCIONADOS PARA LAS BACTERIAS Y LOS HONGOS SON EL MEDIO MODIFICADO DE CZAPEK-DOX «UN MEDIO SINTETICO DE GLUCOSA Y NITRATO» QUE ES RE- PRODUCIBLE Y SE HAN USADO MUCHOS COMO AGAR STANDARD CON PROPOSITOS DESCRIPTIVOS. EL MEDIO DE SABOURAUD, AGAR CON PEPTONA Y -- MALTOSA, ES TAL VEZ EL MAS USADO EN MICOLOGIA MEDICA PARA AISLAR Y CONSERVAR CULTIVOS ESPECIALMENTE DERMATOFITOS. EN LA --- PRACTICA ACTUAL DE LABORATORIO SE AÑADEN ANTIBIOTICOS CON EL FIN DE QUE EL MEDIO RESULTE SELECTIVO PARA UN GRUPO PARTICULAR DE MICROORGANISMO. PARA LOS DERMATOFITOS Y LA ETAPA MICELIANA DE LOS HONGOS DIMORFICOS TERMICOS ES MUY UTIL EL MEDIO DE SABOURAUD CON CLORAMFENICOL CONTRA LAS VACTERIS Y CICLOHEXIMIDA -- «ACTIDIONE» QUE SUPRIME LA MAYOR PARTE DE HONGOS DE CONTAMINACIONES. ALGUNOS HONGOS PATOGENOS NO CRECEN EN MEDIO DE ACTI -- DIONA, POR EJEMPLO, CANDIDA TROPICALIS, LA ETAPA DE LEVADURA DE ISTOPLASMA Y BLASTOMYSES, Y CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, TODOS -

LOS ACTINOMICETOS SON INHIBIDOS POR LA CLOROMICETINA, SI SE SOSPECHA LA PRESENCIA DE ESTOS MICROORGANISMOS HAY QUE UTILIZAR -- OTROS MEDIOS DE CULTIVO.

## E S T R U C T U R A

EL MICROSCOPIO, INSTRUMENTO PECULIAR DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA, PROPORCIONA AMPLIFICACIONES QUE PERMITEN OBSERVAR ORGANISMOS Y ESTRUCTURAS QUE SON INVISIBLES POR SIMPLE INSPECCION OCULAR. CON EL MICROSCOPIO SE CONSIGUE UN AMPLIO MARGEN DE AUMENTO OPTICO DEL OBJETO, QUE PUEDE ALCANZAR DESDE UNOS CIENTOS DE CIENTOS DE MILES DE VECES. EXISTEN VARIOS TIPOS DE MICROSCOPIOS, Y SE HAN DESARROLLADO NUMEROSOS METODOS QUE PERMITEN EXAMINAR CON FRAN DETALLE LAS MUESTRAS QUE CINTIENEN MICROORGANISMOS. CADA TECNICA DE PREPARACION DE LAS MUESTRAS, OFRECE DETERMINADAS VENTAJAS PARA LA DEMOSTRACION DE CIERTOS CARACTERES MORFOLOGICOS.

### M I C R O S C O P I O S Y M I C R O S C O P I A

EXISTEN DOS CLASES DE MICROSCOPIOS, SEGUN EL PRINCIPIO EN QUE SE FUNDA LA AMPLIFICACION DE LA IMAGEN, DE LUZ-- «OPTICOS» Y ELECTRONICO. LOS MICROSCOPIOS QUE UTILIZAN UN SISTEMA DE LENTES OPTICAS «MICROSCOPIOS DE LUZ» COMPRENDEN LOS TIPOS SIGUIENTES 1.- CAMPO CLARO, 2.- CAMPO OSCURO, 3.- ULTRA VIOLETA, 4.- FLUORESCENCIA, 5.- CONTRASTE DE FASES. EL MICROSCOPIO ELECTRONICO, COMO INDICA SU NOMBRE, EMPLEA UN HAZ DE ELECTRONES, EN VEZ DE ONDAS LUMINOSAS, PARA OBYENER LA AMPLIFICACION DE LA IMAGEN.

CASI TODAS SUS OBSERVACIONES, SI NO TODAS, CON EL MICROSCOPIO DE CAMPO CLARO QUE ES EL INSTRUMENTO QUE SE EMPLEA EN EL TRABAJO MICROSCOPICO CORRIENTE. LOS OTROS TIPOS SE UTILIZAN CON FINES ESPECIALES O EN TRABAJOS DE INVESTIGACION. PERO, NO OBSTANTE, DEBE CONOCER SU FUNDAMENTO Y APLICACIONES, PORQUE CADA UNO DE ELLOS POSEE CUALIDADES PARTICULARES QUE LE HACEN ESPECIALMENTE APROPIADO PARA LA DEMOSTRA-

CIÓN DE DETERMINADAS ESTRUCTURAS MORFOLÓGICAS.

MICROSCOPIA EN CAMPO CLARO.- EN LA MICROSCOPIA EN CAMPO CLARO, EL CAMPO MICROSCÓPICO, O ZONA DE OBSERVACIÓN, ESTA INTENSAMENTE ILUMINADO, MIENTRAS QUE LOS OBJETOS OBSERVADOS APARECEN OSCUROS. EN GENERAL, LOS MICROSCOPIOS DE ESTE TIPO DAN UNA AMPLIFICACIÓN DE MIL VECES APROXIMADAMENTE.

EMPLEO DEL OBJETIVO DE INMERSIÓN EN ACEITE.- EL OBJETIVO DE INMERSIÓN EN ACEITE ES EL QUE SE EMPLEA CON MÁS FRECUENCIA EN LOS TRABAJOS DE BACTERIOLOGÍA, PORQUE PROPORCIONA MAYOR AMPLIFICACIÓN QUE CUALQUIER OTRO TIPO DE OBJETIVO. TAMBIÉN ES EL QUE REQUIERE MÁS CUIDADO EN SU MANEJO, PORQUE EL PUNTO DE ENFOQUE ESTA MUY PROXIMO A LA PREPARACIÓN, CUANDO EL CAMPO MICROSCÓPICO SE PERCIBEN EN FORMA CLARA Y DISTINTA, LA DISTANCIA ENTRE LA LENTE FRONTAL Y EL PORTAOBJETOS ES SOLO UNA FRACCIÓN DE MILÍMETRO. EL ACEITE DE INMERSIÓN PROPORCIONA UN MEDIO ÓPTICO HOMOGÉNEO AL PASEO DE LA LUZ ENTRE EL PORTA Y LA LENTE FRONTAL DEL OBJETIVO.

MICROSCOPIA EN CAMPO OSCURO.- EN LA TÉCNICA EN CAMPO OSCURO SE REALIZA LA OBSERVACIÓN SOBRE FONDO NEGRO, EN EL QUE SE DESTACAN LOS OBJETOS BRILLANTEMENTE ILUMINADOS. ESTE EFECTO SE CONSIGUE EQUIPANDO EL MICROSCOPIO ÓPTICO CON UN CONDENSADOR ESPECIAL QUE DIRIGE EL PASO DEL HAZ LUMINOSO.

CUANDO LA PREPARACIÓN EXAMINADA ES COMPLETAMENTE TRANSPARENTE Y HOMOGÉNEA, LA LUZ QUE ATRAVIESA EL CONDENSADOR NO PENETRA EN EL OBJETIVO, Y EL CAMPO ENTERO APARECE OSCURO. PERO SI EL MEDIO CONTIENE OBJETOS CON ÍNDICE DE REFRACCIÓN DIFERENTE AL SUYO, SE ORIGINA SOBRE ELLOS DISPERSIÓN DE LA LUZ POR REFLEXIÓN Y REFRACCIÓN, Y ESTA LUZ DISPERSADA PENETRA EN EL OBJETIVO, Y HACE QUE APAREZCAN DICHS OBJETOS ILUMINADOS SOBRE EL RESTO DEL CAMPO OSCURO DEL MICROSCOPIO. LA TÉCNICA MICROSCÓPICA EN CAMPO OSCURO TIENE INTERÉS ESPECIAL PARA LA OBSERVACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN SUSPENSIÓN EN UN MEDIO-

LIQUIDO, PREPARACIONES «HUMEDAS» Y GOTA PENDIENTE.

MICROSCOPIA ULTRAVIOLETA.- LA MICROSCOPIA ULTRAVIOLETA PERMITE UNA RESOLUCION ALGO MEJOR Y, POR CONSIGUIENTE, MAYOR AMPLIFICACION QUE LA QUE SE OBTIENE CON EL MICROSCOPIO OPTICO CORRIENTE. LA RAZON DE ESTO ES QUE LA RADIACION ULTRAVIOLETA TIENE MENOR LONGITUD DE ONDA QUE LA LUZ VISIBLE 180 A 400 MU FRENTE A 400 A 700 MU. COMO SE DEDUCE DE LA FORMULA PARA CALCULAR EL PODER DE LA RESOLUCION, EL EMPLEO DE LA RADIACION ULTRAVIOLETA DUPLICA, APROXIMADAMENTE, EL PODER QUE SE OBTIENE CON EL MICROSCOPIO DE CAMPO CLARO.

LA VENTAJA PRINCIPAL DE LA MICROSCOPIA ULTRAVIOLETA ES QUE HACE VISIBLE LA ABSORCION CARACTERISTICA EN EL ULTRAVIOLETA DE CIERTOS CUERPOS PERMITE SU LOCALIZACION, DIFERENCIACION Y DETERMINACION EN PREPARACIONES ADECUADAS AUN EN ESTADO VIVO.

MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA.- ALGUNOS COMPUESTOS QUIMICOS ABSORBEN LA ENERGIA DE LAS ONDAS ULTRAVIOLETA Y LA EMITEN COMO ONDAS VISIBLES DE MAYOR LONGITUD. UNO DE ESTOS CUERPOS PUEDE APARECER DE UN COLOR A LA LUZ ORDINARIA Y DE COLOR COMPLETAMENTE DIFERENTE A LA LUZ ULTRAVIOLETA. DICHS COMPUESTOS SE LLAMAN «FLUORESCENTES» Y EL FENOMENO RECIBE EL NOMBRE DE FLUORESCENCIA. CUANDO SE TRATA UNA MEZCLA DE BACTERIAS CON UNA SOLUCION DE UN COLORANTE FLUORESCENTE, LOS ORGANISMOS QUE COMBINAN O RETIENEN EN CUALQUIER FORMA ESTE PRODUCTO SE HACEN FLUORESCENTE, Y PUEDEN VERSE EN UN CAMPO MICROSCOPICO ILUMINADO CON LUZ ULTRAVIOLETA.

ESTA TECNICA SE HA APLICADO, POR EJEMPLO, PARA EXAMINAR MATERIALES SOSPECHOSOS DE CONTAMINACION CON BACIOS TUBERCULOSOS. SE TIENE LA PREPARACION CON UN COLORANTE FLUORESCENTE, TAL COMO LA AURAMINA O, POR QUE EL BACILO TUBERCULOSO RETIENE ESTE COLORANTE, Y EN EL EXAMEN APARECE BRILLANTE

SOBRE EL FONDO OSCURO, PUESTO QUE LA MAYOR PARTE DE LAS DEMAS BACTERIAS NO FIJAN LA AURAMINA O, ESTE PROCEDIMIENTO ES SELECTIVO PARA EL BACILO TUBERCULOSO.

TECNICA ANTICUERPO-FLUORESCENCIA.- EN LOS ULTIMOS AÑOS SE HA EXTENDIDO LA APLICACION DEL PRINCIPIO DE LA MICROSCOPIA FLUORESCENTE A LAS REACCIONES SEROLOGICAS.

CUANDO SE INYECTAN BACTERIAS EN UN ORGANISMO ANIMAL, ESTE RESPONDE PRODUCIENDO EN LA CORRIENTE SANGUINEA SUS SUSTANCIAS SOLUBLES QUE SE COMBINAN CON DICHAS BACTERIAS. LAS BACTERIAS INYECTADAS SON EL ANTIGENO, Y LA SUSTANCIA SOLUBLE ES EL ANTICUERPO. LA COMBINACION DE ANTIGENO CON EL ANTICUERPO CONSTITUYE UNA REACCION SEROLOGICA O INMUNOLOGICA. EL ANTICUERPO PUEDE COMBINARSE QUIMICAMENTE CON UN COLORANTE FLUORESCENTE, COMO LA FLUORESCINA. CUANDO EL ANTICUERPO MARCADO CON FLUORESCINA SE UNE A UNA BACTERIA, AL OBSERVAR LA PREPARACION POR MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA, EL ORGANISMO APARECE LUMINISCIENTE. LO QUE INDICA QUE SE HA REALIZADO LA REACCION ANTIGENO-ANTICUERPO. COMO ESTAS REACCIONES SON ESPECIFICAS Y SENSIBLES, TIENEN GRAN APLICACION EN MICROBIOLOGIA MEDICA PARA IDENTIFICAR LOS MICROORGANISMOS.

MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASES.- LA MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASES ES MUY VALIOSA PARA EL ESTUDIO DE LAS CELULAS VIVAS, Y HA ADQUIRIDO MUCHA APLICACION EN LOS ESTUDIOS BIOLOGICOS, TANTO EN LA PRACTICA CORRIENTE COMO EN LA INVESTIGACION. EMPLEA ILUMINACION REGULADA DE LA PREPARACION, LO QUE SE REALIZA POR UN SISTEMA OBJETIVO DE CONTRASTE DE FASES ESPECIAL Y UN CONDENSADOR, ACOPLADOS AL MICROSCOPIO OPTICO ORDINARIO. EL AÑO 1953, SE CONCEDIO EL PREMIO NOBEL DE FISICA A FRITZ ZERNIKE, POR SU INVENCION DEL MICROSCOPIO DE CONTRASTE DE FASES. LA LUZ, AL PASAR DE UN MEDIO A OTRO DE DENSIDAD LIGERAMENTE DIFERENTE, EXPERIMENTA UNA DESVIACION, O REFRACCION, DE SU DIRECCION PRIMITIVA.

CON EL MICROSCOPIO DE CAMPO CLARO NO SE HACEN PERCEPTIBLES A LA VISTA LAS LIGERAS VARIACIONES DE ESPESOR O DENSIDAD, O DE INDICE DE REFRACCION, AUNQUE SE PRODUZCAN PEQUEÑISIMAS DESVIACIONES EN LAS ONDAS INCIDENTES QUE ATRAVIESAN EL MATERIAL DE OBSERVACION. EL CONJUNTO OPTICO DE CONTRASTE DE FASES TRANSFORMA LA DESVIACIONES DE LAS ONDAS INCIDENTES EN LAS CORRESPONDIENTES VARIACIONES DE LUMINOSIDAD. CON EL SISTEMA DE ILUMINACION CONTROLADA ES POSIBLE DISTINGUIR DETALLES ESTRUCTURALES QUE VARIAN POQUISIMO EN ESPESOR O EN INDICE DE REFRACCION, REVELA DIFERENCIAS EN LAS CELULAS O EN SUS ESTRUCTURAS QUE NO SE DESCIERNEN POR OTROS METODOS MICROSCOPICOS.

MICROSCOPIA ELECTRONICA.- LA MICROSCOPIA ELECTRONICA DIFIERE EN MUCHOS ASPECTOS FUNDAMENTALES DE LAS TECNICAS MICROSCOPICAS DESCRITAS ANTERIORMENTE. EL MICROSCOPIO ELECTRONICO TIENE LA VENTAJA DE SU ENORME AMPLIFICACION, POR QUE, A CAUSA DE LA PEQUEÑISIMA LONGITUD DE ONDA DEL HAZ DE ELECTRONES QUE SE UTILIZA PARA AMPLIFICAR EL OBJETO, PUEDE AUMENTAR CIENTO VECES EL PODER DE RESOLUCION DEL MICROSCOPIO OPTICO.

EL MICROSCOPIO ELECTRONICO EMPLEA ONDAS DE ELECTRONES Y CAMPOS MAGNETICOS PARA PRODUCIR LA IMAGEN, MIENTRAS QUE EL MICROSCOPIO OPTICO UTILIZA ONDAS LUMINOSAS Y LENTES.

EN LA MICROSCOPIA ELECTRONICA, EL MATERIAL DE OBSERVACION SE DISPONE EN EXTENSION, SUMAMENTE FINA Y SECA, SOBRE PEQUEÑAS PANTALLAS QUE SE INTRODUCEN EN EL APARATO EN UN PUNTO SITUADO ENTRE EL CONDENSADOR MAGNETICO Y EL OBJETIVO MAGNETICO, QUE REPRESENTA LA PLATINA DEL MICROSCOPIO OPTICO. LA IMAGEN AMPLIFICADA SE OBSERVA EN UNA PANTALLA FLUORESCENTE A TRAVES DE UNA «MIRILLA» DE CIERRE HERMETICO, O SE IMPRESIONA EN UNA PLACA FOTOGRAFICA POR UNA CAMARA ADAPTADA AL APARATO.

EL MICROSCOPIO ELECTRONICO HA EXTENDIDO NUESTRO-  
ALCANCE DE OBSERVACION HASTA PENETRAR EN ESE DOMINIO DEL --  
MUNDO MICROBIANO CUYOS MIEMBROS, LOS VIRUS, SON MUCHO MAS -  
PEQUEÑOS QUE LAS BACTERIAS. POR OTRA PARTE, EL EMPLEO DE -  
ESTE INSTRUMENTO SE EXTIENDE ENTRE UN NUMERO CADA VEZ MAYOR  
DE MICROBILOGOS PARA EL ESTUDIO DE LA ANATOMIA DE LA CELU-  
LA, EN PARTICULAR LA ORGANIZACION DE LAS SUSTANCIAS INTRACE-  
LULARES. EXISTEN INSTRUMENTOS MICROTOMOS QUE PERMITEN SEC-  
CIONAR LAS CELULAS MICROBIANAS EN SENTIDO HORIZONTAL O VER-  
RICAL Y EN CORTES TAN FINOS COMO UNOS CIENTOS DE ANGSTROMS-  
SOLAMENTE. EN ESTOS CORTES SE PUEDE ESTUDIAR PERFECTAMEN -  
TE LA ESTRUCTURA INTERIOR DE LA CELULA.

CON AYUDA DEL MICROSCOPIO ELECTRONICO TODOS LOS-  
PROBLEMAS REFERENTES A LA MORFOLOGIA MICROBIANA SERIAN FACIL  
Y RAPIDAMENTE RESULTOS. ES CIERTO QUE PODEMOS AVERIGUAR --  
UNA GRAN PARTE DE LA ANATOMIA GRUESA DE LA CELULA, COMO TA-  
MAÑO, FORMA Y ESTRUCTURA EXTERNAS O APENDICES. PODEMOS DI-  
FERENCIAR EN LA CELULA BACTERIANA LA PARED DE LA CELULA DE-  
OTRAS MEMBRANAS INTERNAS.

- 1.- LA PREPARACION QUE SE EXAMINA TIENE DE ESTAR  
SECA. EN EL MICROSCOPIO ELECTRONICO LA PREPA-  
CION SE COLOCA EN UNA CAMARA DE VACIO TOTAL.  
LAS CELULAS NO PUEDEN OBSERVARSE EN ESTADO -  
VIVO Y EN ACTIVIDAD, Y EL PROCESO DE DESECA-  
CION PUEDE ALTERAR LOS CARACTERES MORFOLO -  
GICOS.
- 2.- EL PODER DE PENETRACION DEL HAZ ELECTRONICO-  
ES DE BAJO ORDEN.
- 3.- NO PROPORCIONA NINGUNA INDICACION SOBRE LA-  
NATURALEZA QUIMICA DE LAS ESTRUCTURAS QUE -  
REVELA.

LOS ORGANISMOS NO PUEDEN OBSERVARSE EN ESTADO METABOLICO ACTIVO. CON FRECUENCIA, ES NECESARIO CONFRONTAR -- LOS RESULTADOS OBTENIDOS, OBSERVANDO EL MISMO ORGANISMO CON DIFERENTES METODOS MICROSCOPICO, POR EJEMPLO, CONTRASTE DE -- FASES, CAMPO CLARO \*PREPARACIONES TENIDAS\*, Y EL MICROSCOPIO ELECTRONICO. CADA UNO DE ELLOS PROPORCIONA ALGUNA INDICA -- CION, Y EN CONJUNTO HACEN POSIBLE IDENTIFICAR LAS ESTRUCTU -- RAS.

P R E P A R A C I O N E S P A R A E X A M E N  
P O R M I C R O S C O P I A  
O P T I C A .

PARA DISPONER EL MATERIAL PARA EL EXAMES MICROS -- COPICO SE EMPLEAN DOS TECNICAS. UNA DE ELLAS ES LA SUSPEN -- SION DE LOS ORGANISMOS EN UN LIQUIDO, EN LA OTRA SE UTILI -- ZAN EXTENSIONES O FROTIS DE LA MUESTRA SECOS, FIJADOS Y TE -- TIDOS.

TECNICAS DE MONTAJE HUMEDO Y GOTA PENDIENTE. -- -- LAS PREPARACIONES HUMEDAS Y EN GOTA PENDIENTE PERMITEN OB -- SERVAR LOS ORGANISMOS SUSPENDIDOS EN UN LIQUIDO EN CONDICIO -- NES DE VIDA NORMALES. LAS PREPARACIONES HUMEDAS SE OBTIE -- NEN COLOCANDO UNA GOTA DEL LIQUIDO QUE CONTIENE LOS ORGANIS -- MOS SOBRE UN PORTAOBJETOS, Y CUBRIENDOLA CON UN CUBREOBJE -- TOS. PARA EVITAR LA EVAPORACION Y EL EFECTO DE LAS CORRIEN -- TES DE AIRE, SE RODEA LA PREPARACION CON VASELINA U OTRA -- SUSTANCIA SEMEJANTE, QUE CIERRA EL ESPACIO EXTERIOR ENTRE -- EL PORTA Y EL CUBREOBJETOS.

EN LAS PREPARACIONES EN GOTA PENDIENTE, SE COLO -- CA UNA GOTA DE LA SUSPENSION BACTERIANA SOBRE UN CUBREOBJE -- TOS Y SE INVIERTE ESTE DISPONIENDOLO EN LA CAVIDAD CONCAVA -- DE UN PORTAOBJETOS ESPECIAL PARA ESTE EXAMEN.

A CONTINUACION SE MENCIONAN ALGUNOS CASOS EN QUE -  
ES PREFERIBLE UTILIZAR ESTAS DOS TECNICAS.

- 1.- LA MORFOLOGIA DE LAS BACTERIAS ESPIRALES SE ALTERA MUCHO EN LAS PREPARACIONES SECAS Y TEÑIDAS, POR ELLO ES PRECISO EXAMINARLAS EN ESTADO VIVO, POR EJEMPLO, EN EL EXAMEN DE LOS EXUDADOS SEROSOS PARA DIAGNOSTICAR LAS ESPIROQUETAS PRODUCTORAS DE LA SIFILIS, SE OBSERVAN LAS PREPARACIONES HUMEDAS EN EL MICROSCOPIO EN CAMPO OSCURO, QUE PROPORCIONA UN CONTRASTE MUY ACUSADO ENTRE LOS ORGANISMOS Y EL FONDO NEGRO.
- 2.- LA OBSERVACION DE BACTERIAS PARA DETERMINAR SI SON MOVIBLES, ES OBVIO QUE REQUIERE QUE ESTEN SUSPENDIDAS EN UN MEDIO LIQUIDO EN EL QUE PUEDAN DESPLAZARSE CON LIBERTAD, SI SON CAPACES DE MOVIMIENTO PROPIO.
- 3.- PARA OBSERVAR LOS CAMBIO CITOLOGICOS DURANTE EL PROCESO DE DIVISION CELULAR Y DETERMINAR EL RITMO A QUE SE REALIZAN, HAY QUE EXAMINAR LOS ORGANISMOS EN ESTADO VIVO. LO MISMO SUCEDE AL OBSERVAR LA FORMACION DE ESPORAS.
- 4.- CIERTAS INCLUSIONES CELULARES SE OBSERVAN FACILMENTE POR ESTE PROCEDIMIENTO, POR EJEMPLO LAS VACUOLAS Y LAS SUSTANCIAS GRASAS.

EXTENSIONES FIJADAS Y TEÑIDAS.- LA OBSERVACION DE LOS CARACTERES MORFOLOGICOS DE LAS BACTERIAS Y RICKETTSIAS SE EFECTUA POR LO GENERAL EN PREPARACIONES FIJADAS Y TEÑIDAS LAS VENTAJAS DE ESTE PROCEDIMIENTO SON.

- 1.- LAS CELULAS SE PERCIBEN CON MAS CLARIDAD DESPUES DE COLOREADAS.
- 2.- PUEDEN DEMOSTRARSE LAS DIFERENCIAS ENTRE LAS CELULAS DE DISTINTAS ESPECIES, Y AUN DENTRO DE UNA MISMA ESPECIE, MEDIANTE SOLUCIONES COLORANTES ESPECIALMENTE ELEGIDAS --

## «COLORACION SELECTIVA O DIFERENCIAL»

LAS OPERACIONES FUNDAMENTALES PARA OBTENER PREPARACIONES FIJADAS Y TENDIDAS SON, 1.- EXTENSION DE LA MUESTRA EN PELICULO O FROTIS 2.- FIJACION, Y 3.- APLICACION DE UNA O MAS SOLUCIONES COLORANTES.

