

EXPERIMENTO 4. Ensayo de antibiosis sobre microorganismos testigo relacionados con bacterias multirresistentes del grupo ESKAPE

¿Alguno de los microorganismos que he aislado puede ser capaz de producir sustancias antibióticas que inhiban el crecimiento de bacterias patógenas para el ser humano? Para ensayar esto debo enfrentarlas a estas bacterias. En MICROMUNDO no utilizamos los patógenos que más comúnmente desarrollan resistencia a los antibióticos, precisamente aquellos contra los que necesitamos nuevas terapias, por su enorme peligrosidad. Pero disponemos de otras bacterias relacionadas con ellas carentes de virulencia. Los seis géneros bacterianos responsables de infecciones muy difíciles de tratar en la clínica, puesto que han acumulado resistencia a casi todos los antibióticos que tenemos, son *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y *Escherichia* (ESKAPE). Nosotros no vamos a utilizar los patógenos, por supuesto, sino otros relacionados, pero seguros.

Patógeno ESKAPE	Bacteria segura relacionada	Medio de cultivo óptimo
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>	BHI
(Gram-positivas)	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Kocuria sp.</i>	LB
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	BHI, TSA
<i>Klebsiella spp.</i> (y otras Gram negativas)	<i>Escherichia coli</i>	AN
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter baylyi</i>	BHI
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	LB
<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	TSA

Material

- Placas Petri con medios de cultivo que permitan el crecimiento del microorganismo testigo.
- Una tubo con suspensión del microorganismo testigo en caldo de cultivo.
- Una torunda de algodón estéril.
- Palillos de dientes estériles.

Procedimiento

1. Equípate con guantes y la bata; moja con cuidado la torunda de algodón en la suspensión del microorganismo testigo, escúrrela en las paredes interiores del tubo para que no gotee e inmediatamente utilízala para extender el microorganismo por toda la superficie de la placa estéril de forma homogénea. Pasa la torunda en todas direcciones para asegurarte de que toda la superficie del agar va a quedar colonizada por el microorganismo. Haz esto con tantas placas como microorganismos testigo vayas a ensayar.
2. Con ayuda de los palillos estériles, siembra de uno en uno todos tus microorganismos aislados del suelo en cultivo puro, reproduciendo en estas nuevas placas la misma disposición que tenías en la placa madre. Incluye adicionalmente en cada placa un control positivo, es decir, un microorganismo conocido productor de antibiótico que te proporcionará el profesor.
3. Incuba las placas a 30 °C durante 48 h.



Resultados

Tras la incubación deberíamos ser capaces de observar crecimiento del microorganismo testigo por toda la superficie de la placa y, sobre éste, crecimiento de nuestros microorganismos en las respectivas zonas de contacto donde realizamos las siembras de manera ordenada. Observa si en torno a alguno de tus microorganismos existe una zona de inhibición, que se manifestará como un halo más claro en torno a él. En el control positivo debes observar este fenómeno.

Si tienes algún microorganismo positivo, debemos reaislarlo mediante la técnica de estría en superficie para obtener colonias aisladas que guardaremos para su posterior identificación mediante técnicas microscópicas, bioquímicas y moleculares en la Universidad. Si ninguno de tus microorganismos parece producir antibióticos, no desesperes: los experimentos nunca salen a la primera. Comparte información con tus compañeros y busca si alguien de tu clase o de tu grupo ha encontrado algún microorganismo positivo.