

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DESARROLLO DE ACTIVIDADES DE MANTENIMIENTO DE SIETE CEPAS DE
REFERENCIA UTILIZADAS EN EL LABORATORIO DE ALIMENTOS Y TOXICOLOGÍA
DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

PRESENTADO POR

KELLY MARGARITA GÓMEZ HERNÁNDEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

FEBRERO, 2024

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

MsD. NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

Maestra Katia Lissette Martínez de Palacios

NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN COLABORADORA

Laboratorio de Alimentos y Toxicología

Licenciado Leonel Amílcar Bermúdez Luna

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORA DE AREA EN MICROBIOLOGÍA

Doctora Tania Ethel Cuadra Zelaya

ASESORA DE AREA DE INDUSTRIA FARMACÉUTICA, COSMÉTICOS, VETERINARIA
Y PRODUCTOS AFINES

Maestra Rosa Mirian Rivas de Lara

TUTOR INTERNO

Maestro Luis David Alonzo Hernández

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a Lic. Leonel Bermúdez Luna, Licda. Adriana González, Licda. Jackelin Duke, Tec. Olinda García y a toda la Plataforma de Microbiología por su valiosa orientación y apoyo durante todo el proceso de investigación de este proyecto de Práctica Profesional Supervisada. Su dedicación y experiencia fueron fundamentales para el éxito de este proyecto.

Al Laboratorio de Alimentos y Toxicología por su apoyo, cooperación y tiempo brindado.

Además, deseo extender mi gratitud a mi tutor interno M.Sc. Luis David Alonzo Hernández, PhD. Tania Ethel Cuadra Zelaya, M.Sc. Rosa Mirian Rivas de Lara por su tiempo y esfuerzo en la revisión y evaluación de mi trabajo. Sus comentarios y sugerencias fueron de gran ayuda para mejorar la calidad de este documento.

DEDICATORIA

Agradezco profundamente a DIOS y la Virgen María, por haberme otorgado la bendición de poder finalizar mi carrera, por estar presentes y manifestarse en cada momento de mi vida con su inmenso amor, y por haber puesto en mi camino a todas aquellas personas que me ayudaron a concluirla.

A mis padres, María Margarita Hernández y José Arístides Gómez quiero expresarles mi más sincero agradecimiento, cada sacrificio que han hecho, cada consejo que me han dado y cada momento que han dedicado a mi educación ha sido invaluable. Gracias por haberme enseñado el valor del esfuerzo, la perseverancia y la educación. Su apoyo incondicional a mi bienestar y desarrollo ha sido el faro que me ha guiado en este camino.

A mis hermanos, Alvaro y Denys por su apoyo y amor brindado a lo largo de mi vida.

A mis abuelitos, Rosa Barahona, Ascensión Chicas, Ysidro Hernández porque siempre me apoyaron a seguir adelante y dieron consejos valiosos durante mis años de estudio.

Agradezco a mi tía Elsa Hernández y a mi amada familia, cuyo apoyo incondicional y amor han sido mi mayor fuente de fortaleza y motivación a lo largo de este desafiante viaje académico.

A mis amigos, por su aliento, amistad sincera, compañía y consejos oportunos en cada momento compartido.