COLORANTES MICROBIOLÓGICOS.- EXISTE UN GRAN NÚMERO DE COMPUESTOS ORGÁNICOS COLORANTES «TINTES» QUE SE EMPLEAN PARA LA TINCION DE LOS MICROORGANISMOS. ESTOS COMPUESTOS TIENEN ESTRUCTURA MOLECULAR MAS BIEN COMPLEJA. CONFORME A SU COMPOSICION QUIMICA, PUEDE CLASIFICARSE EN GRUPOS, COMO COLORANTES DE TRIFENILMETANO, OXACINA, TIAZINA, ETC.

ES MAS PRACTICA, SIN EMBARGO, LA CLASIFICACION -- QUE SE FUNDA EN EL CARACTER QUIMICO DEL COLORANTE ACIDO, BASICO, O NEUTRO. SON COLORANTES ACIDO «O ANIONICOS» AQUELLOS COMPUESTO EN QUE LA PROPIEDAD COLORANTE CORRESPONDE AL ION-- CON CARGA NEGATIVA, Y BASICOS «O CATIONICOS» LOS QUE DEBEN-- DICHA PROPIEDAD AL ION CON CARGA POSITIVA. LOS COLORANTES NEUTROS SON SALES COMPLEJAS DE UN COLORANTE ACIDO Y OTRO -- BASICO, POR EJEMPLO EL EOSINATO DE AZUL DE METILENO. LOS -- COLORANTES ACIDOS TIENEN, EN GENERAL, LOS COMPONENTES ACIDOS.

EL PROCESO DE TINCION SE DEBE EN ALGUNOS CASOS -- A REACCIONES DE INTERCAMBIO IONICO ENTRE EL COMPUESTO COLO-- RANTE Y OTROS ELEMENTOS ACTIVOS DE LA SUPERFICIE O EL INTE-- RIOR DE LA CELULA.

TINCION SIMPLE.- SE ENTIENDE POR TINCION SIMPLE EL TENDIDO DE LAS BACTERIAS APLICANDO EXCLUSIVAMENTE UNA SO-- LUCION COLORANTE. SE CUBRE EL FROTIS, DESPUES DE FIJADO, -- CON LA SOLUCION COLORANTE, Y SE DEJA ACTUAR ESTA EL TIEMPO-- PRECISO, DESPUES SE LAVA CON AGUA Y SE SECA EL PORTAOBJETOS CON PAPEL ABSORBENTE. LAS CELULAS SE TIENEN, EN GENERAL, EN FORMA UNIFORME. SIN EMBARGO, EN CIERTOS ORGANISMOS, PARTI--

CULARMENTE CUANDO SE APLICA EL AZUL DE METILENO, PUEDEN APARECER ALGUNOS FRANULOS INTRACELULARES TE+IDOS CON MAS INTENSIDAD QUE EL RESTO DE LA CELULA. ESTO INDICA QUE DENTRO DE LA CELULA EXISTE ALGUN COMPUESTO QUIMICO EN CIERTA CANTIDAD-- QUE PRESENTA MAYOR AFINIDAD POR EL COLORANTE QUE EL RESTO -- DEL CITOPLASMA.

TINCION DIFERENCIAL.- LOS PROCEDIMIENTO DE COLO-RACION QUE PONEN DE MANIFIESTO DIFERENCIAS ENTRE LAS CELULAS BACTERIANAS, O ENTRE PARTES DE UNA MISMA CELULA, SE DENOMINA TECNICAS DE TINCION DIFERENCIAL. SON ALGO MAS COMPLICADOS - QUE LOS DE TINCION SIMPLE, POR CUANTO SE EXPONE LA PREPARA - CION A MAS DE UNA SOLUCION COLORANTE, O SE EMPLEAN CIERTOS - REACTIVOS COMPLEMENTARIOS PARA LA TINCION.

1.- METODO DE GRAM.- UNA DE LAS TECNICAS DE TINCION DIFEREN-CIAL MAS IMPORTANTES Y MAS EMPLEADA EN MICROBIOLOGIA ES LA - TINCION DE GRAM. EN ESTE PROCEDIMIENTO, EL FROTIS DE BACTE-RIAS, DESPUES DE FIJADO, SE SOMETE SUCESICAMENTE A LOS SI -- GUIENTES TRATAMIENTOS, SOLUCION DE CRISTAL VIOLETA, SOLUCION IODO-IODURADA, ALCOHOL «AGENTE DECOLORANTE» Y SAFRANINA U -- OTRO COLORANTE DE CONTRASTE ADECUADO. LAS BACTERIAS TRATA - DAS POR EL METODO DE GRAM SE CLASIFICAN EN DOS GRUPOS, BACTE-RIAS GRAM-POSITIVAS, QUE RETIENEN EL CRISTAL VIOLETA Y APA - RECEN COLOREADAS EN VIOLETA INTENSO, Y BACTERIAS GRAM-NEGA - TIVAS, QUE PIERDEN EL CRISTAL VIOLETA Y SE VUELVEN A TEÑIR - CON LA SAFRANINA, APARECIENDO DE COLOR ROJO.

LA CAUSA DE QUE CON ESTE PROCEDIMIENTO UNAS BACTE-RIAS SE COLOREEN DE PURPURA A VIOLETA, Y OTRAS EN ROJO, PARE-CE DEBERSE A DIFERENCIAS EN LA ESTRUCTURA QUIMICA SUPERFICIAL.

EL EXAMEN DE LAS EXTENSIONES TEÑIDAS CON ESTA -- TECNICA REVELA AL MISMO TIEMPO LA MORFOLOGIA Y LA REACCION - AL GRAM DE LAS BACTERIAS.

AUNQUE LAS BACTERIAS GRAM-NEGATIVAS SON CONSTANTES EN SU REACCION, LOS ORGANISMOS GRAM-POSITIVOS PUEDEN PRESENTAR RESPUESTAS VARIABLES, EN CIERTAS CONDICIONES. POR EJEMPLO LOS CULTIVOS ANTIGUOS DE ALGUNAS BACTERIAS GRAM-POSITIVAS PIERDEN LA PROPIEDAD DE RETENER EL CRISTAL VIOLETA Y EN CONSECUENCIA, SE TIENEN POR LA SAFRANINA.

LAS BACTERIAS GRAM-POSITIVAS DIFIEREN, ADEMAS, DE LAS GRAM-NEGATIVAS, EN OTROS CARACTERES DISTINTOS A LA REACCION DE COLORACION. LAS GRAM-POSITIVAS SON, EN GENERAL, MAS SENSIBLE A LA PENICILINA, SE DESINTEGRAN CON MENOS FACILIDAD POR MEDIOS MECANICOS, Y RESISTEN MEJOR LA ACCION DE CIERTAS ENZIMAS QUE LAS BACTERIAS GRAM-NEGATIVAS. LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS, COMO GRUPO SON MAS SENSIBLES A OTROS ANTIBIOTICOS COMO LA ESTREPTOMICINA. APARTE DE ESTAS DIFERENCIAS, SE HA SEÑALADO ALGUNAS OTRAS, CUYA REGULARIDAD PARECE INDICAR QUE EXISTE UNA DISPARIEDAD MUY FUNDAMENTAL ENTRE ESTOS DOS GRUPOS BACTERIANOS.

EL METODO DE GRAM TIENE SU PRINCIPAL APLICACION EN LA IDENTIFICACION DE LAS BACTERIAS. SIN EMBARGO TAMBIEN ES DIFERENCIAL PARA OTROS ORGANISMOS. LAS LEVADURAS Y LOS ACTINOMICETOS SON GRAM-POSITIVOS, MIENTRAS QUE LAS RICKETTSIAS SON GRAM-NEGATIVAS.

COLORACION ACIDO-RESISTENTE.- OTRO PRODECIMIENTO DE COLORACION DIFERENCIAL MUY EMPLEADO, ESPECIALMENTE PARA EL GENERO MYCOBACTERIUM, ES EL ACIDO-RESISTENTE. LA EXTENSION BACTERIANA DESPUES DE FIJADA, SE SOMETE SUCESIVAMENTE A LOS SIGUIENTE TRATAMIENTO, FUCSINA-FENICADA «EN CALIENTE» ALCOHOL ACIDO, Y AZUL DE METILENO. LAS BACTERIAS TEÑIDAS SEGUN ESTA TECNICA SE CLASIFICAN EN ACIDO-RESISTENTES, CUANDO RETIENEN LA FUCSINA Y QUEDAN TEÑIDAS EN ROJO, Y NO ACIDO RESISTENTES, SI SE DECOLORAN CON EL ALCOHOL-ACIDO Y TOMAN EL COLOR DE CONTRASTE DE AZUL DE METILENO.

METODO DE GIEMSA.- ESTE METODO ES ESPECIALMENTE-  
UTIL PARA DEMOSTRAR LAS RICKETTSIAS LOCALIZADAS EN EL INTE -  
RIOR DE LAS CELULAS. LAS RICKETTSIAS SON ORGANISMOS QUE SE-  
COLOREAN SELECTIVAMENTE CON LA SOLUCION DE GIEMSA, Y PUEDEN-  
OBSERVARSE DENTRO DEL CITOPLASMA DE LA CELULA HUESPED. TAM-  
BIEN SE APLICA ESTA TECNICA PARA LA COLORACION DE LOS FROTIS  
DE SANGRE EN EL EXAMEN DE PROTOZOOS.

PROCEDIMIENTOS DE TINCION PARA REVELAR LAS ESTRUC-  
TURAS CELULARES.- EXISTEN PROCEDIMIENTOS ESPECIALES DE TIN-  
CION PARA DEMOSTRAR LAS ESTRUCTURAS INTERNAS Y EXTERNAS A LA  
PARED DE LA CELULA BACTERIANA. ENTRE ESTAS ESTRUCTURAS. SE-  
ENCUENTRAN LOS FLAGELOS, CAPSULAS, NUCLEO O MATERIAL NUCLEAR  
GRANULOS Y ENDOSPORAS. EL PRINCIPIO EN QUE SE FUNDAN ESTAS-  
TECNICAS DIFERENCIALES ES CASI EL MISMO QUE EL DE LOS METODOS  
DE GRAM Y ACIDO-RESISTENTES, ESTO ES, QUE LA ESTRUCTURA EN -  
CUESTION PRESENTA DIFERENTE AFINIDAD PARA EL COLORANTE QUE -  
EL RESTO DE LA CELULA, LO QUE HACE POSIBLE SU DIFERENCIACION.

TINCTION EN NEGATIVO.- SE DENOMINA TINCION EN NE-  
GATIVO, UN PROCEDIMIENTO QUE PERMITE OBSERVAR LAS CELULAS, -  
NO COLOREADAS, DESTACANDOSE BIEN PERCEPTIBLES SOBRE EL FONDO  
DE LA EXTENSION TENIDA EN NEGRO. EN CIERTO MODO, PUEDE COM-  
PARARSE EL ASPECTO QUE PRESENTAN ESTAS PREPARACIONES CON EL-  
DE LAS PREPARACIONES VISTAS EN LA MICROSCOPIA EN CAMPO OSCU-  
RO, PUESTO QUE LOS MICROORGANISMOS APARECEN ILUMINADOS SOBRE  
EL FONDO OSCURO DEL CAMPO. SE PRACTICA MEZCLANDO LAS SUS --  
PENSION BACTERIANA CON TINTA CHINA O NIGROSINA, EXTENDIENDO-  
LA EN PELICULA FINA SOBRE EL PORTAOBJETOS Y DEJANDO SECAR --  
A LA OBSERCAION APARECEN LAS BACTERIAS TRANSPARENTES Y PER-  
FILADAS SOBRE FONDO OSCURO. LA VENTAJA QUE PRESENTA ESTE --  
PROCEDIMIENTO PARA EL ESTUDIO DE LA MORFOLOGIA ES QUE LAS -  
CELULAS NO RECIBEN TRATAMIENTO FISICO O QUIMICO ENERGETICO. -  
ES MUY APROPIADO PARA LOS ORGANISMOS CAPSULADOS. LA FIJA -  
CION DE LA EXTENSION ANTES DEL TENIDO, Y LA SUBSIGUIENTE -

EXPOSICION A UNA SERIE DE REACTIVOS, COMO SE PRACTICA EN LOS DEMAS METODOS, OCASIONA ALGUNAS DEFORMACION DE LAS CELULAS, - LO QUE ES MENOS PROBABLE QUE OCURRA CON EL DE TEÑIDO EN NEGATIVO.

TINCIONES ESPECIALES.- LAS CAPSULAS Y LAS PAREDES DE LOS HONGOS SON RICAS EN POLISACARIDOS, LO QUE PERMITE APLICAR VARIOS METODOS MUY ELEGANTES.

TECNICA PAS DE HOTCHKISS-MCMANUS.- ES UTILISIMA PARA CORTES Y FROTIS, POR EJEMPLO DE RASPADO DE PIEL. -- SE PUEDE EMPLEAR COMO COLORANTE DE CONTRASTE. HEMATOXILINA DE HARRIS O PTAH DE MALLORY, DURANTE 30 SEGUNDO A UN MINUTO N.B. ACTINOMYCES Y NOCARDIA SE TIÑEN MAL O NO SE TIÑEN CON LAS TECNICAS PAS, DE GEIDLEY Y DE GROCOTT, ES PREFERIBLE ESTUDIARLOS POR EL METODO DE GRAM.

TECNICA DE BAUER-FEULGEN.- LA GRAN CANTIDAD DE GRUPOS ALDEHIDO EN LAS PAREDES DE QUITINA CELULOSA DE LOS HONGOS PERMITE APLICARLES ACIDO CROMICO, QUE DESTRUYE GRUPOS ALDEHIDOGENOS DE MUHCOS OTROS ELEMENTOS, DE MANERA QUE DISMINUYE LA INTENSIDAD DE FONDO AL APLICAR LA TINCION DE SCHIFF.

AZUL ALCIANO.- EL AZUL ALCIANO TIENE GRAN AFINIDAD POR LOS CARBOHIDRATOS ACIDOS, Y SE PUEDE APROVECHAR PARA TEÑIR LAS CAPSULAS DE BACTERIAS Y HONGOS, TAMBIEN PUEDE COMBINARSE CON LA TECNICA PAS.

TINCION DE GRIDLEY PARA LOS HONGOS.- ES UNA MODIFICACION DEL METODO DEL ACIDO CROMICO SCHIFF, EN REALIDAD CONSTITUYE UNA COMBINACION DEL METODO DE BAUER-SCHIFF, QUE TIENE LOS CONIDIOS Y ESPORAS, Y DEL ALDEHIDO-FUCSINA DE GROMORI, QUE TIENE LAS HIFAS. ES EXCELENTE PARA ESTUDIAR LAS -

LAS PAREDES DE LOS HONGOS. SE PUEDEN EMPLEAR CORTES EN PARAFINA DE CUALQUIER TEJIDO BIEN FIJADO.

## C R E C I M I E N T O

EL TERMINO CRECIMIENTO APLICADO A LAS BACTERIAS Y OTROS MICROORGANISMOS SE REFIERE COMUNMENTE A LAS VARIACIONES EN LA PRODUCCION TOTAL DE CELULAS Y NO A LOS CAMBIOS QUE EXPERIMENTASN LOS ORGANISMOS INDIVIDUALES, EN LOS SERES VIVOS SUELE COMPRENDER UN INCREMENTO EN VOLUMEN O EN PESO SECO, PERO NO NE CESARIAMENTE EN AMBAS COSAS AL MISMO TIEMPO, EL INCREMENTO EN VOLUMEN PUEDE INCLUSO ACOMPAÑARSE DE UN DE CRECIMIENTO EN PESO SECO, EL CRECIMIENTO PUES SE DEBE DEFINIR COMO UN INCREMENTO EN CUALQUIER PROPIEDAD MENSURABLE DEL ORGANISMO, COMO EL VOLUMEN, EL PESO SECO O EL CONTENIDO EN PROTEINAS.

LOS MICROBIOLOGOS UTILIZAN TAMBIEN LA PALABRA CRECIMIENTO PARA DESIGNAR EL INCREMENTO DEL TAMAÑO DE UNA COLONIA O POBLACION DEL MICROORGANISMO.

### C R E C I M I E N T O D E L O S O R G A N I S M O S F I L A M E N T O S O S.

ALGUNOS ORGANISMOS FILAMENTOSOS COMO LAS BACTERIAS FERRUGINOSAS Y SULFUREAS FILAMENTOSAS O FORMADORAS DE FILAMENTOS ALGUNAS ALGAS VERDES AZULADAS, CADA UNA DE LAS CELULAS DE ESTOS FILAMENTOS ES POTENCIALMENTE CAPAZ DE UNA ESCISION BINARIA, Y POR CONSIGUIENTE EL CRECIMIENTO EN LONGITUD DE LA CADENA ES SIMPLEMENTE LA SUMA DEL CRECIMIENTO DE SUS CELULAS COMPONENTES.

LAS HIFAS FUNGICAS, LOS FILAMENTOS DE STREPTOMYCES Y GENEROS AFINES, Y LOS DE MUCHAS ALGAS CRECEN EN LONGITUD SOLAMENTE POR EL ALARGAMIENTO DE UNA ZONA QUE RADICA EXACTAMENTE -- POR DEBAJO DEL EXTREMO DE LA HIFA.

ENTRE LOS HONGOS ACEPTADOS «SENSITIVOS» HA SIDO -  
INVESTIGADO DETALLADAMENTE EL ESPORANGIOFORO DE PHYCOMYCES. EL  
PRIMER PERIODO DEL CRECIMIENTO EN LONGITUD TERMINA CON LA FOR-  
MACION DE UN ESPORANGIO TERMINAL, REANUDANDOSE DESPUES EL CRE-  
CIMIENTO DEL ESPORANGIOFORO, QUE SE VERIFICA, EN CONDICIONES --  
CONSTANTES A UNA VELOCIDAD APROXIMADAMENTE UNIFORME DURANTE PE-  
RIODOS RELATIVAMENTE LARGOS. EL INCREMENTO EN LONGITUD PUEDE -  
LLEGAR HASTA 8 MM. POR HORA A 25 GRADOS CENTRIGRADOS. ESTE CRE-  
CIMIENTO EN LONGITUD SUCEDE INMEDIATAMENTE POR DEBAJO DEL ESPO-  
RANGIO. SIN EMBARGO, EL CRECIMIENTO EN DIAMETRO PUEDE OCURRIR-  
MAS ABAJO DEL ESPORANGIOFORO. LOS MARCADORES ADHERIDOS AL ESPO-  
RANGIO INDICAN QUE ESTE GIRA AL TIEMPO QUE SE ALARGA EL ESPO-  
RANGIOFORO, EL EFECTO RELACIONADO CON LA APOSICION DE MOLECULAS DE  
QUITINA SOBRE LA MEMBRANA EN FORMA ESPIRAL. LA LUZ LA TEMPERATU-  
RA Y LA HUMEDAD INFLUYEN SOBREMNERA SOBRE EL COEFICIENTE DEL -  
CRECIMIENTO Y EL ESPORANGIOFORO ES TAMBIEN GEOTROPICAMENTE NE-  
GATIVO. EL CAMBIO DE LA OBSCURIDAD A LA LUZ DETERMINA UN INCRE-  
MENTO TEMPORAL DEL COEFICIENTE DE ALARGAMIENTO, LA ILUMINACION  
UNILATERAL DETERMINA UNA CURVATURA HACIA LA LUZ «FOTOTROPISMO»-  
COMO RESULTADO DE LA DIFERENCIA DEL CRECIMIENTO DE LOS LADOS --  
MAS CERCANOS Y MAS LEJANO A LA FUENTE LUMINOSA.

UN AUMENTO EN LA INTENCIDAD DE LA LUZ DENTRO DE --  
CIERTOS LIMITES, ES CAUSA DE UN INCREMENTO EN EL COEFICIENTE DE  
CRECIMIENTO, E INVERSAMENTE LA DISMINUCION DE LA INTENSIDAD TIE-  
NE COMO RESULTADO LA REDUCCION EN EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO  
PERO EN AMBOS CASOS SE RECUPERA EL COEFICIENTE ORIGINAL A LOS -  
20 MINUTOS.

LOS SEPTOS DE LA HIFAS DE LOS HONGOS SUPERIORES SE  
FORMAN A UNA DISTANCIA DE APICE QUE ES CARACTERISTICA PARA CADA  
ESPECIE, CUANDO UNA CELULA ES PUES SEPARADA DEL APICE NO ES YA-  
CAPAZ DE UN INCREMENTO SIGNIFICATIVO DE LONGITUD, PERO PODRA --  
MAS TARDE EMITIR UNA PROYECCION LATERAL QUE SE DESARROLLA COMO-  
UNA RAMIFICACION.

EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO DE UNO DE ESTOS HONGOS, COMO BOTRYTIS CINEREA, EN UNA COLONIA JOVEN, CRECE AL PRINCIPIO PROPORCIONALMENTE A LA LONGITUD TOTAL DE LAS HIFAS DE LA COLONIA, PERO LUEGO DECRECE. EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO DE LAS RAMIFICACIONES DE LAS HIFAS MUESTRAN UN INCREMENTO INICIAL SEMEJANTE. LAS CELULAS QUE HAN DEJADO DE CRECER EN LONGITUD -- PUEDEN CONTINUAR CRECIENDO EN DIAMETRO Y EN EL ESPESOR DE SU -- MEMBRANA CELULAR.

CRECIMIENTO SECUNDARIO DE LAS CELULAS INDIVIDUALES DE LOS ORGANISMOS MAS COMPLICADOS.-- LA ESTRUCTURA DE LA MEMBRANA CELULAR CAMBIA TAMBIEN LA MEMBRANA DE UNA HIFA FUNJICA ES -- DELGADA Y ELASTICA EN EL EXTREMO EN CRECIMIENTO PERO SE ENGROSA Y SE HACE EXTENSIBLE POR DEBAJO DE LA ZONA DE ALARGAMIENTO, AL DEPOSITARSE MATERIAL SECUNDARIO DE LA MEMBRANA. EN LAS ESPORAS Y EN LAS CELULAS DE LOS COMPLICADOS CUERPOS FRUCTIFEROS DE LOS HONGOS SUPERIORES, EL ENGROSAMIENTO SECUNDARIO DE LA MEMBRANA -- PUEDE NO SUCEDER EN TODAS LAS CELULAS CON UNIFORMIDAD DE LO QUE PUEDE RESULTAR QUE LA CELULA SE EXTIENDA EN UNA DIRECCION SI EN OTRA NO, DANDO LUGAR A MENUDO A FORMAS COMPLICADAS. LAS MEMBRANAS DE ALGUNAS ESPORAS Y DE LAS CELULAS PERIFERICAS DE MUCHOS -- COMPLICADOS CUERPOS FRUCTIFEROS DE HONGOS SE HACEN MAS GRUESAS-- SECUNDARIAMENTE.

EN EL SITOPLASMA O EN LA MEMBRANA DE MUCHOS MICRO-ORGANISMOS NOTABLEMENTE EN LAS ESPORAS Y EN LAS ESTRUCTURAS REPRODUCTORAS, SE DESARROLLAN UNOS PIGMENTOS. TODAS LAS ESPORAS DE LOS HONGOS SON INCOLORAS CUANDO SE FORMAN, PERO MUCHAS SE -- PIGMENTAN DESPUES. LAS BASIDIOSPORAS DE ALGUNAS ESPECIES DESETAS NO SE PIGMENTAN TOTALMENTE HASTA ALGUNAS HORAS DESPUES DE -- ALCANZAR SU TALLA FINAL Y NO SE DESPRENDEN HASTA QUE SE COMPLETA SU PIGMENTACION. LA MADURACION CONTINUA DESPUES DE ALCANZAR-- EL TAMAO DEFINIDO.

MEDIDAS DE LAS POBLACIONES.- LAS POBLACIONES DE LOS ORGANISMOS UNICELULARES SE PUEDEN MEDIR EN CUANTO AL NUMERO DE LAS CELULAS QUE LAS COMPONEN O EN CUANTO A SU MASA TOTAL, LO PRIMERO ES LA CONCENTRACION CELULAR Y SE DEFINE COMO EL NUMERO DE CELULAS POR UNIDAD DE VOLUMEN, LA MASA CELULAR O DENSIDAD CELULAR SE DEFINE COMO EL PESO SECO DE LAS CELULAS QUE HAY EN UNA UNIDAD DE VOLUMEN.

LA MEDIDA DE LA CONCENTRACION CELULAR PUEDE COMPRENDER TANTO LAS CELULAS VIVAS COMO LAS MUERTAS O SOLO LAS CELULAS VIVAS, Y SE PUEDE EXPRESAR, POR CONSIGUIENTE, POR UN RECUENTO TOTAL O POR UN RECUENTO DE VIABLES, EL RECUENTO TOTAL SE OBTIENE CONTANDO EL NUMERO DE CELULAS QUE HAY EN LOS VOLUMENES CONOCIDOS DE LAS DILUCIONES DEL CULTIVO CON UN MICROSCOPIO Y UNA CAMARA DE RECUENTO CALIBRADA Y EL RECUENTO DE VIABLES SEMBRANDO EN PLACAS UNOS VOLUMENES CONOCIDOS DE DILUCIONES SERIADAS DEL CULTIVO SOBRE UN MEDIO SOLIDO APROPIADO Y CONTANDO LAS COLONIAS QUE CRECE DESPUES DE LA INCUBACION, EN LOS CULTIVOS VIEJOS HAY MUCHAS CELULAS MUERTAS O MORIBUNDAS Y LA DIFERENCIA ENTRE LOS RECUENTOS DE VIABLES Y TOTAL PUEDE SER MUY GRANDE.