Con aprecio,

Kelly Margarita Gómez Hernández

INDICE GENERAL

Pag N°

RESUMEN

CAPÍTULO I

1.0 Introducción 13

CAPÍTULO II

2.0 Objetivos

CAPÍTULO III

3.0 Marco teórico 17

3.1 Preservación y mantenimiento de organismos de prueba. 17

3.2 Control de calidad de cepas 18

3.2.1 Características macroscópicas 19

3.2.2 Características microscópicas 19

3.2.3 Pruebas de identificación preliminar con lectura inmediata. 19

3.2.4 Pruebas bioquímicas 20

3.2.5 Sistemas comerciales multipuebas 20

3.3 Conservación de cepas de referencia 21

CAPITULO IV

4.0 Resultados y discusion de resultados 24

CAPITULO V

5.0 Conclusiones 42

CAPITULO VI

6.0 Recomendaciones 44

Referencias bibliograficas

Anexos

INDICE DE FIGURAS

Fig. N°	Pág. N°
1. <i>P. aeruginosa</i> en agar Cetrimide.....	25
2. <i>P. aeruginosa</i> en agar Tripticasa Soya.....	25
3. Catalasa positiva <i>P. aeruginosa</i>	25
4. Oxidasa positiva <i>P. aeruginosa</i>	25
5. Morfología microscópica de <i>P. aeruginosa</i>	26
6. Sistema API 20NE, identificación de <i>P. aeruginosa</i>	26
7. <i>P. mirabilis</i> en agar Hektoen Enteric.....	27
8. <i>P. mirabilis</i> en agar Xilosa Lisina Desoxicolato.....	27
9. <i>P. mirabilis</i> en agar Bismuto Sulfito.....	28
10. Oxidasa negativa <i>P. mirabilis</i>	28
11. Catalasa positiva <i>P. mirabilis</i>	28
12. Morfología microscópica <i>P. mirabilis</i>	28
13. Sistema API 20E, identificación de <i>P. mirabilis</i>	29
14. <i>S. typhimurium</i> en agar Hektoen Enteric	29
15. <i>S. typhimurium</i> en agar Xilosa Lisina Desoxicolato.....	29
16. <i>S. typhimurium</i> en agar Bismuto Sulfito.....	30
17. <i>S. typhimurium</i> en agar Tripticasa Soya.....	30
18. Catalasa positiva <i>S. typhimurium</i>	30
19. Oxidasa negativa <i>S. typhimurium</i>	30
20. Morfología microscópica <i>S. typhimurium</i>	31
21. Sistema API 20E, identificación de <i>S. typhimurium</i>	31
22. <i>L. seeligeri</i> en agar Oxford y Palcam.....	32
23. <i>L. seeligeri</i> en agar Tripticasa Soya.....	32
24. Morfología microscópica <i>L. seeligeri</i>	33
25. Catalasa positiva <i>L. seeligeri</i>	33
26. Oxidasa negativa <i>L. seeligeri</i>	33
27. <i>L. ivanovii</i> en agar Oxford y Palcam.....	34
28. <i>L. ivanovii</i> en agar Tripticasa Soya	34
29. Catalasa positiva <i>L. ivanovii</i>	34
30. Oxidasa negativa <i>L. ivanovii</i>	34

31.	Morfología microscópica <i>L. ivanovii</i>	35
32.	<i>L. monocytogenes</i> en agar Oxford y Palcam.....	35
33.	<i>L. monocytogenes</i> en agar Tripticasa Soya.....	35
34.	Catalasa positiva <i>L. monocytogenes</i>	35
35.	Oxidasa negativa <i>L. monocytogenes</i>	36
36.	Morfología microscópica <i>L. monocytogenes</i>	36
37.	<i>S. aureus</i> en agar Baird Parker.....	37
38.	<i>S. aureus</i> en agar Tripticasa Soya.....	37
39.	Catalasa positiva <i>S. aureus</i>	37
40.	Oxidasa negativa <i>S. aureus</i>	38
41.	Morfología microscópica <i>S. aureus</i>	38
42.	Sistema API Staph, identificación de <i>S. aureus</i>	38

INDICE DE TABLAS

Tabla N°	Pág. N°
1. Caracterización de cepas de reserva y trabajo de <i>P. aeruginosa</i>	24
2. Caracterización de cepas de reserva y trabajo de <i>P. mirabilis</i> y <i>S. typhimurium</i>	26
3. Caracterización cepas de reserva y trabajo de <i>L. seeligeri</i> , <i>L. ivanovii</i> , <i>L. monocytogenes</i> ...	31
4. Caracterización cepas de reserva y trabajo <i>S. aureus</i>	36

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°

- 1 Reporte de resultados API 20NE de *P. aeruginosa*
- 2 Reporte de resultados API 20E de *P. mirabilis*
- 3 Reporte de resultados API 20E de *S. typhimurium*
- 4 Reporte de resultados VITEK de *L. seeligeri*
- 5 Reporte de resultados VITEK de *L. ivanovii*
- 6 Reporte de resultados VITEK de *L. monocytogenes*
- 7 Reporte de resultados API STAPH de *S. aureus*

RESUMEN

En la presente investigación se realizó la reconstitución y elaboración de cepas de referencia, a partir de cepas liofilizadas utilizando las cepas: *Pseudomona aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Listeria seeligeri*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria ivanovii*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* se evaluaron las características morfológicas y bioquímicas, para ello cada cepa se sembró en medios selectivos que permitieron evidenciar sus características y proceder a la identificación de cada una de estas cepas, también se realizaron pruebas como la oxidasa-catalasa y se verificó la morfología microscópica de cada una de ellas. Los resultados mostraron que los crioviales elaborados de las cepas de reserva y de trabajo, presentan las características fenotípicas de estas bacterias, por tanto, pueden ser utilizadas en el laboratorio. Finalmente se presenta un procedimiento general para reconstituir cepas de referencia, preparar cepas de reserva y de trabajo, así como caracterizarlas. El programa tuvo lugar de marzo a septiembre de 2023.