LA DENSIDAD CELULAR SE PUEDE MEDIR POR UNA DETERMINACION DEL PESO SECO DE UNA POBLACION PERO ESTE METODO ES FATIGOSO E INEXACTO A MENOS DE QUE SE EMPLEEN GRANDES VOLUMENES, ES MAS FRECUENTE LA MEDIDA DEL CONTENIDO DEL NITROGENO O DE LA DENSIDAD OPTICA DEL CULTIVO, ESTE ULTIMO METODO ES ESPECIALMENTE UTIL PUESTO QUE PERMITE REPETIR LAS OBSERVACIONES EN EL MISMO CULTIVO.

EN LOS CULTIVOS EN LOS QUE EL TAMAÑO MEDIO DE LAS CELULAS PERMANECE CONSTANTE, LA DENSIDAD CELULAR PUEDE SER PROPORCIONAL A LA CONCENTRACION CELULAR, SIN EMBARGO SI LA TALLA MEDIA CELULAR VARIA CON LAS FASES DEL CULTIVO, LA DENSIDAD CELULAR NO SERA PROPORCIONAL A LA CONCENTRACION CELULAR Y SE TIENE QUE ELEGIR EL TIPO DE MEDIDA QUE SEA MAS APROPIADO.

LA CONCENTRACION CELULAR SE PREFERIRA EN GENERAL SI SE CONSIDERA PROBLEMA DE SELECCION, MUTACION, ADAPTACION O PATOGENICIDAD. EN LAS INVESTIGACIONES SOBRE QUIMICA, METABOLISMO O NUTRICION SERA MAS APROPIADO OBTENER DATOS SOBRE LA DENSIDAD CELULAR.

CUANDO EL DESARROLLO DEL PROCESO DE REPRODUCCION ES UNIFORMEMENTE CONSTANTE PUEDE DETERMINARSE MATEMATICAMENTE EL TIEMPO DE GENERACION Y EL NUMERO DE GENERACIONES, Y EN OTROS ASPECTOS, ANALIZAR CUANTITATIVAMENTE EL INCREMENTO DEL CRECIMIENTO. EL TIEMPO DE GENERACION DE UNA BACTERIA PUEDE DETERMINARSE POR EXAMEN MICROSCOPICO DEL ORGANISMO EN UN MEDIO DE CULTIVO APROPIADO, LA MICROSCOPIA DE FACE ES LA MAS CONVENIENTE PARA ELLO. EXISTEN EQUIPOS FOTOGRAFICOS PARA UTILIZAR CON ESTA TECNICA MICROSCOPICA QUE PERMITEN REGISTRAR AUTOMATICAMENTE Y A INTERVALOS DE TIEMPO PREDETERMINADOS LAS SUCCESION DE LOS FENOMENOS. EL PROCEDIMIENTO QUE SE EMPLEA CON MAS FRECUENCIA, ES INOCULAR EL MEDIO CON UN NUMERO CONOCIDO DE CELULAS, DEJAR QUE LAS BACTERIAS CRESCAN EN CONDICIONES OPTIMAS, Y DESPUES DETERMINAR LA POBLACION FINAL. LOS DATOS ESPERIMENTALES NECESARIOS PARA CALCULAR EL TIEMPO DE GENERACION SON 1.- NUMERO DE BACTERIAS PRESENTES AL COMIENZO DE LA EXPERIENCIA, 2.- NUMERO DE BACTERIAS PRESENTES AL FINAL DE UN INTERVALO DE TIEMPO DADO Y 3.- EL INTERVALO DE TIEMPO.

COMO EJEMPLO SE DICE QUE SI SE INOCULA UNA BACTERIA EN UN MEDIO CUANDO TRANSCURRE EL TIEMPO DE GENERACION DE ESTE ORGANISMO SE DUPLICARAN LAS CELULAS, PUES CADA GENERACION SUCESIVA DUPLICA LA POBLACION. LA RELACION QUE EXISTE ENTRE EL NUMERO DE CELULAS Y GENERACIONES PUEDE EXPRESARSE EN UNA SERIE DE ECUACIONES EMPLEANDO LOS IMBOLOS SIGUIENTES.

$B$  = NUMERO DE BACTERIAS INOCULADAS EN EL MEDIO O RECUENTO BACTERIANO EN EL TIEMPO CERO.

$b$  = NUMERO DE BACTERIAS AL FINAL DE UN PERIODO DADO.

T = PERIODO DE TIEMPO,

G = TIEMPO DE GENERACION,

N = NUMERO DE GENERACIONES,

LOG = LOGARISMO DE BASE 10, LOGARISMO VULGARES, LOS LOGARISMOS SE PLICAN CON FRECUENCIA PARA REPRESENTAN O PARA EXPRE -- SAR DE OTRA FORMA LA POBLACION BACTERIANA.

PARTIENDO DE UNA SOLA CELULA, LA POBLACION TOTAL -  $\bar{b}$  AL FINAL DE UN PERIODO DE TIEMPO DADO VENDRA EXPRESADA POR --  $\bar{b} = 1 \times 2^N$  DONDE  $2^N$  EN LA POBLACION BACTERIANA DESPUES DE LA  $N^A$  GENERACION. AHORA BIEN EN LA PRACTICA EL NUMERO DE BACTERIAS B INTRODUCIDAS EN EL MEDIO EN EL TIEMPO CERO NO ES UNO, SI NO, -- CON TODA PROBABILIDAD VARIOS MILES Y LA FORMULA SERIA  $\bar{b} = B \times 2^N$  RESOLVIENDO LA ECUACION 2 PARA N SE TIENE LOGARITMO  $\bar{b} = \text{LOGARITMO } B + N \text{ LOG } 2$ .

$$N = \frac{\text{LOG } \bar{b} - \text{LOG } B}{\text{LOG } 2}$$

SI SE SUSTITUYE EN LA ECUACION ANTERIOR LOG 2 POR SU VALOR QUE ES 0,30103 SE TIENE,

$$N = 3,3 \text{ LOG } \bar{b} / B$$

POR CONSIGUIENTE APLICANDO LA ECUACION 4 PUEDE CALCULARSE EL NUMERO DE GENERACIONES QUE HAN TENIDO LUGAR, SIEMPRE QUE SE CONOZCA LA POBLACION INICIAL B Y LA POBLACION  $\bar{b}$  DESPUES DEL TIEMPO T. EL TIEMPO DE GENERACION G ES IGUAL A T \* TIEMPO -- TRANSCURRIDO ENTRE  $\bar{b}$  Y B \* DIVIDIDO POR EL NUMERO DE GENERACIONES N O SEA.

$$G = T/N = T / 3,3 \text{ LOG } \bar{b} / B$$

#### CURVA DE CRECIMIENTO

FACES DE CRECIMIENTO.- EL CRECIMIENTO DE LA POBLACION DE LOS ORGANISMOS UNICELULARES HA SIDO EN LOS CULTIVOS LIQUIDOS DE BACTERIAS DONDE SE HA ESTUDIADO MAS COMPLETAMENTE, SE

HA HALLADO QUE SE PUEDE DIVIDIR EN UNA SERIE DE FACES CARACTERIZADAS POR DIFERENTE COEFICIENTE DE CRECIMIENTO, EN CIERTAS CONDICIONES, NO OBSTANTE UNA O VARIAS DE LAS FACES PUEDEN SER TAMBREVES Y QUE PUEDEN PASAR INADVERTIDAS,

FACE DE LACTANCIA.- LA DIVISION CELULAR NO COMIENZA INMEDIATAMENTE DESPUES DE LA TRANSFERENCIA DE UNA INOCULO A UN MEDIO FRESCO DE CULTIVO. ACTIVIDAD METABOLICA COMIENZA CON UN RETRASO INICIAL Y SE INCREMENTA A CONTINUACION PROGRESIVAMENTE. EL AUMENTO RESULTANTE EN EL MATERIAL CELULAR DETERMINA EL INCREMENTO EN TAMAÑO DE LAS CELULAS Y DESPUES EN LA FACE SIGUIENTE, EL INCREMENTO EN EL NUMERO DE CELULAS MERCED A LA DIVISION-CELULAR.

FACE DE ACELERACION.- EL COMIENZO DE LA DIVISION-CELULAR MARCA EL PRINCIPIO DE UNA NUEVA FACE, LA FACE DE ACELERACION. EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO Y DE DIVISION CELULAR -- CRECE HASTA ALCANZAR SU MAXIMO AL FINAL DE ESTA FACE.

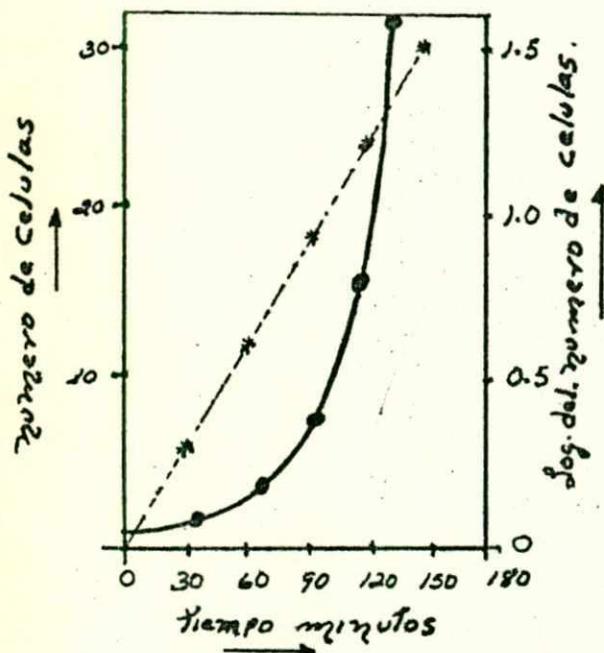
FACE EXPONENCIAL.- DURANTE ESTA FACE EL LOGARITMO-DEL NUMERO DE CELULAS CRECE LINEALMENTE CON RESPECTO AL TIEMPO, POR LO QUE LA FACE SUELE DESIGNARSE CON EL NOMBRE DE FACE LOGARITMICA. EL COEFICIENTE DE DIVISION CELULAR PERMANECE CONSTANTE AL MAXIMO DURANTE LA FACE.

FACE DE RETARDO.- ESTA FACE SE CARACTERIZA POR UNA DECLINACION DEL COEFICIENTE DE DIVISION CELULAR, COMO RESULTADO DEL AGOTAMIENTO DE LOS NUTRIENTES Y DE LA ACUMULACION DE PRODUCTOS METABOLICOS TOXICOS.

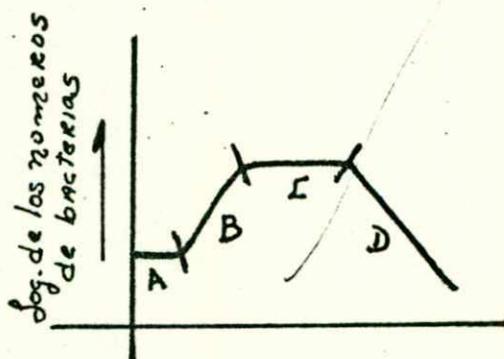
FACE ESTACIONARIA.- DESPUES DE ESTA FACE HAY ALGUN CRECIMIENTO Y DIVISION CELULAR, PERO EL NUMERO DE CELULAS VIABLE PRODUCIDO SE EQUILIBRA CON EL NUMERO DE LAS QUE MUEREN, DE MANERA QUE SE MANTIENE UNA POBLACION CONSTANTE DE CELULAS VIABLES - AUNQUE CONTINUA ELEVANDOSE A UN RITMO MUCHO MAS REDUCIDO EL --

RECUESTO TOTAL.

FACE DE DECLINACION.- EL COEFICIENTE DE MUERTES SE INCREMENTA GRADUALMENTE CON RESPECTO AL TIEMPO Y EL NUMERO DE CELULAS QUE MUERE POR UNIDAD DE TIEMPO ES MAYOR QUE EL NUMERO DE CELULAS VIABLES PRODUCIDAS. EL RECUESTO TOTAL PUEDE CRECER LIGERAMENTE DURANTE LA PRIMERA PARTE DE LA FACE, PERO DESPUES PUEDE SUCEDER FENOMENO DE AUTOLISIS QUE HACEN DISMINUIR EL RECUESTO TOTAL.



Curva Teorica de crecimiento



Curva tipica de crecimiento. Tiempo, horas

## CRECIMIENTO DE LAS COLONIAS

### CRECIMIENTO DE LAS COLONIAS FUNGICAS SOBRE LOS- MEDIOS SOLIDOS.-

SI SE INOCULA EL CENTRO DE UNA PLACA QUE CONTIENE UN MEDIO DE AGAR APROPIADO CON LAS ESPORAS O CON EL MICELIO DE UN HONGO, SE PRODUCE EN POCOS DIAS UNA COLONIA DE CONTORNO CIRCULAR QUE CONTINUARA CRECIENDO A UNA VELOCIDAD DEPENDIENTE DEL GERME UTILIZADO, DE LA NATURALEZA DEL MEDIO Y DE LOS FACTORES AMBIENTALES. EN EL DESARROLLO DE ESTA COLONIA SE PUEDEN DISTINGUIR TRES FASES UNA FASE DE LATENCIA, UNA FASE DE CRECIMIENTO LINEAL DE DECADENCIA.

FASE DE LATENCIA.- CUANDO LAS ESPORAS SE INOCULAN EN UN MEDIO SOLIDO, TRANSCURREN VARIAS HORAS ANTES DE QUE SE COMPLETE LA GERMINACION. SI SE UTILIZA UN INOCULO MICELICO, SE EMPLEARA UN PERIODO SEMEJANTE EN LA REGENERACION DE LAS HIFAS ROTAS Y DAÑADAS. DESPUES HABRA UN INTERVALO POSTERIOR ANTES DE QUE SE ALCANCE UNA INTENSIDAD MAXIMA EN EL METABOLISMO Y POR CONSIGUIENTE, EN EL CRECIMIENTO, SIENDO ESTE ULTIMO INTERVALO ANOLOGO A LA COMBINACION DE LAS FASES DE LATENCIA Y DE ACELERACION DEL CRECIMIENTO DE LAS POBLACIONES DE LOS ORGANISMOS UNICELULARES. LA LATENCIA HA SIDO MENOS ESTUDIADA EN LOS CULTIVOS DE HONGOS QUE EN EL CRECIMIENTO BACTERIANO, PERO ES EVIDENTE QUE, COMO EN LAS BACTERIAS, SU DURACION ESTA INFLUIDA POR EL TAMAÑO, LA EDAD Y LA NATURALEZA DEL INOCULO Y POR LA COMPOSICION DEL MEDIO EMPLEADO.

FASE DE CRECIMIENTO LINEAL.- LA FASE DE LATENCIA-ESTA SEGUIDA POR OTRA EN LA QUE EL DIAMETRO DE LA COLONIA CRECE LINEALMENTE CON RESPECTO AL TIEMPO, MANTENIENDOSE EN EL BORDE DE LA COLONIA UN COEFICIENTE DE CRECIMIENTO CONSTANTE. ESTE INCREMENTO DEL DIAMETRO DE LA COLONIA SE PUEDE MEDIR FACILMENTE

EN LOS CULTIVOS EN PLACA DE PETRI, QUE SE UTILIZAN, PUES, MUCHO EN LOS ESTUDIOS SOBRE EL CRECIMIENTO DE HONGOS. ESTAS MEDIDAS-CONCIERNEN AL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO EN EL BORDE DE LA COLONIA, PERO TIENEN POCO QUE VER CON SU INCREMENTO EN PESO. ASI -- PUES, EL DIAMETRO DE UNA COLONIA EN AGAR AL QUE NO SE HAN AÑADIDO NUTRIENTES, CRECE DE ORDINARIO MUCHO MAS RAPIDAMENTE QUE EL-DE UNO QUE RADICA EN UN MEDIO NUTRITIVO.

EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO LINEAL ESTA INFLUIDO POR LA COMPOSICION Y LA CONCENTRACION DEL MEDIO, POR SU PH Y SU PRESION OSMOTICA Y POR LA TEMPERATURA DE INCUBACION. PUEDEN -- TAMBIEN TENER IMPORTANCIA EL CONTENIDO EN OXIGENO Y EN DIOXIDO-DE CARBONO Y LA HUMEDAD RELATIVA DE LA ATMOSFERA EN EL INTERIOR DE LA PLACA DE PETRI. EL CRECIMIENTO LINEAL PUEDE CONTINUAR A -- VECES HASTA QUE SE ALCANZA EL BORDE DE LA PLACA DE PETRI PERO -- EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO PUEDE DECRECER ANTES. EL COEFI -- CIENTE DE CRECIMIENTO DE LOS HONGOS QUE CRECEN CON RAPIDEZ SE -- PUEDE MEDIR CONVENIENTEMENTE EN UNOS TUBOS HORIZONTALES LARGOS- -- MEDIO LLENOS CON MEDIO E INOCULADOS EN UNO DE SUS EXTREMOS. LA- -- FASE LINEAL DEL CRECIMIENTO SE PUEDE MANTENER DURANTE VARIOS -- DIAS EN ESTOS TUBOS DE CRECIMIENTO.

FASE DE DECADENCIA.- EL COEFICIENTE DE CRECIMIEN-TO DE UNA COLONIA FINGICA DECRECE DE ORDINARIO AL ACERCARSE AL- -- BORDE DE LA PLACA DE PETRI O INCLUSO A LALGUNA DISTANCIA DE ES- -- TA BARRERA MECANICA. ESTA DISMINUCION DEL COEFICIENTE DE CRE- -- CIMIENTO SE DEBE GENERALMENTE A LOS EFECTOS NOCIVOS DE LOS PRO- -- PIOS PRODUCTOS METABOLICOS DE LA COLONIA, POR LO QUE SE DENOMI- -- NA DECADENCIA.

EN ALGUNAS ESPECIES LA DECADENCIA SE ACOMPAÑA DE -- LA AUTOLISIS DEL MICELIO EN EL CENTRO DE LA COLONIA, LA DECADEN- -- CIA ES MAS USUAL A TEMPERATURAS SUPRAOPTIMAS QUE INFRAOPTIMAS, -- LO QUE SIN DUDA SE DEBE A QUE LA INTENSIDAD DE LOS PROCESOS ME- -- TABOLICOS ES MAYOR A TEMERATURAS ELEVADAS.

## CRECIMIENTO DE LAS COLONIAS FUNGICAS EN MEDIOS LIQUIDOS

MUCHAS ESPECIES DE HONGOS CRECEN SATISFACTORIAMENTE EN MEDIO LIQUIDOS, TANTO EN CULTIVOS ESTATICOS COMO EN LOS AGITADOS MECANICAMENTE. CUANDO CRECE EN CULTIVOS ESTATICOS, EL HONGO PRODUCE POR LO GENERAL UN FIELTRO EN LA SUPERFICIE DEL LIQUIDO. EN TALES CIRCUNSTANCIAS, LAS DIFERENTES PARTE DEL CULTIVO-ESTAN EN DISTINTAS CONDICIONES, Y ESPECIALMENTE HAY UN GRADIENTE DEL ESTADO AEROBIO AL ESTADO ANAEROBIO. PARA LOGRAR LA HOMOGENEIDAD DE LOS CULTIVOS HAY QUE AGITARLOS MECANICAMENTE O HACER BURBUJER AIRE A SU TRAVES.

LOS CULTIVOS LIQUIDOS ESTATICOS SON EN GENERAL SATISFACTORIOS EN CUANTO AL ESTUDIO DE LAS EXIGENCIAS NUTRITIVAS-DE UN HONGO Y EN CUANTO AL EXAMEN DE LOS PRODUCTOS DE SU METABOLISMO, PERO PARA ESTUDIOS PROLONGADOS SOBRE LAS INTENSIDADES DE LAS REACCIONES METABOLICAS, SE NECESITAN CULTIVOS AGITADOS, PUESTO QUE UNO DE LOS REQUISITOS ES LA HOMOGENEIDAD EN TODOS LOS PUNTOS DEL MEDIO. EL CRECIMIENTO EN LOS CULTIVOS LIQUIDOS SE ESTUDIA SATISFACTORIAMENTE MIDIENDO EL PESO SECO O, A VECES, CALCULANDO EL NITROGENO.

### FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE EL CRECIMIENTO

TANTO EL CRECIMIENTO INDIVIDUAL COMO EL DE LAS POBLACIONES ESTAN CONDICIONADOS POR LA CONSTITUCION GENETICA DE LA ESPECIE O DE LA CEPA Y POR CIERTO NUMERO DE FACTORES INTERNOS. EN LAS CONDICIONES NATURALES LA INTERACCION DE ESTOS FACTORES INFLUYE SOBRE EL CRECIMIENTO Y EL DESARROLLO.

## FACTORES INTERNOS QUE INFLUYEN SOBRE EL CRECIMIENTO.

LAS DISTINTAS ESPECIES DIFIEREN MUCHO EN CUANTO AL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO Y DE DIVISION CELULAR QUE ALCANZAN EN CONDICIONES OPTIMAS Y DENTRO DE CADA UNA DE LAS ESPECIES PUEDE HABER GRANDES DIFERENCIAS.

LA EDAD Y LA HISTORIA ANTERIOR DE LAS CELULAS QUE SE UTILIZAN COMO INOCULO EN EL ORIGEN DEL CULTIVO INFLUYEN EN LA FASE DE LATENCIA, PERO EJERCEN ESCASA INFLUENCIA SOBRE EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO ULTERIOR O SOBRE EL CRECIMIENTO TOTAL. SI EL MEDIO FRESCO SE INOCULA CON ORGANISMOS, DE UNA COLONIA EN FASE EXPONENCIAL DE CRECIMIENTO QUE ESTA EN UN MEDIO SIMILAR, LA FASE DE LATENCIA PUEDE SER MUY CORTA E INCLUSO IGUALARSE A CERO. SI EL INOCULO SE TOMA DE UN CULTIVO QUE TODAVIA NO HA ALCANZADO LA FASE EXPONENCIAL O QUE YA HA PASADO DE ELLA, PARARA ALGUN TIEMPO ANTES DE QUE EL NUEVO CULTIVO ALCANCE EL MAXIMO COEFICIENTE DE CRECIMIENTO.

## FACTORES EXTERNOS QUE INFLUYEN SOBRE EL CRECIMIENTO.

FACTORES NUTRITIVOS.- LA NATURALEZA, CONCENTRACION Y CANTIDAD DE LOS MATERIALES ALIMENTICIOS DISPONIBLES INFLUYE SOBRE TODAS LAS FASES DEL CRECIMIENTO, ASI COMO SOBRE LA CANTIDAD TOTAL DE MATERIAL CELULAR FORMADO. POR ENCIMA DE LAS CIFRAS DE LAS CONCENTRACIONES DE LOS RESPECTIVOS NUTRIENTES QUE PERMITEN EL CRECIMIENTO DE UN ORGANISMO, EL INCREMENTO DE LA CONCENTRACION DE UNO O MAS NUTRIENTES ESENCIALES DETERMINA POR LO GENERAL UN INCREMENTO EN EL CRECIMIENTO TOTAL. LAS CONCENTRACIONES CERCANAS AL MAXIMO PUEDEN REDUCIR EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO INCLUSO AUNQUE PUEDE SER ELEVADO EL CRECIMIENTO TOTAL. UN MEDIO RICO REDUCE CON FRECUENCIA EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO LINEAL DE UNA COLONIA FUNGICA, PERO AUMENTA LA RAMIFICACION Y LA PRODUCCION DE HIFAS AEREAS, DANDO, PUES, UN PESO SECO POR UNIDAD DE TIEMPO MAYOR QUE EL DE UNA COLONIA QUE SE EXTIENDE CON RAPIDEZ POR UN

POR UN MEDIO Pobre.

TEMPERATURA.- LA TEMPERATURA TIENE UN EFECTO MUY ACUSADO SOBRE LA VELOCIDADES DE LAS REACCIONES QUIMICAS QUE INTERVIENEN EN EL METABOLISMO, Y, POR CONSIGUIENTE, SOBRE EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO. EL INCREMENTO DE LA TEMPERATURA TIENE COMO RESULTADO EL INCREMENTO DEL CRECIMIENTO HASTA UN OPTIMO, POR ENCIMA DEL CUAL UN INCREMENTO RELATIVAMENTE PEQUEÑO DETERMINA EL CESE TOTAL DEL CRECIMIENTO. SE CLASIFICAN LOS MICROORGANISMOS EN PSICROFILOS, CON TEMPERATURA OPTIMA POR DEBAJO DE LOS 20 GRADOS CENTIGRADOS.

MESOFILOS.- CON TEMPERATURA OPTIMA ENTRE LOS 20 GRADOS CENTRIGRADOS Y LOS 45 GRADOS CENTIGRADOS.

TERMOFILOS.- CON TEMPERATURA OPTIMA POR ENCIMA DE LOS 45 GRADOS CENTIGRADOS «HONGOS Y BACTERIAS»

AIREACION.- LAS CANTIDADES DE VAPOR DE AGUA, DE OXIGENO Y DE DIOXIDO DE CARBONO DEL AIRE EJERCEN UN PROFUNDO EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS. TAMBIEN INFLUYEN SOBRE EL CRECIMIENTO, SI ESTAN EN CANTIDADES SUFICIENTES, OTRAS SUSTANCIAS VOLATILES COMO AMONIACO, BACTERICIDAS Y FUNGICIDAS VOLATILES Y SUSTANCIAS ESTIMULADORAS O INHIBIDORAS PRODUCIDAS POR CIERTOS ORGANISMOS.

AGUA.- EL AGUA ES ESENCIAL PARA TODO CRECIMIENTO. ADEMAS, MUCHOS MICROORGANISMOS TOMAN EL AGUA Y LOS MATERIALES NUTRITIVOS DISUELTOS POR TODA SU SUPERFICIE.

CONCENTRACION DE HIDROGENIONES DEL SUSTRATO.- ALGUNOS ORGANISMOS PUEDEN CRECER EN UNA GAMA DE PH DESFAVORABLE ANHIBE EL CRECIMIENTO Y ES PROBABLE QUE ESTO SE DEBA FRECUENTEMENTE A UN AUMENTO DE LA SENSIBILIDAD DEL ORGANISMO A SUS-

PROPIOS PRODUCTOS METABOLICOS TOXICOS.

LUZ.- LA INTENSIDAD DE LA LUZ INFLUYE ACUSADAMENTE SOBRE EL COEFICIENTE DE CRECIMIENTO DE LOS ORGANISMOS QUE DEPENDEN DE LA FOTOSINTESIS POR SER ESTA SU PRINCIPAL FUENTE DE ENERGIA.

## M E T O D O D E P R E S E R V A C I O N

MANTENIMIENTO Y CONSERVACION DE LOS CULTIVOS PUROS.- EN RELACION CON EL ESTUDIO DE LOS CULTIVO PUROS, SE PRESENTA EL PROBLEMA DE CONSERVARLOS EN ESTADO VIABLE DURANTE DIFERENTES PERIODOS DE TIEMPO, LA MAYORIA DE LOS LABORATORIOS BACTERIOLOGICOS MANTIENEN UNA GRAN COLECCION DE ESTOS CULTIVOS, QUE SUELEN LLAMARSE COLECCION DE CULTIVOS DE STOCK, EN LOS LABORATORIOS SON NECESARIOS ESTOS ORGANISMOS PARA LOS TRABAJOS DIDACTICOS Y DE INVESTIGACION Y COMO TESTIGOS PARA METODOS ESPECIALES, POR ESTOS Y OTROS MOTIVOS, ES DE LA MAYOR IMPORTANCIA MANTENER CULTIVOS PUROS DEBIDAMENTE IDENTIFICADOS DE LAS BACTERIAS QUE SE UTILIZAN CON MAS FRECUENCIA.

METODO DE CONSERVACION.- LA NECESIDAD DE MANTENER GRAN NUMERO DE CULTIVOS DURANTE LARGOS PERIODOS DE TIEMPO, REQUIERE EL CONOCIMIENTO DE LOS MEJORES MEDIOS PARA LOGRARLO, ES EVIDENTE QUE SE NECESITA MUCHO TIEMPO PARA ACUMULAR DATOS SOBRE LA EFICACIA DE UN METODO DETERMINADO PARA CONSERVAR LA VIABILIDAD DE UN CULTIVO, EL METODO DE CONSERVACION Y MANTENIMIENTO DEBE CONSERVAR TODOS LOS CARACTERES DE LA ESPECIE TAL COMO SON EN EL ORIGINAL.

TRANSFERENCIA PERIODICA A UN MEDIO RECIENTE.- LOS CULTIVOS BACTERIANOS PUEDEN MANTENERSE VIVOS EN LOS TUBOS DE MEDIO EN QUE SE CULTIVAN TRANSFIRIENDOLOS PERIODICAMENTE A UN MEDIO RECIENTE, MUCHAS DE LAS BACTERIAS HETEROTROFAS MAS COMUNES SE CONSERVAN VIABLES DURANTE SEMANAS O MESES EN MEDIOS COMO EL AGAR NUTRITIVO, CUANDO SE EMPLEA ESTE PROCEDIMIENTO PARA MANTENER UNA COLECCION DE CULTIVOS, HAY QUE CERCIORARSE PREVIAMENTE DE TRES CONDICIONES, EL MEDIO ADECUADO PARA CADA ESPECIE, LA TEMPERATURA, Y EL LAPSO DE TIEMPO A QUE DEBEN HACERSE LAS TRANSFERENCIAS AL MEDIO NUEVO.

CONSERVACION CUBRIENDO LOS CULTIVOS CON ACEITE MINERAL.- MUCHAS BACTERIAS PUEDEN CONSERVARSE EN BUENAS -- CONDICIONES CUBRIENDO SU CULTIVO EN AGAR INCLINADO CON ACEITE MINERAL ESTERILIZADO. EL ACEITE DEBE CUBRIR POR COMPLETO LA SUPERFICIE INCLINADA, PARA ASEGURAR LO CUAL CONVIENE QUE SOBREPASE COMO UN CENTRIMETRO EL EXTREMO SUPERIOR DEL DECLIVE. EL MANTENIMIENTO DE LA VIABILIDAD POR ESTE PROCEDIMIENTO VARIAS CON LAS ESPECIES, PERO POR LO GENERAL ES DE VARIOS AÑOS. ALGUNAS ESPECIES SE CONSERVAN EN BUEN ESTADO DURANTE 15 A 20 AÑOS. ESTE METODO TIENE LA SINGULAR VENTAJA DE QUE PERMITE TOMAR A VOLUNTAD UNA MUESTRA DEL CULTIVO BAJO EL --- ACEITE CON EL ALAMBRE DE INOCULACION, PARA SEMBRARLO EN UN MEDIO NUEVO, CONSERVANDO PROTEJIDO EL CULTIVO ORIGINAL.

CONSERVACION DE LOS CULTIVOS POR DESECACION RAPIDA EN ESTADO DE CONGELACION.- «LIOFILIZACION» LA LIOFILIZACION ES EL PROCEDIMIENTO MAS EFICAZ PARA LA CONSERVACION DE LOS CULTIVOS. MUCHAS ESPECIES BACTERIANAS PERMANECEN VIABLES Y SIN ALTERACION DURANTE MAS DE 20 AÑOS CONSERVADAS - POR ESTE METODO. CONSISTE EN DESECAR RAPIDAMENTE LAS CELULAS, MANTENIDAS EN ESTADO DE CONGELACION, POR ACCION DE UN VACIO ELEVADO, EL PROCEDIMIENTO SE PRACTICA COMO SIGUE. SE COLOCA LA SUSPENSION DE CELULAS EN PEQUEÑOS VIALES O AMPOLLAS DE VIDRIO QUE SE INTRODUCEN EN UNA MEZCLA DE HIELO - SECO «DIOXIDO DE CARBONO SOLIDO» Y ALCOHOL «MENOS 78 GRADOS CENTRIGRADOS». SE CONECTA EL RECIPIENTE QUE CONTIENE LOS VIALES CON LA CONDUCCION DE ALTO VACIO, Y DESPUES DE COMPLETAR LA DESECACION, SE CIERRAN LOS VIALES A LA LLAMA, CONSERVANDO EL VACIO.

LAS IMPORTANTES VENTAJAS QUE PRESENTAN ESTA TECNICA SON EL LARGO PLAZO DE SUPERVIVENCIA, LA MAYOR OPORTUNIDAD PARA CAMBIOS EN LOS CARACTERES DEL CULTIVO, Y EL PEQUEÑO VOLUMEN DE LOS VIALES DE CONSERVACION.

EN GENERAL, EL FRIO CONSERVA LOS MICROBIOS, AL BAJAR LA TEMPERATURA POR DEBAJO DEL PUNTO OPTIMO PARA LOS FENOMENOS DE CRECIMIENTO Y OTRAS ACTIVIDADES FISIOLÓGICAS, SE REDUCE LA INTENSIDAD DEL METABOLISMO. EL COEFICIENTE DE TEMPERATURA ES ESCENCIALMENTE IGUAL AL DE OTROS SERES VIVOS, O SEA, EL METABOLISMO SE REDUCE APROXIMADAMENTE A LA MITAD POR 10 GRADOS C. DE DESCENSO DE TEMPERATURA, ENTRE LOS LIMITES RELATIVAMENTE ESTRECHOS EN QUE ESTE EFECTO ES DEMOSTRABLE. ASI, LOS MICROBIOS CRECEN Y METABOLIZAN RAPIDAMENTE A TEMPERATURAS DE INCUBADORA, PERO TIENDEN A PERSISTIR EN ESTADO SEMIINACTIVO A TEMPERATURAS COMUNES DE REFRIGERADOR «2 A 8 GRADOS C», Y EL ALMACENAMIENTO EN ESTE ES UN METODO COMUN PARA CONSERVAR CULTIVOS BACTERIANOS POR TIEMPO LIMITADO.

TEMPERATURAS MUY BAJAS.- SE DICE COMUNMENTE QUE LOS MICROBIOS SOBREVIVEN A LA CONGELACION Y TEMPERATURAS EXTREMADAMENTE BAJAS, COMO EL AIRE LIQUIDO «MENOS 190 GRADOS C» E HIDROGENO LIQUIDO «MENOS 250 GRADOS C», EL EFECTO DE LA EXPOSICION Y ALMACENAMIENTO A TEMPERATURAS INFERIORES AL PUNTO DE CONGELACION DEL AGUA ES INDUDABLEMENTE NOCIVO EN MAYOR O MENOR PROPORCION, PERO CUANDO ALGUNOS DE MILLONES DE CELULAS PRESENTES SIGUEN VIABLES, SE DICE QUE LOS MICROBIOS SOBREVIVEN AL TRATAMIENTO, MUCHOS SON DESTRUIDOS COMO CONSECUENCIA DE FACTORES LETALES, Y LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS SON LA VELOCIDAD DE ENFRIAMIENTO, LA TEMPERATURA A LA QUE SE ALMACENAN LAS CELULAS CONGELADAS, Y LA VELOCIDAD CON LA QUE SON DESCONGELADAS.

CUANDO EL ENFRIAMIENTO ES MUY RAPIDO, LA TENDENCIA A LA CRISTALIZACION EXTRACELULAR DISMINUYE Y SE PRESENTA CRISTALIZACION INTRACELULAR. EN EL PRIMER CASO OPERAN-

DOS EFECTOS LETALES, UNO, LA CONCENTRACION ELEVADA DE ELECTROLITOS, EL OTRO, LA DESNATURALIZACION POR DESHIDRATACION, EL ENFRIAMIENTO MUY RAPIDO REDUCE AL MINIMO EL PRIMER EFECTO, PERO NO EL SEGUNDO.

## DESECACION

LAS FORMAS VEGETATIVAS DE LA MAYOR PARTE DE LAS BACTERIAS SON DESTRUIDAS POR DESECACION EN AIRE, AUNQUE LAS DIFERENTES ESPECIES PRESENTEN DIFERENCIAS NOTABLES EN SU RESISTENCIA. EN GENERAL, LOS ORGANISMOS ENCAPSULADOS RESISTEN MAS QUE LOS NO CAPSULADOS. LAS ESPORAS SON RESISTENTES A LA DESECACION. LA RESISTENCIA DE LAS FORMAS PATOGENAS DE VIAS RESPIRATORIAS SUPERIORES ES DE INTERES PARTICULAR EN RELACION CON INFECCIONES ADQUIRIDAS POR INHALACION, YA QUE LA DURACION DE INFECCIOSIDAD DE LAS GOTITAS ES FUNCION PRIMORDIALMENTE DE LA RESISTENCIA DEL MICROBIO A LA DESECACION. EL EFECTO LETAL OBSERVADO AL SUSTENDER MICROORGANISMOS EN EL AIRE ES PRINCIPALMENTE FUNCION DE LA HUMEDAD RELATIVA, -- SE HA COMPROBADO QUE EL MAXIMO DE MUERTES SE PRODUCE CON -- 50 POR CIENTO DE UNIDAD RELATIVA. ESTO PARECE SER CONSECUENCIA DE LA CANTIDAD DE AGUA RETENIDA EN LAS GOTAS, CON HUMEDADES MUY BAJAS, LA DESECACION RAPIDA BRINDA RESISTENCIA AL ORGANISMO CONTRA LA ACCION TOXICA DE LAS SUSTANCIAS SOLUBLES, CONCENTRADAS POR LA DESECACION PARCIAL, MIENTRAS -- QUE EN HUMEDADES ALTAS SE RETIENE SUFICIENTE AGUA PARA IMPEDIR QUE ESTAS SUSTANCIAS ALCANCEN CONCENTRACIONES TOXICAS.

CONGELACION Y DESECACION.- LA RESISTENCIA DE UN MICROBIO DADO A LA DESECACION DEPENDE CLARAMENTE DE LA RAPIDEZ DE ESTA Y DE LA TEMPERATURA A LA CUAL LOS MICROORGANISMOS SON DESECADOS Y ALMACENADOS. SI SE CONGELAN BACTERIAS RAPIDAMENTE, POR EJEMPLO CON HIELO SECO Y ALCOHOL, O UNO DE LOS GLICOLIS DESECADOS EN ESTADO DE CONGELACION «FENOMENO LEOFILO» Y EL RECIPIENTE O AMPLULA ES EVACUADO Y SE-

LLADO PERMANECEN VIABLES CON ANTIGENICIDAD Y VIRULENCIA INDE  
MNES POR MESES Y AÑOS, GUARDADOS EN EL REFRIGERADOR.

COCCIDIOIDOMICOSIS, ES NECESARIA PARA LAS INFECCIONES GENERALIZADAS GRAVES. EL VIOLETA DE GENCIANA AL UNO POR CIENTO, EN ALCOHOL AL 10-20 POR CIENTO, ES TAMBIEN EFECTIVO PARA LAS LESIONES ORALES, CUTANEAS, Y VAGINALES. LA TERAPEUTICA CON ANTI BIOTICOS DEBE SER DISCONTINUA SI ES POSIBLE.

ACTINOMICOSIS Y NOCARDIOSIS.- LA ACTINOMICOSIS,-- ESTA DISTRIBUIDA MUNDIALMENTE, Y ES CAUSADA POR UN ACTINOMICETO ANAEROBIO, ACTINOMYCES ISRAELI, QUE ES PARTE DE LA FLORA-NORMAL DE LA BOCA, LA NOCARDIOSIS ES CAUSADA POR UN ACTINOMICES AEROBIO DE LA TIERRA, NOCARDIA ASTEROIDES.

DIAGNOSTICO.- LAS LESIONES PRINCIPALES DEL ACTINOMICOSIS, SON MULTIPLES ABSCESOS, SENOS, Y FISTULAS, CON DESCARGAS DE UN MATERIAL SANGUINOPURULENTO CONTENIENDO GRANULOS DE AZUFRE, CUALQUIER REGION DEL CUERPO PUEDE SER INFECTADA, PERO LA CABEZA Y EL CUELLO, SON LOS MAS FRECUENTES AFECTADOS.

LAS AFECCIONES DE LA NOCARDIOSIS, SON PULMONARES- Y SEMEJAN LOS SINTOMAS DE LA TUBERCULOSIS. LA DESEMINACIONAL SNC, Y A OTROS ORGANOS PUEDE OCURRIR. OTRAS ESPECIES DE NOCARDIA CAUSAN INFECCIONES EN LOS TEJIDOS SUBCUTANEOS CON AFECCIONES OSEAS, «MICETOMA».

TRATAMIENTO.- PARA LA ACTINOMICOSIS, LA PENICILINA G ES EL MEDICAMENTO DE ELECCION. DIEZ A 20 MILLONES DE UNIDADES SE DAN CADA DIA POR VIA I.M. DURANTE 4-6 SEMANAS POR LO MENOS. EL TRATAMIENTO SE CONTINUA POR VIA ORAL CON LA PENICILINA V. LA TERAPEUTICA MASIVA PROLONGADA ES NECESARIO CON EL FIN DE FORZAR LOS NIVELES EFECTIVOS DEL MEDICAMENTO EN LOS ABSCESOS DONDE SE ENCUENTRA EL HONGO. LAS SULFONAMIDAS PUEDEN SER AGREGADAS AL REGIMEN ASI COMO LAS ESTREPTOMICINAS, LAS CUALES CONTROLAN A LOS MICROORGANISMOS GRAMNEGATIVOS ASOCIADOS. LOS ANTIBIOTICOS DE AMPLIO ESPECTRO SOLO DEBEN SER CONSIDERADOS SI LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD MUESTRAN QUE EL HONGO ES RESISTENTE A LA PENICILINA.

COMPUESTO INORGANICOS.- MUCHAS SUBSTANCIAS INORGANICAS TIENEN ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA POR LA TOXICIDAD PARA LOS MICROBIOS DE LOS IONES EN QUE SE DISOCIAN, O POR SU ACTIVIDAD COMO AGENTES OXIDANTES, PROVOCANDO CIERTO GRADO DE COMBUSTION FRIA DE LA CELULA.

ACIDOS Y ALCALIS. D LOS ACIDOS Y ALCALIS FUERTES- O SEA, LOS MUY DISOCIADOS, EJERCEN EFECTO BACTERICIDA INTENSO. LA ACTIVIDAD LETAL DE LOS ACIDOS MINERALES SE ASOCIA, Y ES PROPORCIONAL AL GRADO DE SU DISOCIACION, PERO LA DE LOS ACIDOS ORGANICOS PARECE SER EFECTO DE TODA LA MOLECULA, YA QUE EL GRADO DE DISOCIACION POR LO COMUN ES PEQUEÑO. LA ACCION DESINFECTANTE DE ALCALIS COMO HIDROXIDO DE SODIO, ES PROPORCIONAL AL GRADO DE DISOCIACION.

SALES.- EN GENERAL, EJERCEN DOS EFECTOS SOBRE LAS BACTERIAS. A CONCENTRACIONES MUY BAJAS, ESTIMULAN NOTABLEMENTE EL CRECIMIENTO, A CONCENTRACIONES MAYORES, SON TOXICAS. LAS CONCENTRACIONES PARTICULARES EN LAS QUE ESTOS EFECTOS SON MANIFIESTOS DEPENDEN DEL GRADO DE DISOCIACION DE LA SAL, LA NATURALEZA DEL ANION, Y LA VALENCIA Y PESO MOLECULAR DEL ION METALICO, EN GENERAL, LOS CATIONES BIVALMENTE SON MAS TOXICOS QUE LOS MONOVALENTES, Y LAS SALES DE METALES PESADOS MAS QUE LAS DE METALES LIGEROS. SIN EMBARGO, NO HAY UNA RELACION CUANTITATIVA PRECISA EN ESTOS CASOS.

LOS MAS ACTIVOS DE LOS METALES PESADOS SON MERCURIO, PLATA Y COBRE, EL CLORURO MERCURIO ES MUY ACTIVO EN SOLUCION ACUOSA AL 0,1 X 100, PERO SU ACTIVIDAD ES BACTERIOSTATICA, YA QUE LAS CELULAS TRATADAS PUEDEN REAVIVARSE ELIMINANDO EL ION MERCURIO CON SULFURO DE HIDROGENO. EN GENERAL, SON RELATIVAMENTE POCOS LOS COMPUESTOS MERCURIALES CON ACCION ANTIBACTERIANA Y LOS QUE LA TIENEN, COMO RESULTADO DE LA PRESENCIA DE ION MERCURICO, SON MAS BACTERIOSTATICOS QUE BACTERICIDAS.

COMPUESTOS ORGANICOS.- SON VARIADOS LOS QUE TIENEN ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y SE USAN COMO ANTISEPTICOS Y DESINFECTANTES. LOS MAS IMPORTANTES SON CIERTOS COMPUESTOS ORGANOMETALICOS, FENOLES Y SUBSTANCIAS RELACIONADAS, JABONES Y DETERGENTES ALQUILICOS DE SULFATO, COMPUESTO DE AMONI CUATERNARIO Y ALGUNOS ALCOHOLES Y ETHERES.

EL JABON ES UN AGENTE ANTIMICROBIANO CLARAMENTE EFICAZ, DE MANERA QUE AL LAVARSE LA PIEL CON AGUA Y JABON SE REDUCE LA POBLACION BACTERIANA, MATANDO UNOS FERMENTOS Y RRASTRANDO OTROS. LA DESINFECCION MAS RIGUROSA DE LA PIEL, UTIL EN CIRUGIA Y EN EL TRATAMIENTO DE LAS HERIDAS SUPERFICIALES, PUEDE LLEVARSE A CABO CON EL YODO O CON ALGUNOS COLORANTES, COMO EL VIOLETA DE GENCIANA O LA ACRIFLAVINA. EL ALCOHOL ES UN GERMICIDA MENOS EFICAZ DE LO QUE ORDINARIAMENTE SE CREE.

LOS MATERIALES MUY CONTAMINADOS Y QUE NO TIENEN VALOR SE DISPONEN CONVENIENTEMENTE PARA SU INCINERACION. SI ESTO NO ES POSIBLE, SE PUEDE UTILIZAR UNA SERIE DE DESINFECTANTES QUIMICOS, EL FENOL, EL CRESOL, EL CLORURO MERCURICO Y EL FORMOL SON LOS MAS UTILIZADOS. LOS DISTINTOS AGENTES QUIMICOS SE EVALUAN FRECUENTEMENTE POR COMPARACION CON EL FENOL, ESTE ES UN PROCEDIMIENTO UTIL CON LAS PREPARACIONES COMERCIALES DEL GRUPO FENOLICO.

PERO PUEDE CONFUNDIR MUCHO CON OTROS COMPUESTOS, QUE PUEDEN SER MENOS EFICACES QUE EL FENOL EN UNAS CONDICIONES Y MUCHOS MAS EN OTRAS. EL FENOL MISMO ES MUY EFICAZ CONTRA LAS CELULAS VEGETATIVAS, PERO NO CONTRA LAS ESPORAS.

PARA LA NOCARDIOSIS, PUEDE RESPONDER DE 4 - 6 GRS  
DE SULFADIAZINA, CON TETRACICLINA. 2 G. AL DIA. LA SULFADIAZI  
NA PUEDE SER AUMENTADA EN PACIENTES MUY GRAVES.

EXISTEN GRAN NUMERO DE ENFERMEDADES PERO LA MAYOR  
IA EN SU TRATAMIENTO REQUIEREN DE ESTAS MISMAS DROGAS.

## CONCLUSIONES

LOS HONGOS SON MICROORGANISMOS QUE VARIAN EN LOS MEDIOS DE CRECIMIENTO Y QUE CASI NO REQUIEREN DE MUCHOS CUIDADOS PARA SU EXPANSION, PUES TANTO CRECEN AL MEDIO AMBIENTE COMO EN MEDIOS DE CULTIVO ESPECIALES.

POR TAL MOTIVO ES MUY FACIL QUE LOS MEDIOS TRABAJADOS EN LABORATORIO CUANDO NO SE TIENE EL SUFICIENTE CUIDADO AL MANEJARLO PUEDEN SER CONTAMINADOS COMO ESTOS MICROORGANISMO QUE SON TAN FACILES DE REPRODUCIRSE Y CONTAMINAR. TANTO A LOS MEDIOS COMO A LA PERSONA QUE LOS TRATA, SI ESTE EN SU TRABAJO NO UTILIZA LOS MEDIOS DE PRECAUSION ADECUADOS.

LOS HONGOS TIENEN UN CAMPO CORTO REFERENTE A SU TRATAMIENTO EN DROGAS, PUES NO TIENE UN GRAN ABASTECIMIENTO REFERENTE A LAS MEDICINAS QUE LAS PUEDEN COMBATIR.

- - -

## BIBLIOGRAFIA

LIBRO.- MICROBIOLOGIA.

AUTOR.- M.J. PELCZAR Y R.D. REID.

CAPITULO.- 1-2-3-4 .

EDITORIAL.- MC, GRAW-HILL.

EDICION.- SEGUNDA EDICION EN INGLES.

AÑO.- 1979.

LIBRO.- INTRODUCCION A LA MICOLOGIA.

AUTOR.- CONSTANTINE JOHN ALEXOPOULOS.

CAPITULO.- 1-2.

EDITORIAL.- MANUALES ARGENTINOS.

EDICION.- .....

AÑO.- .....

LIBRO.- ELEMENTOS DE MICROBIOLOGIA GENERAL.

AUTOR.- HAWKER, LINTON, FOLKES, CARLILE.

CAPITULO.- 2-8-9-11.

EDITORIAL.- ACRIBIA.

EDICION.- PRIMERA.

AÑO.- 1964.

LIBRO.- METODO DE LABORATORIO.

AUTOR.- LYNCH, RAPHAEL, MELLOR, SPARE, INWOOD.

CAPITULO.- 36-44-46.

EDITORIAL.- INTERAMERICANA.

EDICION.- SEGUNDA.

AÑO.- 1972.

LIBRO.- TRATADO DE MICROBIOLOGIA.  
AUTOR.- WILLIAM BORROWS.  
CAPITULOS.- 2-3-6-32.  
EDITORIAL.- INTERAMERICANA.  
EDICION.- DECIMONOVENA.  
AÑO.- 1968.

LIBRO.- MANUAL DE PRACTICA MEDICA.  
AUTOR.- MILTON, SHELDON, HENRRY.  
CAPITULO.- 18.  
EDITORIAL.- EL MANUAL MODERNO.  
EDICION.- PRIMERA.  
AÑO.- 1969.

UNIVERSIDAD AUTONOMA

DE

QUERETARO

GRADO "B"

Jorge Carlos Hernández y de Diego Q.F.B.

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

SEMINARIO

DE

MICOLOGIA MEDICA

TRABAJO

2

TEMA

CANDIDA ALBICANS ✓

PROFESOR

Q.F.B. JORGE C. H. DE DIEGO.

ALUMNA

YOLANDA ESTHELA MARTINEZ  
Y VALDEZ ✓

FECHA

24 DE ABRIL DE 1980

## GENERALIDADES

**LEVADURAS.**- Entre Mohos y Levaduras no hay una distinción patente, Se han definido las levaduras como hongos cuya forma corriente y dominante de crecimiento es unicelular.