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

En los laboratorios de microbiología, las cepas microbianas son herramientas indispensables para realizar el control de calidad interno, es decir, para garantizar que los resultados obtenidos por el laboratorio sean fiables y reproducibles. Las cepas de referencia desempeñan un papel fundamental en la microbiología al proporcionar una base estandarizada y confiable para la identificación, caracterización y evaluación de microorganismos.

La manipulación de cepas de referencia es una parte crítica del trabajo en microbiología, y es importante seguir pases o subcultivos adecuados para evitar variaciones en las células bacterianas y mantener la integridad de las cepas.

En el Laboratorio de Alimentos y Toxicología se encuentra la Plataforma de Microbiología, la cual se encarga de realizar diferentes análisis microbiológicos, dicho laboratorio cuenta con un cepario que es utilizado como parámetro de referencia para garantizar la calidad de las diferentes evaluaciones microbiológicas, con el fin de proporcionar credibilidad y confianza de la información generada y asegurar que las técnicas analíticas utilizadas sean adecuadas, seguras y reproducibles. Por tal razón, es necesario desarrollar actividades de mantenimiento para garantizar que las cepas de referencia posean sus características de identidad, pureza y viabilidad.

El procedimiento comenzó con la obtención de las cepas de interés, las cuales proceden de un tercer pase, estas fueron proporcionadas por el Laboratorio de Alimentos y Toxicología, se reconstituyeron y una vez obtenidos los cultivos se procedió a su caracterización, para lo cual las cepas fueron inoculadas en diferentes medios de cultivo para posteriormente observar la morfología macro y microscópicamente para su respectiva identificación, se realizaron tinciones al gram que permitió separarlas en dos grandes familias, gram positivas y gram negativas, luego se procedió a realizar pruebas bioquímicas que dieron en definitiva la especie a la cual pertenece cada bacteria y finalmente se almacenaron por congelamiento para mejor conservación.

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

Desarrollar actividades de mantenimiento de siete cepas de referencia utilizadas en el Laboratorio de Alimentos y Toxicología del Instituto Nacional de Salud.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 2.2.1 Reconstituir cepas liofilizadas ATCC de *Pseudomona aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Listeria seeligeri*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria ivanovii*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*.
- 2.2.2 Preparar cepas de reserva, a partir de cepas liofilizadas ATCC de *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *L. seeligeri*, *S. typhimurium*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes* y *S. aureus*.
- 2.2.3 Elaborar cepas de trabajo, a partir de cepas de reserva ATCC de *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *L. seeligeri*, *S. typhimurium*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes* y *S. aureus*.
- 2.2.4 Caracterizar fenotípicamente las cepas ATCC de *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *L. seeligeri*, *S. typhimurium*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes* y *S. aureus*.

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

Los cultivos de referencia son cepas de referencia, cepas de reserva y cepas de trabajo; estos son utilizados en un amplio número de determinaciones, debido a que no pueden obtenerse resultados válidos si no se trabaja con cultivos de alta calidad. ¹

Las cepas de referencia son microorganismos obtenidos directamente de una colección de cultivos de referencia, y definido como mínimo a nivel de género y especie, catalogado y descrito conforme sus características. ²

Las cepas o cultivos de reserva son cepas idénticas logradas mediante un único subcultivo de una cepa de referencia, o lo que es lo mismo, una serie de alícuotas de cultivos idénticos elaborados en el laboratorio por un único subcultivo de la cepa de referencia. ²

Las cepas o cultivos de trabajo son subcultivos procedentes de una cepa de reserva. Los cultivos de trabajo se consiguen a partir de las cepas de reserva sobre un medio sólido o líquido no selectivo adecuado; estas cepas no conviene ser subcultivadas. ²

Existen diversas colecciones de cepas internacionales, algunas de ellas son JCM: Japón Collection of Microorganisms (Japón), CIP: Collection del Institut Pasteur (Francia), NRRL: ARS Culture Collection (Estados Unidos), DSMZ: German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (Alemania), ATCC: American Type Culture Collection (Estados Unidos), esta última, la Colección Americana de Cultivos Tipo provee cepas certificadas, las cuales son adquiridas a través de organizaciones reconocidas mundialmente y son utilizadas como cepas de referencia. ³

3.1 Preservación y mantenimiento de organismos de prueba. ⁴

El laboratorio debe determinar si la cepa suministrada es una cepa de referencia y cuántos pasajes han tenido lugar antes de la recepción y documentar la información. El laboratorio también debe comprobar que estén presentes las características esperadas.