**MORFOLOGIA.**- Las células de las levaduras son esféricas, elípticas, y cilíndricas, su tamaño varía notablemente

El protoplasma de una célula de levadura está incluido en una pared celular y por una membrana citoplásmica y contiene un núcleo, una gran vacuola y numerosos gránulos y glóbulos de grasa. No se encuentran flagelos u otros órganos de locomoción, Los estudios recientes con microscopio electrónico indican que la pared celular está compuesta por una membrana externa densa de aproximadamente 0.05 micras de espesor, y una capa menos densa de más ó menos 0.2 micras.

La parte interna de la pared a su vez se subdivide en tres capas: La pared celular está integrada por polímero de glucosa y manosa, con cantidades pequeñas de proteínas, lípidos, y quitina.

El núcleo es menor de una micra de diámetro, prácticamente no se conoce su estructura interna, El protoplasma de las células jóvenes en crecimiento prácticamente carece de gránulos y glóbulos de sustancias de reserva, pero ulteriormente, al terminar el crecimiento se acumulan gran número

-- ro de ellos. Los glóbulos de grasa se unen poco a poco - y pueden formar un gran glóbulo. Los gránulos de carbohidrato principalmente de glucógeno, aparecen en levadura al igual que en hongos más complejos. En el protoplasma de las levaduras se han observado también gránulos finos de proteína la gran vacuola paranuclear contiene una solución o suspensión de de volutina, que también se encuentra en hongos superiores y en bacterias. La volutina es un material complejo que incluye RNA, polifosfatos (polímeros de fosfatos) y proteínas, puede faltar en cultivos muy recientes, y abunda en cultivos antiguos y desaparece durante la formación de esporas.

**REPRODUCCION.- GEMACION,-** Las levaduras se multiplican en forma característica por gemación, aunque algunos microorganismos clasificados como levaduras se multiplican por otras formas. La gemación es el fenómeno asexual y aparece en la pared celular una pequeña prominencia y poco a poco aumenta de tamaño. El citoplasma de la célula madre e hija es continuo durante cierto tiempo, pero por último se cierra el orificio entre las dos, y se forma de esta manera una pared transversal doble, por la que las dos células son fisiológicamente independientes y pueden separarse, En el sitio de la separación aparece una cicatriz convexa de la yema en la célula madre, y la célula hija conserva una cicatriz-

-- cóncava correspondiente. Quizá el división antecede o --  
acompaña al desarrollo de la yema. Las células hijas no se-  
separan inmediatamente muchas veces y pueden permanecer uni-  
das en tanto se forman una o más yemas adicionales en la cé-  
lula madre. Además las células en sí pueden experimentar ge-  
mación antes de separarse. El resultado es una masa pseudomi-  
célica compuesta incluso por 64 células unidas.

**FISION BINARIA,**- Es otra forma de reproducción ase-  
xual que aparece en algunos géneros de levadura, Este fenó-  
meno es semejante al que ocurre en bacterias y consiste en -  
alargamiento de la célula, al que sigue formación de un ta-  
bique transversal y separación de las dos células.

**REPRODUCCION.- SEXUAL.-** La reproducción sexual de-  
algunas levaduras se asocia con la formación de ascosporas,  
por lo menos se conocen dos maneras de formación de esporas

En la primera se unen células vegetativas de leva-  
dura y núcleos de la colonia, después de ello hay división-  
nuclear que se repite una o dos veces hasta que se forma va-  
rias porciones de núcleo, Materiales protoplásmaticos esen-  
ciales rodean a cada núcleo, y aparecen las paredes de las -  
esporas (ascosporas). Las esporas pueden permanecer en el -  
asco en donde se desarrollan, La gemación ulterior se hace -  
por división y formación de las células vegetativas corrien-  
tes.

Otro método de formación de esporas se inicia con división nuclear en una célula o asco y formación de cuatro esporas, cada una de las que contienen la mitad del número corriente de cromosomas, Estas esporas se unen directamente por paredes o bien, germinan, experimentan gemación y después de ello se unen. Las células producidas incluyen el número corriente de cromosomas, y se pueden multiplicar vegetativamente por gemación en tanto que el medio externo facilita la esporulación.

Las levaduras se dividen naturalmente en dos grupos, con base en su forma de reproducción, Un grupo se reproduce por gemación y formación de esporas, El otro se reproduce solamente por gemación, El grupo esporógeno se clasifica con los ascomicetos y pueden representar una forma primitiva de esta clase, Las levaduras que se reproducen por gemación solamente, se incluyen en la clase de hongos imperfectos, dado que carecen de fase sexual.

La *Candida Albicans*, Es normalmente una levadura que produce nuevas células por gemación, Sin embargo, los cultivos viejos dan lugar a filamentos y se conocen mutantes completamente filamentosos. La producción de la forma filamentosa se debe al mantenimiento de un coeficiente de crecimiento normal acompañado por la incapacidad de producirse la división celular. La investigación de los modos por los que se pueden bloquear la división celular, ha proporcionado información sobre el mecanismo de ésta.

En las membranas celulares tanto en las formas normales como de las mutantes filamentosas de *Candida Albicans* hay un complejo proteína-manana. No obstante la forma normal de *Candida albicans* tiene una proteína-disulfuroreductasa - capaz de reducir los grupos -S-S- de las proteínas de la membrana celular a grupos -SH; el mutante carece de esta enzima, Se cree que la ruptura de los enlaces disulfuro da a la membrana celular una mayor plasticidad, que hace posible la división. Hay pruebas de que la enzima en cuestión es una metalo-flavoproteína, que en el mutante está reemplazada por una flavoproteína inactiva,.

La incapacidad para la división celular en los cultivos viejos se debe a la escasez de glucosa de la que resulta la falta de  $DPNH_2$  que se necesita para la reducción de los grupos -S-S- .

LA Candidiasis, es una de las micosis más frecuentemente observadas. El organismo *Candida Albicans*, causa de la mayor parte de los procesos infecciosos, es endógena en el hombre, forma parte de la flora normal de la cavidad bucal, intestino grueso y, probablemente de la vagina. En circunstancias ordinarias queda inhibido por las defensas corporales normales y otros elementos de la flora normal. Si este mecanismo se modifica (equilibrio) por debilitación de defensas, dosis excesiva de antibióticos o cambios fisiológicos locales, el microorganismo empieza a proliferar rápidamente

--- nte y establece una infección.

El organismo muestra un tipo de dimorfismo relacionado con la nutrición. En condiciones de crecimiento favorable y en presencia de carbohidrato fermentable crece como una levadura por gemación. En medios sin carbohidratos fermentable y en condiciones semianaerobias, o cuando el contenido de nitrógeno es elevado, la levadura se alarga formando un pseudomicelio, y un micelio acompañado de la producción de blastosporas, y clamidosporas. Cuando la *Candida Albicans* se mezcla con albúmina de huevo o suero y se incubaba a 37° C las células de levadura muestran un micelio neto.

## C A N D I D I A S I S

SINONIMIA.- Las mas comunes son;

- 1.- Moniliasis.
- 2.- Muguet.
- 3.- Candidiasis Bucal.
- 4.- Algodoncillo.
- 5.- Vulvovaginitis Micótica.
- 6.- Broncomicosis.

Existen otros nombres como:

- 1.- *Oidium Albicans*. Robin, 1853.
- 2.- *Monilia Albicans*. Zopf, 1890.
- 3.- *Endomyces Albicans*. Vuillemin, 1898.
- 4.- *Monilia pinoyi*. Castellani y Chalmers

5.- Monilia Psilosis. Ashfod, 1917.

6.- Parasaccharomyces Ashfordi. Anderson,  
1917.

**DEFINICION.-** La candidiasis causada por especies - de Candida, generalmente Candida Albicans, es una infección aguda o subaguda en la cual el hongo puede producir lesiones en boca, vagina, piel, uñas, bronquios, o pulmones y, ocasionalmente septicemia, endocarditis, o meningitis.

**DISTRIBUCION GEOGRAFICA.-** Se ha informado de casos de candidiasis en todas partes del mundo, pero el hongo puede encontrarse con tal frecuencia en individuos sanos.

**FUENTES DE INFECCION.-** Se pueden aislar cepas de - C, Albicans patógenas en; 1.- piel normal, 2.- mucosas bucal 3.- vaginal normal. 4.- en la materia fecal de individuos - sanos, por lo que salta a la vista que la mayor parte de infecciones tienen origen endógeno, y la determinación de la fuente de infección constituye problema, En ocasiones las - infecciones son contagiosas y en ocasiones circunstanciales ocurren auténticas epidemias.

La presencia de candida en el individuo normal explica la diseminación durante enfermedades debilitantes, padecimientos malignos del sistema hematopoyético, diabetes - sacarina, Lupus eritematoso, y enfermedades granulomatosas.

Ocurre candidiasis en todas las edades y razas, y - en ambos sexos, habiéndose reconocido ciertos factores pre-

--- disponentes. El Muguët, se observa con mas frecuencia - en lactantes cuyas madres padecen candidiasis vaginal, y en sujetos ancianos con enfermedades consuntivas, como tuberculosis y cáncer.

Se han encontrado lesiones en lengua y labios sobre todo en pacientes con dentadura mal puesta, y es bien sabido que el embarazo y la diabetes predispone a vaginitis - por candida albicans. Los antibióticos de amplio espectro - corticosteroides, y drogas citotóxicas predisponen a infecciones por C. albicans y otras especies de candida.

SINTOMATOLOGIA,- Los cuadros clínicos de las infecciones por C. albicans son tan variados según la localización del proceso infeccioso.

CANDIDIASIS DE LAS MUCOSAS. - La infección bucal - por C. albicans, da origen a típicas manchas blancas cremosas de muguët, pueden verse estas lesiones en forma de pequeñas o grandes placas únicas o múltiples diseminadas por la mucosa a la cual se adhieren. Cuando se arrancan dichas placas dejan al descubierto una base húmeda roja y brillante.

Las boqueras, se caracterizan por la aparición de grietas o fisuras en las comisuras de la boca, se trata de lesiones maceradas, fisuras y erosionadas con una base eritematosa y húmeda. Constituye factor predisponente la carencia de riboflavina, la cual propicia la proliferación de C.

---- Albicans, residente normal de la boca.

La Vulvovaginitis es frecuente en diabetes y durante el embarazo. en pacientes diabéticos la infección parece hallarse relacionada con las grandes cantidades de azúcar - existente en sangre y orina, en el embarazo se considera como factor predisponente el exceso de productos de tipo glucógeno en el epitelio vaginal. Las lesiones parecen una dermatitis eccematoide simple, o pueden presentar pústulas vesiculosas excoriadas, y en casos raros ulceración.

~~CANDIDIASIS CUTÁNEA.- Se describen tres tipos clínicos de infección, 1.- Lesiones localizadas. 2.- Lesiones generalizadas. 3.- Candídiles.~~

Se observa a menudo esta enfermedad en diabéticos y en individuos cuya ocupación obligan a la sumersión frecuente en agua, destacan como factores predisponentes adicionales la obesidad, alcoholismo, estasis vascular, y sudación profusa.

ONIQIA Y PARONIQIA.- Son las manifestaciones localizadas más frecuentemente de la candidiasis cutánea, y se caracteriza por dolor y tumefacciones rojizas, que a menudo parecen lesiones piógenas pero que no contienen pus.

La candidiasis cutánea generalizada es mas resistente al tratamiento, las lesiones asientan sobre la piel sin pelo, y suelen asociarse con glositis, estomatitis, paroniquia, u otros tipos de infecciones localizadas.

Esta infección radica casi siempre en las zonas --  
inframamarias, ombligo, y pliegues glúteos, y pueden adquirir  
tipo eccematoide o cubrirse de vesículas o pústulas. Se en-  
cuentran a menudo este tipo de infección en niños prematuro  
s cuyas madres padecen candidiasis vaginal.

**CANDIDIASIS BRONCOPULMONAR.**— La candidiasis bronqu  
ial es frecuente y se observa un tipo particular de esta in-  
fección en los catadores de té de Ceilán. La tos es el sínt  
oma más característico y molesto, ya que apenas se afecta -  
el estado general del enfermo, El esputo casi siempre es in-  
coloro y mucoso y gelatinoso, contiene a menudo pequeños -  
copos grises compuestos de células fungosas en gemación y -  
de residuos celulares, En ocasiones cura la infección espon-  
táneamente pero a menudo se prolonga durante años con progr  
esión y remisiones periódicas. En candidiasis bronquial, lo  
s signos físicos corresponden a los de una bronquitis con -  
estertores húmedos de pequeñas y medianas burbujas en las -  
bases pulmonares . En la radiografías de pacientes con can-  
didiasis bronquial, suele observarse tan solo un tipo no es-  
pecífico de engrosamiento peribronquial. Se identifica a ve-  
ces una imagen difusa peculiar de fibrosis lineal.

**CANDIDIASIS PULMONAR.**— Esta variedad de candidiasi  
s no es tan frecuente como la forma bronquial, pero sí más-  
grave, En estos enfermos se eleva moderadamente la temperat

----

--- ura y el pulso, el dolor pleural es frecuente y ocasional el derrame pleurítico. La tos atormenta al enfermo, el cual expulsa esputo mucosoide, gelatinoso y a veces con estri- as de sangre, el esputo purulento indica con frecuencia infección secundaria por cocos piógenos. En las infecciones más graves los signos físicos corresponden a los de una neumonía lobar, .

Es probable que muchas de las lesiones de candidiasis pulmonar curen espontánea y completamente, pero en otros casos la recuperación no es completa y puede surgir un cuadro clínico de tipo bronquial crónico . Puede sobrevenir la muerte en caso de invasión de dos o más lóbulos por un proceso neumónico denso. Las sombras radiográficas en candidiasis pulmonar varían en tamaño y forma, y se parecen a las observadas en bronconeumonía.

Poseen interés muy especial los informes relativos a la aparición de boqueras (perlèche), muguet, y candidiasis bucofaríngea, vaginal, intestinal, broncopulmonar, y generalizada después de terapéutica intensiva de otras infecciones con aureomicina, terramicina, cloramfenicol, y en ocasiones penisilina, .

EXAMEN DE LABORATORIO.- No suele observarse leucocitosis y la velocidad de sedimentación es normal, o tan solo ligeramente aumentada en candidiasis bronquial, Existe casi siempre cutirreacción positiva a vacunas de *C. albicans*

--- pero rara vez hay aglutininas en la sangre. Suele comprobarse aumento de leucocitos neutrófilos en las formas más graves de candidiasis pulmonar, con elevación de las cifras de eritrosedimentación. Las pruebas cutáneas con vacunas de *C. albicans*, rara vez dan una reacción tan intensa como la obtenida en pacientes con infección de tipo bronquial. En infecciones muy difusas las pruebas cutáneas pueden ser negativas. Unas veces se encuentran aglutininas en la sangre en diluciones que varían de 1:80 a 1:240, y otras veces no.

**MICOLOGIA.**- De todos los hongos aislados de fuentes humanas el grupo de los de forma de levadura ha sido el más difícil de estudiar debido a las grandes diferencias de opinión en cuanto a los criterios que deben utilizarse en la clasificación.

**EXAMEN DIRECTO.**- Las raspaduras de piel y uñas deben montarse en un portaobjetos en una gota de hidróxido de sodio o potasio al 10-20 % con aplicación de cubreobjetos y calentamiento suave de la preparación en la parte baja de la llama para aclaramiento inmediato. Procede someter a aplastamiento el esputo o las placas mucosas de la boca o vagina hasta obtener una película delgada debajo del cubreobjetos para examen en fresco. Estos materiales pueden teñirse

--- tambien por el metodo de gram . En muestras tomadas directamente de la lesión aparecen las especies de candida como célula de tipo levadura de pared delgada, pequeñas, ovales, en gemación , de 2 a 4 micras. En ocasiones se encuentran elementos miceliales y células con yema adherida a las hifas a nivel de los puntos de condricción.

CULTIVOS.- Las raspaduras o muestras tomadas con hisopo de la lesion deben cultivarse sobre agar glucosa de Sabouraud a 37° C y a temperatura ambiente, cuando se cultiva esputo o pus y otros materiales contaminados procede agregar -- cloromicetin y cicloheximina al medio para evitar la contaminación de los cultivos por bacterias y hongos saprófitos. Se manifiesta el desarrollo del microorganismo en dos o cuatro dias en forma de colonias cremosas, de tamaño medio y de aspecto mate o húmedo. Se desprende de los cultivos un olor característico a levaduras, y pueden identificarse las diferentes especies por los siguientes métodos de laboratorio:

1.- Se transplanta un cultivo puro sobre agar glucosa de Sabouraud a .

2.- Caldo de glucosa de sabouraud y se incuba a -- 37°C durante 48 horas, despues de anotar el tipo de crecimiento en la superficie, se agita el tubo para tener una suspensión con los organismos sedimentados y.

3.- Se siembra en estría en una placa de agar sangre con extracto de carne con PH de 7.4 que se incuba a 37°C

durante 10 días, se registra el tipo de colonias, y se toma una muestra de una colonia bien aislada que se trasplanta a agar glucosa de sabouraud en un tubo inclinado y se incuba a temperatura ambiente o a 37°C durante 24 ó 48 horas.

Parte del producto de crecimiento se trasplanta a un fragmento de zanahoria que se conserva a temperatura ambiente y se examina después en busca de ascos. y el resto del material se siembra en estrías.

5.- Sobre la superficie de un medio de agar --- con extracto de carne en tubo inclinado y con pH de 7.4 --- A continuación se procede al subcultivo de crecimiento en este medio durante dos o tres generaciones.

6.- Se siembra en estrías una asa sobre un cultivo en portaobjetos a base de agar y harina de maíz, que se incuba a temperatura ambiente en una cámara estéril y húmeda durante algunos días, se procede después a fijar y teñir el frotis que se examina al microscopio para identificar detalles respecto a crecimiento micelial.

7.- Se incuba después con una pipeta provista de una suspensión salina del último trasplante del hongo -- sobre agar con extracto de carne en tubo inclinado, cuatro tubos de caldo de extracto de carne que contenga solución de glucosa, sacarosa, lactosa, y maltosa, al 1% respectivamente.

INOCULACION ANIMAL.- La candida albican, es patoge  
na para los animales del laboratorio, los conejos inyectado  
s por vía intravenosa con 1 ml. de una suspensión salina --  
al 1% murieron en 4 o 5 días con una tumefacción renal acom  
pañada de gran número de pequeños abscesos blancos disemina  
dos por la corteza. Las inyecciones intracutáneas en conejo  
s producen abscesos en 48 horas, tambien la C, albicans es  
patógena para los ratones.

DIAGNOSTICO MICOLOGICO.- El hongo aparece en prepa  
raciones con hidróxido de potasio, en preparaciones frescas  
y en frotis teñidos por el método de Gram de material obte  
nido de las lesiones, en forma de pequeñas células ( 2.5-4mi  
cras) de tipo levadura, en gemación, ovales, y de pared del  
gada con elementos miceliales acompañantes o sin ellos.

Los cultivos en agar sabouraud tienen aspecto crem  
oso húmedo o de colonias mate de olor característico a leva  
dura. Como C, albicans es el miembro patógeno del género --  
casi siempre es deseable un método rápido de identificación

WELD, informó que la colonia macróscópica de C, al  
bicans, puede diferenciarse de las otras especies de candi  
da cuando crece a 37°C bajo bióxido de carbono al 10% en la  
placa de agar azul de metileno y eosina de Levine. Se siemb  
ra la placa en estrías con una suspensión diluida del culti  
vo y se examina al cabo de 18 a 24 horas con objetivo de po  
co aumento, y en estas condiciones se adbierte en las colo-

---- nias una orla micelial radiante.

La morfología microscópica de *C. albicans* es también típica cuando crece sobre agar con harina de maíz, agar con harina de maíz más polisorbato 80, crema de agar arroz más polisorbato 80, y sobre estos medios la *C. albicans*, -- produce clamidosporas que no se encuentran en otra especie.

Una prueba adicional para diferenciar *Candida albicans* de otras especies se basa en su capacidad para formar tubos germinales en tioglicolato, suero sanguíneo, líquido cefalorraquídeo, albúmina, de huevo, Los cultivos sospechosos de contener *Candida albicans* se inoculan en 0.5 ml. del material indicado a 37°C y se examina al cabo de 4 horas.

**PATOLOGIA.** -- Como *C. albicans* crece en superficie de la piel, cavidad bucal, y vagina, se demuestra su presencia por examen directo por porciones de estas estructuras -- y se identifican por cultivo, La infección es sobre todo superficial y epitelial pero a veces la invasión es más profunda.

**BIOPSIA.** -- Las biopsias de la boca revelaron en frotis teñidos con hematoxilina y eosina, una lesión granulomatosa y formación de tubérculos con células gigantes y epiteloides datos todos que llevaron al diagnóstico del bacilo de la tuberculosis.

En el caso mortal de candidiasis de la piel, cavidad bucal, y faringe, las biopsias revelaron la presencia de

--- abscesos subcutáneos con células gigantes y pseudohifas en las paredes de los abscesos y se obtienen cultivos puros a partir de dichos abscesos. Los dos casos citados indican que la reacción tisular puede consistir en inflamación tisular crónica con células gigantes o en formación de abscesos. Las áreas necróticas presentan a veces ulceración del epitelio con infiltración manifiesta de Células Redondas, En los cortes microscópicos aparecen los organismos como filamentos miceliales y blastosporas. La tinción de los cortes mediante la técnica del ácido peryódico de schiff permite identificar los elementos de los hongos.

**INMUNOLOGIA.** Gran número de investigadores han estudiado el efecto fungoso (antifungoso) del suero humano sobre el crecimiento de candida albicans, cryptococcus neoformans y otros hongos. Se comprobó que el efecto no era debido a la presencia de un bajo nivel de anticuerpos en el suero a causa de un estado de portador endógeno de algunos de estos hongos, sino a un efecto inespecífico de quelación de hierro por el suero.

**HIPERSENSIBILIDAD.** Un gran porcentaje de individuos en apariencia normal dan reacción cutánea positiva después de inyección intracutánea de vacunas o extractos de C, albicans, No deben sorprender tales hallazgos ya que es posible aislar el hongo de la piel, boca, y heces de individuos-

--- normales, aunque la cutirreacción positiva o negativa --- posee poco valor diagnóstico, y deben practicarse pruebas cutáneas en todos los pacientes con candidiasis, ya que el curso clínico y el tratamiento del paciente individual depende de parte de que sea o no hipersensible al hongo.

La fracción polisacárida procedente de especies de candida proporcionan pruebas cutáneas más exactas que la célula completa y se ha observado tipos de reacción inmediato y demorado, Es posible que un gran exceso de la fracción -- polisacárida antigénica de C, albicans pudiera arrollar el mecanismo de defensa del paciente. Se ha demostrado este fenómeno por inyección de grandes dosis de polisacáridos capsular del neumococo de tipo específico en el ratón.

**DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.** -- El diagnóstico de infección bucal, vaginal, y cutánea, por candida albicans es relativamente sencillo ya que suele verse los organismos en preparaciones frescas y pueden cultivarse sin dificultad, El examen directo es la única forma práctica de diferenciar -- candidiasis de las lesiones causadas por dermatófitos comunes y de dermatitis seborreica, dermatitis por contacto, avitaminosis, esprue, lengua geográfica y piodermia. En pacientes con candidas, el diagnóstico depende de las características clínicas de las lesiones y de la demostración de hipersensibilidad en el paciente.

El diagnóstico de candidiasis bronquial y pulmonar debe formularse con gran cautela ya que el aislamiento de *C. albicans* en el esputo, no justifica por sí mismo el diagnóstico de candidiasis. Como *Candida albicans* puede proliferar en la saliva de individuos normales, la presencia del hongo en el esputo puede ser una mera coincidencia.

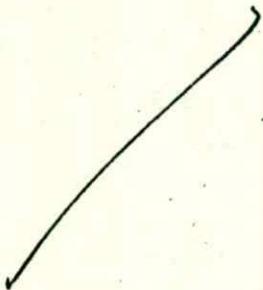
La *Candida Albicans* figura a menudo como invasor secundario de enfermedades bronquiales y pulmonares.

Nos hemos comprobado que *Candida albicans* actúa como invasor secundario en carcinoma primario del pulmón, tuberculosis pulmonar, neumonía por neumococo, asma, absceso pulmonar, e insuficiencia cardíaca congestiva.

**PRONOSTICO.**- Los tipos localizados de candidiasis bucal, vaginal, y cutánea suelen responder fácilmente al tratamiento, pero la recaída es frecuente sobre todo cuando se multiplican los factores predisponentes. Los tipos crónicos de glositis y vulvovaginitis pueden persistir durante años. Los pacientes con candidiasis cutánea generalizada o los hipersensibles con candidiasis son muy resistentes al tratamiento, y a veces no responden después de semanas de terapéutica adecuada. Los enfermos que padecen las formas pulmonares y bronquiales, de la enfermedad suelen curar aun que la candidiasis pulmonar es casi siempre mortal, .

El pronóstico en pacientes con endocarditis, menin

--- gitis o infecciones de sangre y huesos, es sumamente -  
grave, pero era desesperado antes del advenimiento de Anfotericina B , La candidiasis cutánea responde a veces al uso de lavados con permanganato de potasio, solución de violeta de genciana o pomada de mercurio amoniacal., pero los mejores resultados se obtienen con nistatina y anfotericina B.



-----o-----

## CONCLUSIONES

Como la *Candida Albicans* es miembro de la flora -- normal de las mucosas del tracto respiratorio, gastrointestinal, y genital femenino, es una levadura que esta preparada para aprovechar cualquier descuido del organismo para -- evolucionar y producir casos patógenos graves.

La desventaja con este organismo, es que no se --- cuenta con algun medicamento o tratamiento verdaderamente - efectivo para la candidiasis, pues las drogas existentes han tenido resultados en algunos enfermos, pero no en general.

Una ventaja que se puede tener es que casi siempre no son contagiosas directamente.

-----o-----

## B I B L I O G R A F I A

LIBRO.- MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA.

AUTOR.- ERNEST JAWETZ, JOSEPH L. MELNICK.

CAPITULO.- 21

EDITORIAL.- M M. ( Manual Moderno)

EDICION.- SEGUNDA EDICION.

AÑO.- 1966.

LIBRO.- ELEMENTOS DE MICROBIOLOGIA GENERAL

AUTOR.- HAWKER. LINTON. FOLKES. CARLILE.

CAPITULO.- 10

EDITORIAL.- ACRIBIA

EDICION.- PRIMERA.

AÑO.- 1964

LIBRO.- MICROBIOLOGIA

AUTOR.- M.J. PELCZAR Y R.D. REID.

CAPITULO.- 14

EDITORIAL.- MC, GRAW-HILL

EDICION.- SEGUNDA EDICION EN INGLES

AÑO.- 1979

LIBRO.- TRATADO DE MICROBIOLOGIA

AUTOR.- WILLIAM BORROWS

CAPITULO.- 32

EDITORIAL.- INTERAMERICANA

EDICION.- DECIMONOVENA

AÑO.- 1968

LIBRO.- MICOLOGIA

AUTOR.- CONANT, SMITH, BAKER, CALLAWAY.

CAPITULO.- XI

EDITORIAL.- INTERAMERICANA

EDICION - TERCERA

AÑO.- 1972

UNIVERSIDAD AUTONOMA

DE

QUERETARO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

SEMINARIO

DE

MICOLOGIA MEDICA

TRABAJO

3

TEMAS

PRACTICAS EN EL LABORATORIO

PROFESOR

Q.F.B. JORGE C. H. DE DIEGO..

ALUMNA

YOLANDA ESTHELA MARTINEZ Y VALDEZ.

# 1

## PRACTICA 1

### ORGANIZACION DE MATERIALES

MATERIA.- SEMINARIO DE MICOLOGIA

Nombre.- Yolanda Esthela Martínez

y Valdez.

N<sup>o</sup>. de Microscopio.- 741671 ó COB 5

#### OBJETIVO.-

La causa por la cual se preparan las soluciones con anticipación y los materiales que se van a necesitar es para el momento en que se este trabajando en la práctica que los requieray no se pierda tiempo y además existen prácticas donde no se pueden esperar de un paso a otro mas que minutos, por lo que sería imposible trabajar si los materiales no se preparan desde un tiempo antes.

SOLUCIONES QUE SE PREPARARON.

A).- AZUL DE ALGODON DE LACTOFENOL.

- 1.- azul de algodón..... 0.05 grs.
- 2.- Acido Láctico -..... 20 ml.
- 3.- Glicerina..... 40ml.
- 4.- Agua Destilada..... 20 ml.

Esta mezcla se calienta ligeramente en baño maría, -- para disolver los componentes sólidos, y se le añade luego 0.05 grs. de azul de algodón.

B).- HIDROXIDO DE SODIO O DE POTASIO.

- 1.- Solución de hidróxido de sodio al 15 %.

C).- TINTA CHINA NEGRA.

D).- COLORANTE DE GRAM.

1.- Solución A

- crystal violeta ..... 2 grs.  
Alcohol Etilico ..... <sup>al</sup> 95%... 20 ml.

2.- Solución B

- Oxalato de Amonio ..... 0.8 grs.  
Agua Destilada ..... 80 ml.

Mezcla la solución A y B.

E).- Alcohol Cetona.

- 1.- Alcohol 95% ..... 50 ml.
- 2.- Acetona..... 50 ml.

Solución al 50 %.

F).- SAFRANINA.

- 1.- Safranina ..... 0.25 grs.
- 2.- Alcohol 95 % ..... 10 ml.

G).- IODO DE GRAM.

- 1.- Iodo Cristalino ..... 1 grs.
- 2.- Ioduro de potasio ..... 2 grs.
- 3.- Agua Destilada ..... 300 ml.

H).- ZIEHL NEELSENS.

- 1.- Fushina Basica ..... 0.3 grs.
  - 2.- Alcohol Etílico ..... al 95% 10 ml.
  - 3.- Fenol Cristales ..... 5.0 grs.
- Agua Destilada ..... 95 ml.

El punto 3 y 4 se mezclan entre si y luego se mezclan =  
con el punto 1 y 2 las cuales tambien se han mezclado ya.

I).- ACIDO CLORHIDRICO.

- 1.- Solución de Acido Clorhidrico Q.P. .... 3 ml.
- 2.- Alcohol Etílico ..... 97 ml.

J).- AZUL DE METILENO.

- 1.- Azul de Metileno ..... 0.3 grs.
- 2.- Alcohol Etílico 95% ..... 30 ml.
- 3.- Agua destilada. .... 100 ml.

K).- VERDE MALAQUITA ..... 7.6 %

L).- MEDIO.

- 1.- Sabouraud Dextrosa, Peptona, Agar.

El hecho importante es que su PH es ajustado entre 5 y 5.5 nivel al cual es impedido el desarrollo de los microorganismos que no sean hongos.

### P R E G U N T A S

1.- QUIEN FUE GRAM.

Gram Hans Christian J. (1853 - 1938 ( Médico y Bacteriologo Danés, en 1884 descubrió la solución que lleva su nombre y sirven para dividir las bacterias que llevan las Gram positivas de las Gram negativas, por medio de la coloración.

2.- REPIERA UNA EXPLICACION DE LA TECNICA.

Es una de las técnicas de tención mas importantes y - las bacterias tratadas por el método de Gram, se dividen en dos grupos:

1.- Gram Positivas.

2.- Gram Negativas.

A).- COMO ACTUAN.- Como ya se dijo que las bacterias - tratadas por este método se clasificaban en dos grupos -- (+) (-).

Las bacterias gram positivas retienen el cristal violeta - y aparecen coloreadas con violeta intenso.

Las bacterias gram negativas que pierden el cristal violeta y se vuelven a teñir con la safranina apareciendo de color rojo.

La causa de que una bacteria aparezca coloreada de violeta y otra de rojo, parece deberse a la diferencias de la estructura química superficial.

B).- PORQUE SE TIÑEN DIFERENTES LAS GRAM POSITIVAS Y LA GRAM NEGATIVA.

Para explicar el mecanismo se han propuesto varias hipótesis fundadas en la naturaleza química de las paredes celulares de los microorganismos , Una teoría dice que las bacterias que tienen el cristal violeta o gram, (reacción-positiva) existe un complejo especial de magnesio - ácido ribonucleico proteína - hidrato de carbón, el cual forma un complejo insoluble con el colorante y el yodo.

3.-PORQUE EN CULTIVOS VIEJOS LAS GRAM POSITIVAS SE CONVIERTEN EN GRAM NEGATIVAS.

Porque las gram positivas degradan el ácido ribonuclei-

---co por la enzima ribónucleasa y destruye así el complejo que une al colorante . Los organismos gram negativos -- son constantes en su reacción y los gram positivos pueden representar respuestas variables en ciertas condiciones'.

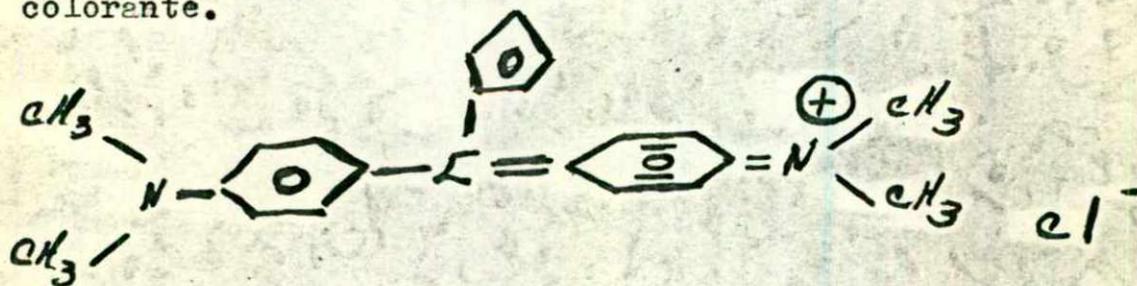
También las gram negativas tienen un elevado contenido de grasas ó elevado contenido graso en las paredes celulares y se dice que durante el tratamiento alcohólico se extraen las grasas y aumenta la porosidad ó la permeabilidad en la pared celular en los microorganismos gram negativos.

4.- PORQUE EN MICOLOGIA SE UTILIZA LA POTASA O LA SOSA PARA ESTUDIAR LA ESTRUCTURA'.

Porque puede demostrar la diferencia entre las células pues la fijación es mejor, además desbaratan los tejidos y facilitan su manejo en el laboratorio.

5.- FORMULA QUIMICA DESARROLLADA DEL VERDE MALAQUITA.

Se prepara la Leucobase con benzaldehído y n-n dimetilalanina en presencia de cloruro de zinc, como deshidratante que como por oxidación con peróxido de plomo produce el colorante.



2

PRACTICA 2

OBSERVACION DE ESPORAS

MATERIA.- SEMINARIO DE MICOLOGIA

Nombre.- Yolanda Esthela Martínez  
y Valdez.

Nº de Microscopio.- 741671 ó COB\_ 5

OBJETIVO.-

El objetivo de esta práctica es la familiarización con el manejo del cultivo micótica, pues es el principio para el estudio de los cultivos y su observación en el microscopio.

TECNICAS.-

Tinción. En un frotis fijado con hidróxido de potasio, ó con hidróxido de sodio, se pone una pequeña porción de las colonias del medio proporcionado por el profesor, y se tiñe por medio del colorante de gram, los pasos se describen a continuación:

## METODO.-

Se toma un portaobjetos y en el se pone una gota de hidróxido de sodio, la cual se le coloca una pequeña porción de muestra del cultivo, las que se toma con las agujas de disección de la parte mas crecida de la colonia y tratando de que no se rompa la muestra tomada y se pone en la gota puesta en el portaobjetos, pues se procede después a que la muestra del porta se seque y se le pueda acelerar el secado exponiendo la muestra a un mechero evitando que este se caliente de tal forma que los organismos o sus partes sufran destrucción. y por estos se recomienda que el portaobjetos no se caliente a fuego directo sino que el roce del dedo o la mano soporte el calor que se le este otorgando para que se seque, cuando el frotis este seque, se pasa al método de tinción de gram, que es colorear con cristal violeta por 5 minutos el frotis, enjuágese con agua directa, y después se le agrega iodo de gram por 1' (minuto), enjuágese con agua directamente y después se decolora con alcohol cetona por 20 " (segundos) enjuágese directamente con agua y después se tiñe con safranina por 5 minutos.

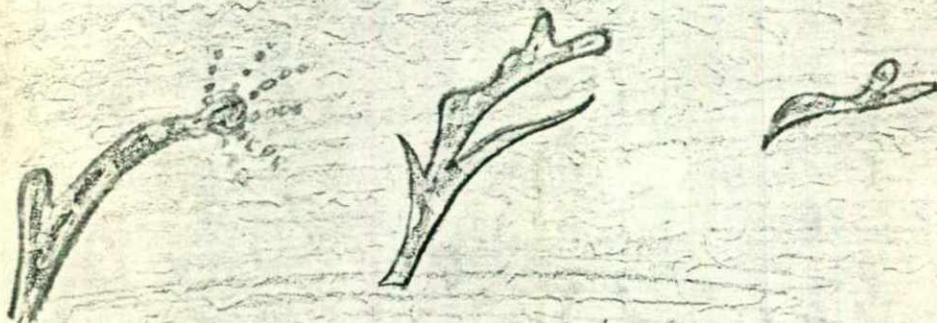
Se enjuaga con agua directamente y se deja secar, cuando el frotis esta ya seco se observa en el microscopio con el objetivo de inmersión y en el portaobjetos se le pone una gota de aceite de inmersión. Inmediatamente después se procede a la observación del frotis para tratar de encontrar cualquier tipo de estructura que sea de interés para la -

--- micología.

OBSERVACIONES.-

Las muestras tomadas son las enumeradas con los números ( 4,6,12. ).

Muestra n<sup>o</sup> 4.



G.- ASPERGILLUS FUMIGATUS.

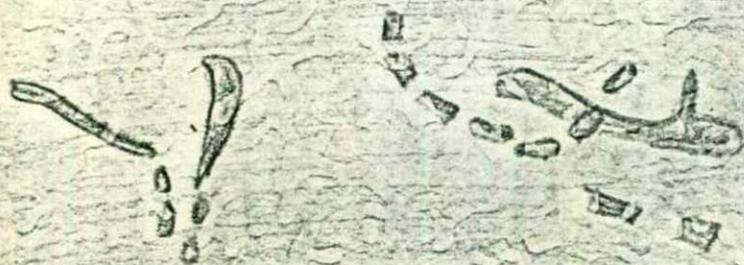
CPH.- CONIDIOFORO.

HIF.- HIFAS NO SEPTADAS.

CON.- CONIDIOS. .

FIL.- FILAMENTOS<sup>as</sup>.

Muestra n<sup>o</sup> 6.



.....

N.- COCCIDIODES IMMITIS.

ART.- ARTROSPORAS.

HIF.- HIFAS.

Las hifas que se encontraron estaban segmentadas.

Muestra n° 12. ( BLANCO ROSADA ).



E.- GEOTRICHUM CANDIDUM.

CFR.- CELULAS DE FORMA RECTANGULAR.

ART.- ARTROSPORAS.

HIF.- HIFAS.

Las hifas que se encontraron son las hifas lanceoladas.

Muestra n° 12 ( VERDE GRISACEO ).



.....

E.- GEOTRICHUM CANDIDUM.

CFR.- CELULAS EN FORMA RECTANGULAR.

HIF.- HIFAS.

Las hifas que se encontraron son las hifas lanceoladas.

Las muestras tomadas son las enumeradas con los números  
( 4 , 6 , 12. )

Muestra n<sup>o</sup> 4.- Se encontró en dicha muestra ;  
Esporas.

Levaduras gram positivas.

Muestra n<sup>o</sup> 6 .- Se encontró en dicha muestra ;  
Flora Coccoide gram positiva y negativa.

Muestra n<sup>o</sup> 12 Albina. Se encontró en dicha muestra;  
Hifas No septadas.  
Esporas Lanceoladas.

Muestra n<sup>o</sup> 12 Verde Crisacea. Se encontró en dicha muestra  
Esporas Lanceoladas.  
Hifas septadas y no septadas.  
Rompimiento en Artrosporas.

B I B L I O G R A F I A

1.- LIBRO.- DICCIONARIO HISPANO UNIVERSAL

TOMO.- PRIMERO.

EDITORES.- W. M. JACKSON, INC.

2.- LIBRO.- MICROBIOLOGIA.

AUTOR.- M. J. PELCZAR y R. D. REID

EDICION.- SEGUNDA EDICION EN INGLES.

AÑO.- 1979.

EDITORIAL.- MCGRAW- HILL.

3.- LIBRO.- METODOS DE LABORATORIO.

AUTOR.- LYNCH, RAPHAEL, MELLOR, SPARE, INWOOD.

EDICION.- SEGUNDA.

AÑO.- 1969.

EDITORIAL.- INTERAMERICANA.

3

PRACTICA 3

ACTINOMICETOS

Materia.- SEMINARIO DE MICOLOGIA

Nombre.- Yolanda Esthela Martínez  
y Valdez.

Nº. de Microscopio.- 741671 ó OOB-5

OBJETIVO.-

La realización de un faringeocultivo es con el fin de ver si se pueden obtener miembros del género actinomicetos de su hábit normal.

TECNICA.-

SE le tomó la muestra a un paciente con dos hisopos estériles tratando de tomarla de los dos lados de la garganta para tratar de traer algún microorganismo.

Después de tomada la muestra esta se sembró en dos cajas de petri, en forma de estria fue dicha siembra, una de-

---- las cajas que fuerqn sembradas eran del medio Sabouraud y las otras de agar sangre. despúés dichas cajas se ponen a incubar a 37°C durante 48 horas para su desarrollo, cuando trascurre el tiempo las cajas se observan para ver si existen el crecimiento, tomando una muestra de la caja pasándola a un cubre objetos y tiéndola por el método de gram.

#### RESULTADOS:

Del exudado faringeo que nosotros sembramos en Agar - sangre y Sabouraud que se incubó por 48 horas en medio anaerobio se observo;

Medio de Sabouraud.

Cocos Gram Positivos.

Bacilos Gram Positivos.

Levaduras.

Medio de Agar Sangre.

Flora cocoide gram positiva.

La muestra n<sup>o</sup> 2 del medio de Sabouraud.

Esporas deformadas.

Hifas segmentandose.

Medio de Agar Sangre.

Flora Cocoide gram positiva.

Los tipos de colonias que crecieron en las cajas de -  
petri fueron:

Las colonias desarrolladas en Sabouraud fueron;

pequeñas.

Blanquesinas.

cremosas.

redondas.

Las colonias desarrolladas en Agar Sangre fueron;

Crecimiento masivo.

Algodonoso.

Blanquesino.

..... 0 .....

## P R E G U N T A S

### 1.- GENERALIDADES DE ACTINOMICETOS.

Los Actinomicetos todos muestran algún grado de forma micelial y de ramificación -- pareciéndose en estas características a los hongos, en algunos de ellos el micelio no está bien desarrollado y en otros -- se desintegra con facilidad en fragmentos bacilares, pero en las especies más complicadas el micelio es estable como en la mayoría de los hongos. Sin embargo la semejanza con los -- hongos es solamente superficial, el pequeño diámetro de los -- filamentos, la apariencia homogénea del citoplasma y la -- ausencia de un núcleo discreto fácilmente demostrable lleva a los taxonomistas a incluir a los actinomicetos entre las -- bacterias mejor que entre los hongos ó como un grupo inter-- medio. El grupo se caracteriza además por ser sus formas -- gram positivas y completamente inmóviles.

Desde hace mucho tiempo se sabe que los actinomicetos producen sustancias inhibitorias de otros microorganismos -- algunas de ellas son las Estreptomycinas, cloranfenicol, etc que son antibioticos bien conocidos que utilizan en medicina

La mayor parte de los actinomicetos son saprofitos son comunes en el suelo hallándose tanto en la superficie como en niveles más profundos, Los cultivos jóvenes son micelio

----- Micelicos y se componen de unos filamentos no tabica--  
dos mas o menos ramificados. Los cultivos mas viejos se compo  
ñen ó sea se fragmentan en piezas bacilares o cocoides que  
se reproducen despues por escisión binaria, pero el estadio  
en que tienen lugar la fragmentación, así como el alcance de  
ésta varia con la especie.

## 2.- DEFINICION DE MICROORGANISMOS ANAEROBIOS.

Los microorga-  
nismos Anaerobios son los que crecen en ausencia de oxígeno  
molecular.

Existe otro tipo de organismos Anaerobios que son los --  
Anaerobios facultativos y son los organismos que pueden ---  
crecer en condiciones aerobias y anaerobias propiamente dicho

Los microorganismos Aerobios son los que requieren del -  
oxígeno libre.

### A).- MODO DE CULTIVO.- CAMARA DE BREWER.

Técnicas para el cultivo de las  
bacterias Anaerobias.

#### A).- MEDIO LIQUIDO DE TIOLICOLATO,

El medio contiene un compuesto reductor Tioglicolato sód  
ico que consume el oxígeno estableciendo condiciones anaero  
bias. El medio se siembra e incuba en la misma forma que un  
medio para el cultivo de aerobios.

B).- CUBIERTA DE BREWER, PARA PLACA  
DE PETRI ANAEROBIA. En la pieza inferior de una placa de pe-

---- tri corriente se vierte un medio de agar "anaerobio" al glicolato, fundido. Después de la solidificación se siembra en la parte central de la placa y se cubre con la tapa de brewer. el tioglicolato consume el oxígeno en el pequeño espacio de aire estableciendo condiciones anaerobias.

C).- VASIJA ANAEROBIA DE BREWER.- /

Esta provista de una cubierta especial que lleva un elemento de calefacción rodeado de un catalizador platinado. Se reemplaza el aire con hidrógeno o gas de alumbrado. Al calentarse el elemento en que va fijo el catalizador, se activa éste y hace que el oxígeno presente se combine con el hidrógeno para formar agua, ó agua y dióxido de carbono en el caso del gas de alumbrado. eliminando así el oxígeno que puede quedar en el interior y estableciendo las condiciones -- anaerobias.

D).- METODO DE EVACUACION FISICA Y  
REEMPLAZAMIENTO.-

Se evadua el aire del recipiente con una bomba. se insufla nitrógeno varias veces y finalmente se llena de nitrógeno o una mezcla de nitrógeno y dióxido de carbóno. El manómetro sirve para medir el gas desalojado y reemplazado.

3.- DIFERENCIA ENTRE UN ACTINOMICETO Y UN BACILO TUBERCULOSO

Su estructura celular. ?

4.- DONDE PODEMOS ENCONTRAR MIEMBROS DEL GENERO ACTINOMISIS  
EN EL HOMBRE.

Se pueden encontrar en la garganta , en los pulmones  
en la boca, y existe una forma abdominal que se inicia en  
la apéndice y semeja una apendicitis crónica.

# 3

## PRACTICA 3

### ACTINOMICETOS

( segunda parte )

#### OBJETIVO.-

Identificación de actinomicetales como bacilos alcohol ácido resistentes mediante su coloración con el método de Ziehl Neelsen.

#### TECNICA.-

Para la coloración de contraste algunos quieren solución acuosa al 0.5% de verde brillante ó una solución saturada de ácido pícrico, este último es pálido y no tiñe selectivamente las paredes celulares.

- a).- Preparar una extensión de espesor adecuado secar y fijar.
- b).- Colocar sobre el extendido y una tira de papel filtro ligeramente menor que el porta objetos.
- c).- Bañar el porta objetos con el colorante de carbol fucsina, y calentar hasta que desprenda vapores, con un mechero de bunsen de llama reducida ó en un plato caliente, no deje hervir y no permite que se seque.

d).- Deje reposar 5' sin calentar mas retirar el papel y lavar con agua caliente.

e).- Decolorar con alcohol ácido hasta tener un color rosa pálido agitando continuamente el porta objetos hasta que no aparezca mas coloración en el enjuage, ( 1' mas ó - menos) para los extendidos de espesor promedio, Es esencial la perfecta decoloración para evitar la posibilidad de un resultado falso positivo .

f).- Lavar con agua dejar secar al aire y examine con lente de inmersión en aceite.

#### OBSERVACIONES.-

Al teñir por el método de ziehl Neelsen - un frotis tomado de las colonias sembradas en las cajas de petri con agar sangre no se observaron bacilos alcohol ácido resistentes.

Del medio de Lowenstein en donde si se encontró algo de desarrollo el frotis que se elaboró también se tiño por el medio de Ziehl Neelsen y al observarse en el microscopio el resultado fue la observación de los bacilos alcohol ácido resistentes .

#### 2).- COMO SE PREPARA EL MEDIO DE LOWENSTEIN.

Es un medio completo que contiene varios fosfatos minerales, sulfatos, y citratos, así como glicol, almidón , y

-- huevo.

Además contiene el verde malaquita al 1% que actúa como -  
inhibidor de los microorganismos que no sean Mycobacteria-  
ceas. en tanto que se necesita complicados substratos para  
el desarrollo de estos microorganismos.

#### BIOQUIMICA DE LOS DIFERENTES ACTINOMICETOS.

##### ACTINOMYCES ISRAELI.

- 1.- No hidroliza el almidón.
- 2.- Nitrato reducido a nitrito.
- 3.- Catalaza negativo.
- 4.- Produce ácido pero no gas en glucosa, xilosa, manosa.
- 5.- En manitol no produce ácido.
- 6.- No licua la gelatina.

##### ACTINOMYCES BOVIS.

- 1.- Catalaza negativa.
- 2.- Produce ácido pero no gas en glucosa, .
- 3.- No produce ácido en xilosa, manitol, manosa, rafinosa.
- 4.- Hidroliza fuertemente a el almidón.
- 5.- No licua la gelatina.
- 6.- "o reduce el nitrato a nitrito.

##### ACTINOMYCES NAESLUNDI.

- 1.- Catalaza negativa.
- 2.- Produce ácido pero no gas en glucosa, rafinosa, manosa  
no ácido en xilosa, y manitol.

- 3.- No hidroliza el almidón
- 4.- Reduce el nitrato a nitrito.
- 5.- No licua la gelatina.

ACTINOMYCES PROPIONICUS.

- 1.- Catalaza negativa.
- 2.- No hidroliza el almidón.
- 3.- Produce ácido pero no gas en glucosa, manitol, rafinosa, manosa, y es variable en xilosa.
- 4.- Reduce el nitrato a nitrito.
- 5.- No licua la gelatina.

ACTINOMYCES ERIKSONI.

- 1.- Catalaza negativa.
- 2.- Reduce ácido pero no gas en glucosa, xilosa, manitol, rafinosa, manosa.
- 3.- Hidroliza el almidón fuertemente.
- 4.- No reduce el nitrato a nitrito.
- 5.- No licua la gelatina.