Las presentaciones de cepas facilitadas por el proveedor deben utilizarse de tal manera que la manipulación y subcultivos a realizar por el laboratorio de ensayo resulten mínimos, para reducir la probabilidad de cambios o modificaciones; como la pureza, viabilidad y la identificación de las cepas.

Existe consenso en que se debe reducir el número de subcultivos aplicados a una cepa de referencia para minimizar la posibilidad de contaminación o de cambios fenotípicos y genotípicos. Por lo tanto, los métodos estándar internacionales describen pautas sobre el número máximo de cultivos de un microorganismo de referencia. Los cultivos microbianos derivados de una cepa original no deben someterse a más de cinco pases.

Los cultivos madre de referencia preparados a partir de cepas de referencia, se mantendrán y manejarán de manera que se minimice la oportunidad de contaminación cruzada, mutación o alteración de características típicas. Las existencias de cepas de referencia deben almacenarse en varias porciones, normalmente congeladas, por debajo de $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, o liofilizadas. A una temperatura más alta, la duración de la viabilidad podría reducirse y podría producirse una modificación genética.

Sus características de crecimiento deben documentarse completamente para cada medio en el que se utilizarán. No se utilizarán reservas de referencia para preparar cepas de referencia.

Los cultivos madre generalmente se preparan a partir de reservas de referencia liofilizadas o ultracongeladas. Las alícuotas se manipularán de manera que se evite una posible contaminación cruzada del stock de referencia. Los cultivos madre deben prepararse resuspendiendo una porción de la referencia stock en un medio de crecimiento no selectivo; incubar para producir un cultivo en fase estacionaria.

Los cultivos de trabajo se preparan a partir de cultivos madre o reservas de referencia y se utilizan para preparar inóculos para las pruebas. Los cultivos de trabajo no se utilizarán para preparar cepas de referencia, reservas de referencia o cultivos madre, ni para crear más cultivos de trabajo.

3.2 Control de calidad de cepas

Las cepas de referencia al reconstituirlas se deben someter a controles de pureza y ensayos bioquímicos, éstas deben ser subcultivadas una sola vez, para obtener las cepas de reserva, de las que se obtendrán las cepas de trabajo. Las cepas de reserva y de trabajo deben tener viabilidad, pureza y estabilidad.

3.2.1 Características macroscópicas ⁵

La pureza de las cepas se puede confirmar por siembra en placas petri, sobre superficies de medios de cultivo, el criterio de pureza microbiológica se toma a partir de la morfología de las colonias y sus habilidades de crecimiento en los diferentes medios de cultivo. ⁶

La morfología de las colonias es fundamental en la identificación preliminar y para la diferenciación de los microorganismos. Para la observación morfológica es preferible examinar colonias de cultivos frescos crecidas en medios no selectivos. En este paso de la identificación es muy importante el aislamiento de las bacterias en cultivo puro, ya que esta debería estar compuesta por un solo tipo de microorganismos y proceder de una única célula. Las colonias de una única especie, cuando crecen en medios específicos y bajo condiciones idóneas se describen por sus características de tamaño, forma, consistencia, y a veces por su color.

3.2.2 Características microscópicas ⁵

- Tinción de Gram: permite clasificar las bacterias en dos grandes grupos Gram positivas y Gram negativas. La diferencia en la coloración que adquieren los dos grupos de bacterias se debe a la distinta composición química de la pared celular, las bacterias gram positivas tienen una gruesa capa de peptidoglicano en su pared, mientras que las gram negativas tienen una capa de peptidoglicano más fina. En la tinción se requieren de cinco reactivos, el cristal violeta como un colorante básico, el Lugol como mordiente el cual incrementará la afinidad entre el colorante y la célula, el alcohol-cetona para efectuar una decoloración, un segundo colorante de contraste como la safranina. El estudio microscópico en fresco y tras tinción revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño.

3.2.3 Pruebas de identificación preliminar con lectura inmediata. ⁵

- Prueba de catalasa: la catalasa es una enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso, que se libera en forma de burbujas.

- La prueba de la oxidasa sirve para determinar la presencia de enzimas oxidasas. La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo-oxidasa que activa la oxidación del citocromo, el cual es reducido por el oxígeno molecular produciéndose agua o peróxido de hidrogeno según la especie.