..... 0 .....

4

PRACTICA 4

LEVADURAS

Materia.- SEMINARIO DE MICOLOGIA

Nombre.- Yolanda Esthela Martínez  
Y Valdez.

Nº.- de Microscopio.- 741671 o'COB-5

OBJETIVO.- Aislamiento e identificación de levaduras a partir de a).- Exudado vaginal ( por ser patogeno y el más común que llega al laboratorio de análisis clínicos)  
b).- Tratar de aislar Criptococo a partir de heces de pichón por ser el medio más frecuente de contaminación  
c).- Diferenciación entre Criptococos y Cándida albicans.

TECNICA.-

1.-A partir de la muestra entregada realizar;  
a).- Estudio en fresco ,reportar Células, leucocitos, -- levaduras, y trichomonas vag.

b).- Frotis directo por gram. en busca principalmente de levaduras.

c).- Cultivo bacteriológico . sembrar en los medios proporcionados los especímenes por estrias en cuatro fases para lograr el mejor aislamiento.

d).- Incubar a 37°C

e).- Identificar las levaduras por método de gram.

2.- De la suspensión de heces proporcionada ;

a).- Sembrar un 1cc. y agregar por decantación medio de nickeyson. (caja petri) . Sembrar por estria en cuatro fases la muestra proporcionada.

3.- Diferenciación de criptococo y candida albicans por tinción de su pared celular.

## OBSERVACIONES

MUESTRA N°.- 10 (tubo n° 10)

FRESCO.- Se observó en el fresco del exudado vaginal:

Cristales de Oxalato de calcio. ESCASOS.

BACTERIAS. MUY ABUNDANTES.

Celulas Epiteliales. ESCASAS.

Leucocitos. NINGUNO.

Trichomonas. NINGUNA.

TINCION POR GRAM. Se observó en el portaobjetos teñido por el método de gram de la muestra del exudado vaginal.

Flora cocoide basilar gram negativos.

Cadenas de bacilos gram negativos.

Esporas lanceoladas. ABUNDANTES.

Celulas epiteliales.

## P R E G U N T A S

### 1.- GENERALIDADES DE LEVADURAS.-

Las levaduras estan muy difundidas en la naturaleza se encuentran en las frutas, los granos, y otras materias nutritivas, de las que contienen - azúcar,. Las levaduras no contienen clorofila y por consiguiente depende de las plantas superiores y de los animales para obtener su energía la cual pueden conseguir por desasimilación oxidante aerobia ó por fermentación anaerobia. algunas son saprofitas(ó sea que viven sobre materia orgánica muerta) y otras son parásitas( que viven a espensas de otros seres vivos).

Las levaduras son por lo general organismos monocelulares y se presentan en forma muy variada desde las esféricas, ovo;

--- de, y elipsoidales, a las cilíndricas, que pueden ser

muy alargadas y aún filamentosas. Su estructura interna es compleja y se reproducen vegetativamente por gemación ó por fisión y sexualmente por reproducción de esporas. Las células que contienen las esporas sexuales y protoplasma se denominan asca, y las esporas contienen en el asca las ascosporas

En algunas especies que son normalmente monocelulares -- después de la gemación permanecen unidas gran número de células formando un pseudomicelio, y en otros casos se forman verdaderos micelios por fisión.

## 2.- COMO DEBE REALIZARSE UNA TOMA DE MUESTRA PARA CULTIVO DE SECRESION VAGINAL .

Se deben de tomar por la mañana de preferencia sin tener aseo vaginal se debe de recostar al paciente en una plancha de expulsión y ponerle ambas piernas en los sostenes. después se debe de abrir las piernas para dejar el campo -- para la toma de la muestra, el Químico deberá ponerse guantes antes de tomar dicha muestra y de preferencia tapa bocas, a la paciente se le introducirá en la vagina un espejo de laboratorio, que tiene la forma de pico de pato, este se deberá introducir de lado y ya en el interior deberá voltearse para luego abrirse dicho pico y poder observar el campo de donde posteriormente se deberá tomar la muestra.

## 3.- DIFERENCIA ENTRE UN CRIPTOCOCO Y CANDIDA ALBICANS.

CANDIDA ALBICANS .- Es un hongo levaduriforme oval y gemante que produce pseudomicelios tanto en los cultivos como en los tejidos y los exudados es miembro de la flora normal de las mucosas de los tractos respiratorios, gastro intestinales y genital femenino .

CRIPTOCOCCUS NEOFORMANS. - Es un hongo levaduriforme y gemante, caracterizado por una cápsula de gran tamaño en el cultivo como en los exudados. es un microorganismo que lleva vida libre en el suelo y en las heces de los pichones .En el hombre la infección pulmonar primaria es ocasionalmente seguida de meningitis.

a).- ENFERMEDADES CAUSADAS POR CADA UNO.

Criptococcus.- CRIPTOCOCOSIS PULMONAR.

Cándida Albicans.- ALGODONCILLO ( en la boca)

VULVOVAGINITIS ( genital femenino)

MONILIASIS ( manos , Pulmones).

b).- DONDE LAS ENCONTRAMOS.

Criptococcus.- En las heces de pichón,

Cándida Albican.- En la flora normal del hombre

c).- A QUE CONSIDERA USTED QUE SE DEBA UNA INFECCION POR CANDIDA ALBICANS.

Las infecciones por cándida albicans son causadas por el abuso de los antibioticos de amplio espectro, en personas que padecen de deabetes por el aumento de glucosa en el organismo, y en personas embarazadas.

d).- MEDIOS ESPECIFICOS PARA EL AISLAMIENTO DE LEVADURAS CULTIVOS PUROS.- El cultivo puro en efecto, es un estado impuesto en el laboratorio. Para establecer las propiedades de los microbios en la naturaleza hay que tener presente que el medio natural es completamente diferente de las condiciones del tubo de ensayo. La intervención de los cultivos -- mixtos o poblaciones mixtas en la naturaleza ( Ecología Microbiana) se estudiará en capítulos siguientes.

Nuestro objeto, de momento, es conocer cómo se aíslan las diferentes especies en cultivo puro, de una -- mezcla de muchas especies. Para ello pueden aplicarse varias técnicas.

#### METODOS DE AISLAMIENTO DE CULTIVOS PUROS.

Cuando se lleva a cabo la técnica adecuadamente, existen zonas de la placa en las que las células bacterianas quedan lo bastante separada para que en la incubación no se mezcle la colonia procedente de una célula con la que procede de otra. Se supone, razonablemente, que cada colonia aislada está formada por la descendencia de una sola célula y es, por consiguiente un cultivo puro.

En aquellas especies que forman agrupaciones características, por ejemplo, estafilococos y estreptococos, las colonias se desarrollan de un grupo de células idénticas, y también representan un cultivo puro. Transfiriendo una porción de la colonia a un tubo con medio nutritivo, se obtiene un cultivo puro. Para comprobarlo, se identifican los caracteres microscópicos y de cultivo de las bacterias aisladas.

Las técnicas de siembra en estirios y en superficie pueden efectuarse con facilidad y con material de laboratorio muy reducido; son los procedimientos habituales o típicos para aislar las bacterias en cultivo puro. Una de sus limitaciones, no obstante, es que sobre la placa de agar no puede extenderse más que una pequeña parte de la muestra.

**TECNICA DE VERTIDO EN PLACA.**- Esta técnica se lleva a cabo según indica la técnica empleada para el aislamiento de bacterias en cultivo puro. 1.- Con un asa se transfiere de la suspensión original al tubo A ( agar nutritivo fundido, enfriado), el tubo A se hace girar entre las manos para mezclar bien el material inoculado con el medio. Se repite la operación del mismo modo de A-B y de B-C 2: El contenido de cada tubo se vierte por separado en placas Petri. 3: Después de la incubación se examinan las placas para determinar cual de ellas contiene colonias aisladas. De esta placa -- pueden obtenerse cultivos puros de bacterias transfiriendo -- un poco de una colonia a un tubo con medio esterilizado.

4

PRACTICA 4

LEVADURAS  
(segunda parte)

Materia.- SEMINARIO DE MICOLOGIA.

Nombre.- Yolanda Esthela Martínez  
y Valdez.

Nº de Microscopio.- 741671 ó COB -5

OBJETIVO.-

Tinción de cápsula para diferenciación de -  
cándida albicans de criptococos.

TECNICA.-

El método de la tinta china, la cápsula desplaza las partículas de carbono coloidal de la tinta, y aparece como un halo claro alrededor del microorganismo. el método se recomienda para poner de manifiesto las cápsulas de criptococos patógenos.

a).- Se coloca sobre un portaobjetos limpio una pequeña cantidad recogida con una asa, de la solución fisiológica y se le agrega una pequeña cantidad de crecimiento de un -

--- cultivo en agar joven, utilizando una aguja de inyecciones

b).- Mezclar bien agregar despues una pequeña cantidad de tinta china con una asa y cubrir inmediatamente con un cubreobjetos fino, dejando que el líquido se extienda para formar debajo del mismo una película delgada.

c).- Examinar inmediatamente.

Con objetivo de inmersión en aceite, reduciendo la luz bajando el condensador.

Las cápsulas si existen se observan como un halo claro - sobre un fondo obscuro.

#### OBSERVACIONES.-

DE los sembrados hechos con las heces de pichón se elaboró un frotis y se tiñó con colorante de gram y se observaron :

Levaduras Abundantes.

y siguiendo la técnica descrita se observaron:

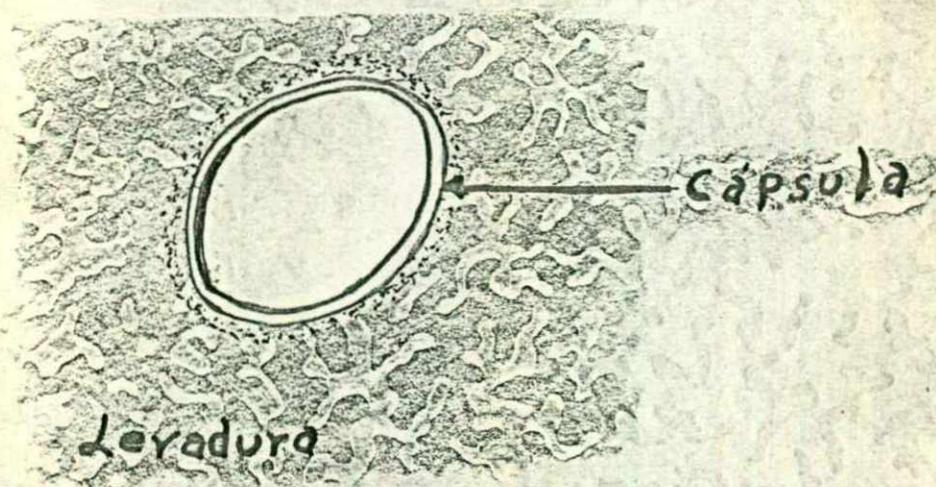
Levaduras con Cápsula.

#### CONCLUSIONES.-

Si se logró el aislamiento de las levaduras de las heces de pichón y de tal modo se puede observar la diferenciación de las membranas pues esta levadura se le observó perfectamente la cápsula que la rodea. pues al ponerla sobre un porta objetos y colocarle la tinta china, y suero fisiológico

----- gico se ve perfectamente la membrana rodeada de la cápsula.

DIBUJO.-



BIBLIOGRAFIA

LIBRO.- MICROBIOLOGIA.  
AUTOR.- M.J. PELCZAR Y R.D. REID.  
EDITORIAL.- MC. GRAW-HILL.  
EDICION.- SEGUNDA EDICION EN INGLES.  
AÑO.- 1979.

LIBRO.- ELEMENTOS DE MICROBIOLOGIA GENERAL  
AUTOR.- HAWKR, LINTON, FOLKES, CARLILE.  
EDITORIAL.- ACRIBIA.  
EDICION.- PRIMERA  
AÑO.- 1964.

LIBRO.- METODOS DE LABORATORIO.  
AUTOR.- LYNCH, RAPHAEL, MELLOR, SPARE, INWOOD  
EDITORIAL.- INTERAMERICANA.  
EDICION SEGUNDA.  
AÑO.- 1972.

LIBRO.- TRATADO DE MICROBIOLOGIA.  
AUTOR.- WILLIAM BORROWS.  
EDITORIAL.- INTERAMERICANA.  
EDICION.- DECIMONOVENA.  
AÑO.- 1968.

P R A C T I C A 5

5

Materia: SEMINARIO DE MICOLOGIA.

Profesor: Q.F.B. JORGE CARLOS

HERNANDEZ DE DIEGO.

Alumna: YOLANDA ESTHELA MARTINEZ

Y VALDEZ.

Tema: DIFERENCIACION DE CANDIDA

ALBICANS.

Nº. de Microscopio: 741671 o COB-5

DIFERENCIACION DE CANDIDA ALBICANS

OBJETIVO:

Conocer y desarrollar los principales métodos -  
para ésta diferenciación.

TECNICAS:

I.- TUBUJO GERMINAL: Para la diferenciación de -  
Cándida Albicans de otras especies se puede basar en su -  
capacidad para formar "tubos Germinales" en tioglicolato,  
suero sanguíneo, líquido cefalorraquídeo, albúmina, de huevo  
o albumina ácido oleico.

Se inculó 0.2 ml de BHI líquido con desarrollo de Cán-  
dida a suero sanguíneo, se incubó durante 4 horas.

DESARROLLAR: Un estudio en fresco para ver la presencia -  
de túbulos germinales.

Un frotis por gram, para comprobar la presencia de los-  
mismos.

## 2.- DIFERENCIACION MACROSCOPICA:

DESARROLLO: Sembrar por estrias en 4 fases el concentrado  
proporcionado en medio de Agar Sangre y Sabouraud, incubar  
48 horas y diferenciarlas de acuerdo a ltabla proporcio-  
nada.

## 3.- DIFERENCIACION POR BIOQUIMICAS:

DESARROLLO:

a).- Sembrar por estrias en el medio de Kligler  
proporcionado.

b).- Sembrar por picadura en el medio de SIM.

c).- Sembrar por inoculación el medio de Ureas

Incubar durante 48 horas y observar:

a).- Kligler Iron Agar (DIFCO) la fermentación  
de azúcares.

b).- SIM, medio (DIFCO) la producción de gas.

c).- Urea Agar Base (BBL) la fermentación de-  
la urea.

## 4.- CULTIVO EN PORTAOBJETOS:

DESARROLLO: Según la técnica desarrollada por cada una se

RESULTADOS DE CADA PASO:

FRESCO: Tubulos germinales      POSITIVO  
GRAM : Tubulos germinales      POSITIVO

BIOQUIMICA :

GLUCOSA: SI FERMENTO.  
LACTOSA: NEGATIVA.  
H<sub>2</sub>S : NEGATIVO.  
GAS : NEGATIVO.  
MOVILIDAD: POSITIVO.  
INDOL: NEGATIVO.  
SACAROSA: NEGATIVO.

Resultado de siembra de cultivo en Agar Sangre :

Colonias

de tamaño medio color gris mate.

Resultado de cultivo de siembra en caldo de Sabouraud:

Ause

ncia de crecimiento en la superficie.

Resultado de Cultivo en Portaobjetos: Levaduras, Flora Coco  
ide abundante.

Conclusión: De acuerdo a los resultados encontrados en las  
observaciones estas pertenecen a CANDIDA ALBICANS.

siembra el concentrado proporcionado para ver el desarrollo de formas, miceliales.

CUADRO COMPLEMENTARIO DE BIOQUIMICAS PROPORCIONADO

*Marcha seguida en el laboratorio*

Cuadro 1  
DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE ESPECIES DE CANDIDA \*

	Patógenas		No patógenas			<i>C. guilliermondii</i>	
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. pseudotropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>		<i>C. stellatoidea</i>
Agar de Sabouraud	Crecimiento cremoso	No característico	No característico	Plano y seco	Cremoso	Cremoso	Crecimiento cremoso
Caldo de Sabouraud	Ausencia de crecimiento en la superficie (fig. 12 A, 2)	Película estrecha superficial con burbujas (fig. 12 A, 1)	Ausencia de crecimiento en la superficie	Película superficial ancha (fig. 12 A, 3)	Ausencia de crecimiento en la superficie	Ausencia de crecimiento en la superficie	Ausencia de crecimiento en la superficie
Agar sangre	Colonias de tamaño medio y de color gris mate (fig. 11, A)	Grandes colonias grises rodeadas de una orla micelial (fig. 11, B)	Colonias pequeñas, no características Micelio mal desarrollado, sin clamidosporas	Colonias pequeñas de forma irregular, planas o amon tonadas (fig. 11, D)	Colonias pequeñas de color blanco brillante	Colonias que inician su desarrollo (fig. 11, C)	Colonias de tamaño medio de color gris mate, micelio bien desarrollado sin clamidosporas
Harina de maíz	Micelio ramificado de tipo arbóreo con clamidosporas (fig. 12, C, 13, B)	Micelio bien desarrollado, ramificado, portador de gran número de blastosporas, sin clamidosporas (fig. 12, B)		Micelio con aspecto de "bastones cruzados", sin clamidosporas (fig. 12, D)	Micelio bien desarrollado sin clamidosporas	Micelio con acúmulos de blastosporas de gran tamaño y de forma esférica	
Glucosa	Acido, gas (AG)	AG	AG	AG	AG †	AG	— †
Maltosa	AG	AG	—	—	—	AG	—
Sacarosa	Acido	AG	AG	—	—	—	—
Lactosa	—	—	AG	—	—	—	—

\* (Según Martin y col., 1937.)

† En ocasiones ácido solamente.

‡ Langeron y Guerra informan de producción de ácido y gas en glucosa y sacarosa cuando se cultiva a 25°C durante 20 días.

INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA:

I. /- COMO SE PREPARAN LOS MEDIOS UTILIZADOS

A) .- KLIGLER CON HIERRO AGAR.-

El agar de kligler con hierro se emplea para la diferenciación de los bacilos intestinales gram negativos basándose en su capacidad de fermentar la glucosa y lactosa y de liberar sulfuros.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada.

POLYPEPTONE.....	20.0
LACTOSA.....	10.0
GLUCOSA.....	1.0
CLORURO DE SODIO.....	5.0
CITRATO DE AMONIO FERRICO.....	0.5
TIOSULFATO DE SODIO.....	0.5
AGAR.....	15.0
ROJO DE FENOL.....	0.025

PH final 7.4 ± 0 -

PREPARACION .-

Se suspenden 52 gramos del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mézclese bien y caliéntese hasta disolución, agitando de cuando en cuando. Se hierve hasta su disolución completa, repártase en tubos y esterilícese a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Se deja enfriar en posición inclinada, de manera de obtener extremos prolongados .

Para mayor exactitud debe de usar el mismo día de su preparación o fundirse y solidificarse antes de usarlo.

USOS: El agar de kligler es modificación del medio de acetato de plomo. la fórmula actual da reacciones de fermentación similares al medio de Russell, junto con reacciones de sulfuros. Las colonias seleccionadas a partir con los medios con desoxicolato, azul de metileno u otras placas se inoculan en el medio de kligler en estrias en la superficie inclinada, y en piquete en la parte profunda

La fermentación de la glucosa se indica por un cambio del tope a un color amarillo (reacción ácida del rojo fenol) como suceden también en la salmonellas y shigellas.

Los bacilos coliformes generalmente atacan la lactosa y producen una reacción ácida tanto en la superficie inclinada como en el tope del tubo, El ennegrecimiento debido a la liberación de sulfuros es característica del Proteus, paratífico, tífico, y otros, no así de los bacilos desentéricos que también crecen en este medio.

#### B).- SIM MEDIUM.-

El medio Sim se emplea para la determinación de la producción de sulfuros formación de Indol y movilidad de los bacilos entericos.

FORMULA EN GRAMOS POR LITRO DE AGUA DESTILADA

TRYPTICASE .....	20.0
THIOTONE .....	6.1
SULFATO DE HIERRO Y AMONIO.....	0.2
TIOSULFATO DE SODIO.....	0.2
AGAR.....	3.5

PH final 7.3 + o -

PREPARACION: Se suspenden 30 gramos de material seco en un litro de agua destilada. Mézclese bien y cuando se obtenga la suspensión uniforme, caliéntese agitando de cuando en cuando y hiervase durante un minuto o hasta su dilución. Se distribuye y esteriliza en autoclave a 121 °C ( - 15 libras de presión) durante 15 minutos.

USOS: El medio SIM, es utilizado para la identificación habitual de bacilos entéricos. Ordinariamente se reparte en tubos de ensaye llenos hasta la mitad que se inoculan por piquete con aguja en el centro, hasta la mitad de su profundidad. Se incuban durante 18 a 24 horas o por tiempo mayor. Las reacciones de sulfuros se indican por el ennegrecimiento del medio a lo largo de la línea de incubación. Su alto contenido de Trypticase lo hace ideal para la producción de Indol. Sobre el medio se suspenden papeles con ácido oxálico (tirras de papel filtro saturadas - saturadas de ácido oxálico y secas.) que se vuelven color

de rosa durante el crecimiento de organismos capaces de -  
originar Indol. Después del período de incubación se pue-  
den realizar algunas otras pruebas corrientes.

La movilidad se evidencia por el crecimiento lejos de  
la línea de inoculación. Greene y sus colaboradores empl  
p/ earon 1 o 2 ml. del medio SIM en tubos de 75 x 100ml.  
comprobando la movilidad después de incubar durante 90 a-  
120 minutos.

C).- UREA AGAR BASE.-

La base de agar con urea se utiliza  
para preparar un medio sólido para la diferenciación de -  
microorganismos, especialmente bacilos entéricos a base -  
de la actividad de la ureasa.

FORMULA EN GRAMOS POR LITRO DE AGUA DESTILADA.

GELYSATE. ....	1.0
GLUCOSA.....	1.0
CLORURO DE SODIO.....	5.0
POSFATO MONOPOTASICO.....	2.0
UREA.....	20.0
ROJO FENOL.....	0.012

PH final 6.8 + o -

PREPARACION: Se disuelven primero 29 gramos del polvo en-  
100 ml. de agua destilada. Se esteriliza por filtración. Se  
disuelven por ebullición, 15 gramos de agar en 900ml. de -

---- agua destilada .Esterilícese en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  (15 libras de presión) durante 15 minutos, enfriese a  $50^{\circ}\text{C}$  y agreguese a los 100 ml. de la base de agar con urea, estéril, Mézclase bien y distribúyase asépticamente en tubos estériles. déjese endurecer el medio en posición inclinada de manera de obtener fondos profundos.

USOS: El agar con urea fue ideado por Christensen COMO - un medio sólido para identificar ,mas bien dicho para diferenciar los bacilos entéricos. en el pueden dar una reacción positiva no solamente los Proteus, sino algunos Para colónicos y otros microorganismos,

Los mejores resultados se obtienen distribuyendo un inóculo abundante sobre la superficie inclinada, al igual - que en el medio para la prueba de ureasa de Rustingian y Stuart, La velocidad de la reacción depende de la relación - que guarden las cantidades del inóculo y el medio. El fondo del agar no se inocula y sirve como color de control.

Los organismos capaces de atacar la urea liberan amoníaco y por ello originan el cambio al rojo de la superficie inclinada.

Thal y Chen reportaron que en agar con urea se pueden hacer las diferenciaciones entre los bacilos de la plaga - y los Pseudotuberculosos, pues las cepas de los Pseudotuberculosos son ureasopositivas, y los bacilos de la plaga son negativos .

## 2.- FORMAS DE REPRODUCCION DE LA CANDIDA ALBICANS

La candida Albicans es un hongo Levaduriforme oval, gemante que produce Pseudomicelios tanto en los cultivos como en los tejidos y los exudados.

Las levaduras se reproducen por :

GEMACION.

FISION TRANSVERSAL

ESPORULACION

La gemación.- Es un proceso de reproducción común en las levaduras los constituyentes celulares de la célula madre se reparten con las células hijas y las dos células son iguales en la madurez.

La fisión tipo de reproducción vegetativa o asexual es -- semejante al proceso reproductor de las bacterias. Las células de levadura aumentan de tamaño o se alargan, el núcleo o se divide y se originan dos nuevas células semejantes.

La esporulación En el proceso de reproducción sexual todas las levaduras " verdaderas" producen ascosporas por este motivo se se incluyen las levaduras verdaderas en el grupo de los ascomicetos u hongos con receptáculo o asca.

## 3.- FORMAS COMUNMENTE UTILIZADAS PARA EL TRATAMIE

ENTO DE CANDIDIASIS VAGINAL.

Los medicamentos mas usados en la candidiasis vaginal son: Sediluvios de bicarbonato de sodio ( baños de acie nto) Lavados vaginales, de bicarbonato de sodio. Y como

medicamentos la Nistatina, Ovulos de Canasten, y la AnfoterisinaB.

4.- MODO DE ACCION DE LA NISTATINA.

Reacciona con esteroides en membrana celular de hongo.

5.- SINONIMOS CON LOS QUE PODEMOS ENCONTRAR LA CANDIDA ALBICANS.

MUGET,

MONILIA ALBICANS.

OIDIUM ALBICANS.

ENDOMYCES ALBICANS.

MYCOTORULOIDES TRIADIS.

MONILIA PINOYI.

MONILIA PSIIOSIS.

ETC.....

..... 0 .....

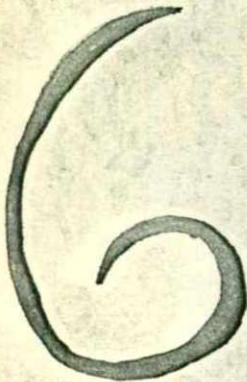
BIBLIOGRAFIA

LIBRO.- METODOS DE LABORATORIO.  
AUTOR.- LYNCH, RAPHAEL, MELLOR, SPARE, INWOOD.  
EDITORIAL.- INTERAMERICANA.  
EDICION.- SEGUNDA.  
AÑO.- 1972.

LIBRO.- TRATADO DE MICROBIOLOGIA.  
AUTOR.- WILLIAMS BORROWS.  
EDITORIAL.- INTERAMERICANA.  
EDICION.- DECIMONOVENA.  
AÑO. / 1968.

LIBRO.- PRODUCTOS PARA LABORATORIOS DE MICROBIOLOGIA.  
AUTOR.- BALTIMORE BIOLOGICAL LABORATORY, INC.  
EDITORIAL.- PRECISA OFFSET, S.A.  
EDICION.- SEGUNDA.  
AÑO.- 1967.

PRACTICA 6



HONGOS OPORTUNISTAS

MATERIA.- Seminario de Micología.

NOMBRE.- Yolanda Esthela Martínez  
y Valdez.

Nº de Microscópio.- 741671 ó COB-5

FECHA.- 30 de Mayo de 1980.

OBJETIVO:

Identificación de especies comunes de hongos oportunistas.

TECNICA:

- 1).- Preparación de azul de algodón.
  - a).- Cristal de Fenol. . . . . 20grs.
  - b).- Acido Lactico. . . . . 20grs.
  - c).- Glicerina. . . . . 40grs.
  - d).- Agua destilada. . . . . 20 ml.

Disolver estos ingredientes por calentamiento con un baño de vapor.

Agregar 0.05 grs de colorante azul de Algodón -- (azul power) ó azul de anilina.

Se puede emplear para levadura así como para hongos y sirve como líquido de montaje y colorante.

a).- Colocar una gota de éste líquido en un portaobjetos limpio.

b).- Sobre éste gota colocar una pequeña cantidad de cultivo, si el cultivo se ha efectuado en agar sacar un

trozo del medio con el crecimiento incluido.

c).- Cubrir con un cubreobjetos y presionar suavemente para aplastarlo.

d).- Calentar suavemente para que desaparezca la burbuja de aire.

e).- Examinar con el microscópio con objetivo de alta potencia en seco ó en inmersión.

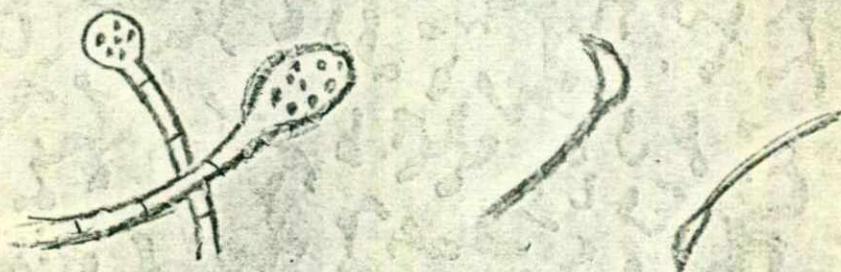
f).- Cuando se desea obtener un montaje permanente pintar los bordes del cubreobjetos con esmalte para uñas.

2).- Observación de la muestra proporcionada.

a).- Reportar a que tipo de hongo oportunista considera que pertenece.

#### Aspergillus.

b).- Dibuje lo observado



3).- Siembra de hongos del medio ambiente.

a).- Dejar las cajas proporcionadas ( agar sabouraud) abiertas durante el desarrollo de los pasos anteriores.

4).- Identificación de los contaminantes crecidos. y reportar lo mismo que en el paso (2).

Los hongos contaminantes de las cajas puestas a medio ambiente se observó:

Caja 1.- Observación macroscópica, colonia amarilla anaranjada continua algodonosa y seca.

Observación microscópica, se observaron hifas muy delgadas no septadas abundantes, sin poder distinguir a que tipo de hongo oportunista pertenece por el envejecimiento de las colonias.

Caja 2.- Observación macroscópica, colonia verde---  
grisacea continua algodonosa con partes en cambio de color  
Observación microscópica, Hifas septadas -  
abundantes con conidias en gemación parece CLADIOSPORIUM.

### INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

1).- Generalidades de hongos oportunistas: Los hongos oportunistas son aquellos que producen micosis por hongos que son saprobios ( algunos de ellos viven incluso en el huésped como comensales, y que en condiciones normales son incapaces de producir enfermedad al hombre).

Existen algunos factores que predisponen al huésped para que puedan ser parasitados por éste tipo de hongo.

a).- Procesos que impiden al huésped alcanzar su optimo desarrollo inmunológico ejemplo: diabetes, embarazo.

b).- inmunodeficiencias primarias adquiridas especialmente aquellas que comprometen la inmunidad celular.

c).- Factores etiogénicos:

1).- Terapia prolongada con sustancias que disminuyen la inmunidad celular como corticosteroides.

2).- Terapia prolongada con antibioticos.

3).- Procedimientos quirúrgicos.

4).- Drogadicción, Uso de jeringas sucias.

### HONGOS OPORTUNISTAS

1).- *Candida albicans* . . . . . Candidiasis.

Micosis oportunista por excelencia presenta un gran cuadro clínico, y puede ser una enfermedad superficial o atacar órganos profundos.

Su distribución geográfica es cosmopolita.

2).- *Criptococo Neoformans* . . . . . Criptococosis.

Es una Micosis oportunista que ataca primeramente al pulmón, produciendo una enfermedad por una etapa-

asintomática y se deseminan en cualquier órgano, principalmente a meninges y sistema nervioso central, es de distribución cosmopolita.

3).- Actinomicetes . . . . . Actinomicosis.

Es una enfermedad crónica supurativa caracterizada por una tumoración fistulosa que drena un líquido seropurulento en los cuales se presentan los granos de azufre ( micetoma actinomicótico ), es de distribución cosmopolita y su principal es el actinomicetes israelii.

4).- Nocardia . . . . . Nocardiosis.

Su principal es la nocardiosis asteroides, se inicia en pulmón de donde puede deseminarse a todo el organismo de preferencia al sistema nervioso central produciendo un cuadro clínico supurativo con fiebres elevadas, es de distribución cosmopolita.

5).- Ficomicetos . . . . . Ficomicosis.

6 Mucormicosis.

el término ficomicosis comprende a los géneros Mucor, Absidia, Rhizopus, Mortierella, Bacidobolus, Entomophthora, Ehyphomyces, todos ellos son considerados como contaminantes de cultivo ya que son ubicuos, la distribución geográfica es cosmopolita y su vía de entrada es pulmonar, pero puede serlo también oral.

6).- Aspergillus . . . . . Aspergilosis.

La aspergilosis es una enfermedad micótica secundaria a proceso que disminuye las defensas orgánicas su distribución es cosmopolita.

2).- Como es la morfología de los siguientes hongos.

a).- ASPERGILLUS FUMIGATUS.- Es una conidia y hifa septada siempre, en cultivo se ve la presencia de conidioforo típico y de la cadena de esporas, las esporas son redondas y lisas completamente, los aspergillus pueden crecer en medios con elevadas concentraciones de azúcar y de sal, por lo general se desarrollan a 37°C.

b).-RHIZOPUS SP<sup>t</sup>.- Micelio no tabicado algodonoso con esporangioforos que brotan de la misma pretuberancia en que se forman los rizoides, los esporangioforos son por lo general muy anchos y negros, son hongos de crecimiento rapido que llenan la caja de petri en cinco días con sus micelios aereos algodonosos<sup>t</sup>.

c).- MUCOR SP.- Su micelio es por lo general blanco -- gris y no esta tabicado, los esporangioforos pueden ser -- ramificados, las columnillas son redondas cilíndricas u -- ovoides sus esporas son negras o pardas y de apariencia lisa producen cigosporas no producen estalones ni rizoides<sup>t</sup>.

3).- Diferencia entre aspergillus y Mucor SP<sup>t</sup>.

a).- DIAGNOSTICO DE LABORATORIO:

Aspergillus.- Es una conidia y sus hifas septadas las esporan son redondas y lisas crece a 37°C. como temperatura óp\_tima el aspergilluses de color verdoso como esporas sexuales producen ascosporas porque están contenidas - en un saco o asco<sup>t</sup>.

Mucor.- Su micelio no tabicado y tiene esporangio foro, sus esperangios son ramificados redondos, sus columnillas cilíndricas y crece al medio ambiente en el saelo, - es de color blanco tirando a café y luego a café obscuro, - el mucor produce cigosporas por la fusión de filamentos -- por la misma planta, como esporas sexuales.

b).- EN SUS ENFERMEDADES QUE CAUSAN<sup>t</sup>.

Aspergillus.- Puede causar alergia, asma neumonía deseminación al cerebro, riñón etc, y es mortal<sup>t</sup>.

Mucor.- Los hongos en medio ambiente van a los - vasos sanguineos y causan trombosis e infarto.

Rhizopus.- La forma craneofacial se ha reportado como la más común, lo que es una infección de los senos nasales y paranasales, también acidosis deabetica.

Diferencia de Rhizopus y Mucor.- Este genero de rhizopus se diferencia del mucor por la presencia de estalones, rizoides y de esporangiofóros no ramificados que --

nacen en fascículos en un punto opuesto a los rizoides.

4).- Dibuje como se vería al microscópio.

a).- Principales especies de *Aspergillus* de importancia médica: *Aspergillus Fumigatus*



Otras especies de *Aspergillus* son, *Flavus*, *Niger*, *Terreus* *Nidulans*.

Principales especies de *Mucor* de importancia médica  
*Mucor Rourii*

Otras especies de *Mucor* son: *Racemosus*.

Principales especies de *Rhizopus* de importancia médica.

*Rhizopus Negricans*.

5).- Escriba las principales enfermedades causadas por hongos oportunistas.

a).- Candidosis.- Moniliasis vulvovaginitis.

b).- Criptococosis.- Infección subaguda crónica y puede afectar pulmón, piel u otras partes del cuerpo, Meninges, Cerebro.

c).- Nocardiosis.- Infección pulmonar primaria aguda crónica supurativa.

d).- Actinomicosis.- Enfermedad granulomatosa crónica fistulada característica por la supuración cuyo absceso desagua en presencia de granulos de azufre.

B I B L I O G R A F I A

LIBRO: TRATADO DE MICROBIOLOGIA.  
AUTOR: WILLIAM BURROWS.  
EDITORIAL: INTERAMERICANA.  
EDICION: DECIMONOVENA.  
AÑO: 1970.

LIBRO: MICROLOGIA.  
AUTOR: CONANT, SMITH, BAKER, CALLAWAY  
EDITORIAL: INTERAMERICANA.  
EDICION: TERCERA.  
AÑO: 1971.

LIBRO: MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA  
AUTOR: JAWETZ, MELNICK, ADELBERG.  
EDITORIAL: M.M.  
EDICION: SEGUNDA EDICION.  
AÑO: 1966.

7

PRACTICA 7

DERMATOFITOS

MATERIA.- Seminario de Micología.

NOMBRE.- Yolanda Esthela Martínez y Valdez.

Nº de Microscópio.- 741671 ó COB-5

FECHA.- 30 de Mayo de 1980.

OBJETIVO:

Identificación de los diferentes dermatofitos existentes en México, según cepas conseguidas en el Politécnico Nacional, departamento de Micología de Ciencias Biológicas.

TECNICA:

1.- Estudio en fresco: De cada uno de los hongos proporcionados según técnicas anterior de azul de algodón, reportar.

a).- Características macroscópicas de cada muestra

1).- *Microsporun Gypseum*: Colonia superficial algodónosa blanca continua en la parte del frente, en la parte interna colonia en manchas anaranjada profunda.

2).- *Microsporun Canis*: Colonia blanca algodónosa descontinua en la parte del frente en la parte interna colonia anaranjada cristalina brillante.

3).- *Trichophyton Rubrum*: Colonia blanca algodónosa continua en la parte interna pigmento en colonia amarilla y gris pardosa lisa.

4).- *Trichphyton tonsurans*: Colonia superficial - blanco algodónosa con bordes globosos continua en la parte del frente, en la parte interna pigmento amarillo.

5).- Epidermophyton floccosum: Colonia blanca semi -- algodonosa delgada continua puede ser verdosa. En la parte interna, pigmento amarillo anaranjado descontínuo.

b).- Características microscópicas de cada muestra.

1).- Microsporum Gypseum: Macroaleuriosporas con extremo exterior redondeado, presenta 4 celdillas abundantes microaleuriosporas.

2).- Microsporum Canis: Macroaleuriosporas extremo -- apical presentan 8 celdillas.

3).- Trichophyton Rubrum: Microaleuriosporas.

4).- Trichophyton Tonsurans: Microaleuriosporas.

5).- Epidermophyton floccosum: Hifas septadas, macroaleuriosporas en forma de mazo extremo distal redondeado -- presenta de 2 a 4 celdillas.

6).- Trichophyton Mentagophites: Macroscópica, Colonia superficial blanco algodonosa continua en la parte interna pigmento amarillo continua observación microscópica, presenta Microaleuriosporas.

2).- Resiembra.-- en los medios proporcionados inocule la cepa indicada por el instructor, según técnicas anteriores.

Las características observadas de la resiembra a las 72 horas fueron las mismas observadas anteriormente hablando de las características macroscópicas, pues las microscópicas no se pedían como continuación de la técnica.

En la especie thichophyton Rubrum a las 72 hrs. no se había observado ningún desarrollo como el observado en -- días anteriores.

3).- Cultivo en Portaobjetos de Pelo.-- Coloque en un portaobjeto estéril una porción de medio de sabouraud ( para evitar contaminación se tratará de hacer todo el desarrollo cerca de la flama). Con cuidado de no maltratar el medio, introducir un pelo del tamaño del medio cortado.

aplicar por un lado un dermatofito que produzca ectosporas y por otro uno que produzca exosporas ( fenómeno --

ENDOTRIS Y EXOTRIS y reporte los resultados con los hongos tratados.

El resultado a las 72 hrs. del pelo con el organismo *Trichophyton Rubrum* no se observó ningún crecimiento.

El resultado a las 72 hrs. del pelo con el organismo *Trichophyton Tonsurans* no se observó ningún crecimiento.

#### INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

1).- GENERALIDADES DE DERMATOFITOS.- ES el tipo más común por infecciones de hongos son infecciones superficiales de la epidermis y afectan los tejidos queratinizados, piel, cabello, uñas y son causados por numerosas especies de hongos pertenecientes a tres géneros.

- 1).- *Trichophyton*.
- 2).- *Microsporum*.
- 3).- *Epidermopiton*.

En la actualidad se ha encontrado el estado sexual de muchos dermatofitos a los que se les clasifican dentro del género *Arthroderma*.

Su gravedad depende de la localización y de la especie del hongo, por general no invade los tejidos más profundos y no llegan de diseminarse, en los tejidos queratinizados forman solamente hifas y artrosporas en un cultivo de sabouraud glucosado a 20°C desarrolla colonias y esporas características y por medio de éstas formaciones que clasificado la mayoría de los dermatofitos son de distribución universal.

2).- FORMAS DE DIFERENCIACION DE LOS GENEROS Y ESPECIES DE LOS DIFERENTES DERMATOFITOS.- La diferenciación de los diferentes dermatofitos esta basada en la morfología macroscópica y microscópica de los hongos, también en su fisiología y en su requerimiento nutritivo.

La diferenciación mas importante seria morfológicamente en sus colonias, pigmentación formas de micélio producción de macroconidias y microconidias y aleurioporas.

3).- EN EL LABORATORIO CUALES SON LAS CARACTERISTICAS PRINCIPALES EN EL EXAMEN MICROSCOPICO DE CADA UNA.

ORGANISMO	MORFOLOGIA
TRICHOPHYTON MENTACROPHYTES.	Hifas espirales microconidias redondos agrupados en racimos similares a los de una uva.
TRICHOPHYTON RUBRUM.	Microconidios en forma de masa a lo largo de los bordes laterales de las hifas.
TRICHOPHYTON TONSURANS.	Microconidios alargados dispuestos a lo largo de los bordes laterales de las hifas.
MICROSPORUM CANIS.	Abundantes macroconidias grandes fusiformes, multicelulares y tiene paredes gruesas.
MICROSPORUM GYPSEUM.	Muchas macroconidias pequeñas fusiformes multicelulares y de paredes delgadas.
EPIDERMOPHYTON FLOCCOSUM.	Predominan los macroconidios-ovales y anchos en racimos.

4).- MENCIONE LAS PRINCIPALES CARACTERISTICAS  
 PRODUCIDAS POR ESTOS HONGOS EN TIÑAS.

ORGANISMO	TIÑA	CARACTERISTICA
TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES.  (Invaden pelo y folículos pilosos, variedad de grandes esporas, tipo Ectotrix)	"	La causa más común de dermatofitosis intertriginosa del pie (Pie-de atleta) también provoca Tiña de la piel lisa, foliculitis supurativa - en cuero cabelludo y <u>bar</u> ba. su distribución Universal.
TRICHOPHYTON RUBRUS  ( No invaden pelo ni folículos pilosos).		Lesión crónica rebelde al tratamiento que ocurre en las uñas y en la piel, es lesión de tipo Psoriasis de la piel lisa onicomycosis, de distribución Universal, muy común en los tropicos. La griseo-fulvina es útil.
TRIVHOPHYTON TONSURANS.  (Invade pelo y folículos pilosos, variedad de grandes esporas, tipo endotrix)		Tiña del cuero cabelludo y piel suave, sicosis, omicomiosis, la supuración es común los folículos pilosos están atrofiados, es común en México y con incidencia creciente en E.U.A.

ORGANISMO

TIÑA

CARACTERISTICAS

MICROSPORUM  
CANIS

"

Tiña prepuberal del cuerpo cabelludo y de la piel sin pelo, no es rara la supuración en ocasiones infecta a perros, gatos, rara en Europa y responsable de casi la mitad de las infecciones en E.U.A.

(Invade pelo y folículo piloso variedad de pequeñas esporas)

MICROSPORUM  
GYPSEUM.

Tiña prepurberal del cuerpo cabelludo y piel lampiña comunes supuraciones frecuentemente aislada del suelo, es común en Sud América.

(Invade pelo y folículo piloso variedad de pequeñas esporas.)

EPIDERMOPHYTON  
FLOCCOSUM.

Causa el clásico eccema-marginado de la región crural, una minoría de casos de dermatofitosis intertriginosa del pie, no se sabe que infecte pelo pero si uñas, es comun en todas partes pero en preferencia en los trópicos

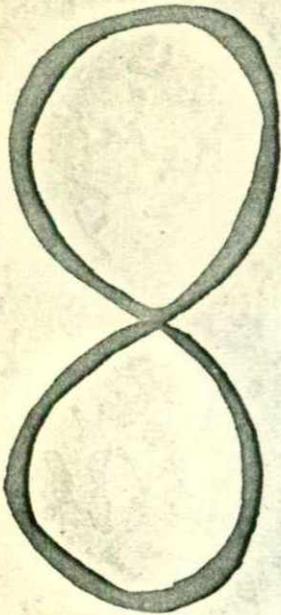
(No invade pelo ni folículos pilosos).

## B I B L I O G R A F I A

LIBRO: MICROBIOLOGIA.  
AUTOR: M.J. PEICZAR Y R.D. REID.  
EDITORIAL: MAC. GRAW HILL.  
EDICION: SEGUNDA EN INGLES  
AÑO: 1969.

LIBRO: MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA  
AUTOR: JAWETZ; MELNICK, ADELBERG.  
EDITORIAL: M.M.  
EDICION: SEGUNDA EDICION.  
AÑO: 1966.

LIBRO: TRATADO DE MICROBIOLOGIA.  
AUTOR: WILLIAM BURROWS.  
EDITORIAL: INTERAMERICANA.  
EDICION: DECIMONOVENA.  
AÑO: 1970.



PRACTICA 8  
PRUEBAS DE  
SUCEPTIBILIDAD

MATERIA: Seminario de Micología.

NOMBRE: Yolanda Esthela Martínez  
y Valdez.

Nº de Microscópio: 741671 ó COB - 5

OBJETIVO:

Manejo y aplicación práctica de métodos anteriores  
pruebas de suceptibilidad antimicótica.

TECNICA;

1).- SPOROTHRIX SCHENKII.

Montaje directo con azul  
de algodón y observación: Reportar lo observado y caracte-  
rísticas morfológicas.

OBSERVACIONES MACROSCOPICAS: Colónia cremosa no algo-  
donosa continua, en la parte interna de color amarilla.

OBSERVACIONES MICROSCOPICAS: Hifas delgadas no septadas



CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS: Los organismos se observan sólo ocasionalmente en pus y en tejidos de infecciones humanas, aunque pueden encontrarse en forma de células pequeñas, fusiformes aisladas y gram-positivas

2).- FUSARIUM: (contaminante) Montaje directo con azul de algodón y observación ; reporte lo observado.

OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS: Colonia blanco algo domosa y otra parte amarillo cremosa y a la vez en otra parte de la caja petri amarillo algodonosa, en la parte interna es de color anaranjada.

OBSERVACIONES MICROSCÓPICAS; Hifas no septadas con esporangios y esporas.



3).- PRUEBAS DE SUCEPTIBILIDAD ANTIMICOTICA;

a).- Disolver el antibiótico hasta obtener una concentración de 1000 microgramos /ml. en agua esteril.

b).- En tubos de 13 x 100 limpios, estériles y tapados con algodón marcarlos del 1 al 10.

c).- Agregar 0.5 ml. de la dilución de los tubos marcados del 2 al 10<sup>5</sup>.

d).- Agregar a todos los tubos 0.5 ml. del inóculo que contenga  $10^5$   $10^6$  MO/ml.

Esto se prepara efectuando una dilución del 1:1000 en caldo de cultivo incubado toda la noche del MO en medio.

OBSERVACIONES ; Las observaciones fueron negativas con la nistatina antibiotica, a 200 microgramos /ml.

#### INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

##### 1).- GENERALIDADES DE MICOSIS SUBCUTANEA:

Se refiere a un grupo de enfermedades micóticas en las cuales estan afectadas tanto la piel como el tejido subcutaneo pero no se produce desiminacion a organos internos pero son muy raras.

Los agentes casuales se clasifican entre varios generos independientes y tienen las siguientes características comunes:

A).- Son básicamente saprofitos al suelo de muy poca virulencia y de muy poca capacidad invasora.

B).- En la mayor parte de las infecciones humanas y de animales entran en la economía a consecuencia de un traumatismo en el tejido.

La respuesta tisular varía en tales agentes causal y en la mayoría de los casos la lesión tiende a ser localizada, y los principales tipos de enfermedades son:

1).- CROMOBLASTOMICOSIS.- que da una respuesta a factor tisular complejo.

2).- ESPOROTICOSIS.-

3).- MICETOMA ( MADUROMICOSIS).- Que da una respuesta a factor tisular compleja.

4).- FICOMICOSIS SUBCUTANEA.-

## 2).- GENERALIDADES SOBRE FUSARIUM.

Mohos muy difundidos en la naturaleza que contamina a menudo los medios de cultivo debido a que sus esporas se deseminan por las corrientes de aire, se encuentran en el suelo y en los materiales vegetales y productos alimenticios en descomposición, Los Fusarios se caracterizan por sus conidias pluricelulares, fusiformes o filciformes insertos en conidioforos que se disponen verticilados sobre hifas cortas ramificados, sus hifas son sencillas ramificadas con microconidias pequeñas y ovoides ó esfericas alargadas en forma de media luna.

Las macroconidias situadas en esporadoquios tienen muchos tabiques y generalmente formo de media luna, los micelios prodecen tambien clamidosporas y con frecuencia esclerocios.

## 3).- QUE FACTORES INFLUYEN EN LAS TECNICAS DE DILUCION.

Influyen en las tecnicas de dilucion;

A).- Ph.

B).- Compuestos del medio.

C).- Estabilidad de la Droga.

D).- Tamaño del inóculo.

E).- Duración de la Incubación.

F).- Actividad Metabólica del hongo.

4).- QUE DIFERENCIA EXISTE ENTRE CMI Y CMB.

CMI.- Concentración mínima inivitoria.

CMB.- Concentración mínima Bactericida.

La CMI.- Se refiere a la menor concentracion de un antimicrobiano que inive la actividad.

La CMB.- Se refiere a la cantidad minima con la que se puede alterar la actividad.

5).- CONCLUSIONES FINALES DEL LABORATORIO.

La conclusión que personalmente puedo dar referente ala realización de las prácticas es que estubieron bien enfocadas para el poco tiempo que se tubo para su realización, y por este mismo poco tiempo no se le puedo dar mas amplitud a dicho programa.

.....) ( .....

## B I B L I O G R A F I A

LIBRO: MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA.  
AUTOR: JAWETZ, MELNICK, ADELBERG.  
EDITORIAL: M.M.  
EDICION: SEGUNDA EDICION.  
AÑO: 1966 1966.

LIBRO: TRATADO DE MICROBIOLOGIA.  
AUTOR: WILLIAM BURROWS.  
EDITORIAL: INTERAMERICANA.  
EDICION: DECIMONOVENA.  
AÑO: 1970.

LIBRO: MICOLOGIA.  
AUTOR: OSCAR VELASCO CASTREJON.  
EDITORIAL: UNAM.  
AÑO: 1975.