3.2.4 Pruebas bioquímicas⁵

Existen otros métodos que permiten caracterizar los microorganismos como las pruebas bioquímicas, estas se clasifican en tradicionales y rápidas.

- Pruebas bioquímicas tradicionales: permiten determinar las características metabólicas de las bacterias objeto de identificación. Estas pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48 horas; a este grupo pertenecen la mayoría de las pruebas que detectan componentes metabólicos, o aquellas que determinan la sensibilidad de un microorganismo a una sustancia dada, tras cultivo en medios de identificación que contienen el sustrato a metabolizar.
- Pruebas bioquímicas rápidas: evalúan la presencia de una enzima preformada, y su lectura varía entre unos segundos, hasta unas pocas horas. Ejemplo prueba API o Vitek

No obstante, algunas de estas pruebas pueden realizarse de forma rápida tras incubación de unas 2-6 horas; en general, se trata de reacciones enzimáticas cromogénicas o pruebas convencionales modificadas.

3.2.5 Sistemas comerciales multipuebas⁵

Existen en el mercado numerosos sistemas o equipos multipuebas con el fin de conseguir una mayor rapidez en la identificación de algunas bacterias. Todas exigen unas condiciones precisas en cuanto al inóculo, modo de inoculación, incubación y lectura que, de no seguirse, pueden dar lugar a errores. Estos sistemas pueden ser manuales o estar automatizados.

- Sistemas comerciales manuales o galerías multipuebas: se trata de celdillas aisladas con un sustrato liofilizado que se inoculan individualmente y que permiten realizar simultáneamente entre 10 y 50 pruebas bioquímicas. Los resultados de las pruebas se expresan de forma numérica (los resultados de las pruebas se agrupan de tres en tres, de manera que el resultado de cada trío de pruebas queda reducido a un dígito). Cada especie está definida por un código numérico, resultado de la codificación de las reacciones a las pruebas que se hubieran utilizado.
- Sistemas comerciales automatizados: hay en el mercado galerías multipuebas, como las descritas en el apartado anterior pero cuya inoculación, incubación y lectura se efectúan de modo automatizado. También hay paneles en los que además de encontrarse los sustratos para el desarrollo de pruebas bioquímicas, se encuentran diversos antimicrobianos a distintas

concentraciones, con lo que se realiza simultáneamente la identificación y antibiograma del microorganismo objeto de estudio. Existen distintos paneles para distintos grupos de microorganismos. La inoculación y la lectura de estos paneles se suele hacer de forma automática, incorporándose los datos obtenidos en un ordenador, el cual proporciona con un índice alto de fiabilidad, la identificación del microorganismo. Algunos de los sistemas de paneles comerciales disponibles de uso más extendido son: MicroScan, Vitek, ATB, Pasco, Wider, Phoenix.

3.3 Conservación de cepas de referencia

Las cepas deben conservarse correctamente, para obtener resultados válidos y confiables. Los tres objetivos que hay que alcanzar para conservar correctamente las cepas microbianas en los laboratorios de microbiología son: que el cultivo a conservar sea puro, evitando que se produzcan contaminaciones durante el proceso de conservación; que durante el tiempo de conservación sobrevivan al menos el 70-80% de las células, y, por último, que estas células permanezcan genéticamente estables. Los dos primeros objetivos no son muy difíciles de conseguir cuando se conoce bien la técnica microbiológica, pero el tercero puede presentar dificultades, y este es el motivo por el cual existen varios métodos de conservación para los microorganismos, y ninguno de ellos es de utilización general.⁷

Actualmente existe una gran cantidad de métodos de conservación de microorganismos, que se detallan a continuación:

- Liofilización
- Congelación
- Conservación por cultivo continuo

El método de liofilización es uno de los mejores para conservar las cepas de referencia; ya que permite que no se dé el crecimiento en las células conservadas, puesto que se les ha quitado el agua mediante un proceso suave. Con ello la estabilidad genética es alta, ya que se les ha quitado el agua mediante un proceso suave.¹

Por el método de congelación se congelan las células en suspensión en un líquido con un agente crio-protector, algunos de los agentes más utilizados son leche descremada, azúcares solubles en agua y glicerol, se guardan a temperaturas inferiores a cero grados centígrados, con lo que el agua

se congela. De esta forma, al no disponer las células de agua en forma líquida, no hay crecimiento.¹

En la conservación por transferencia periódica, la cepa microbiana se guarda en forma de cultivo activo en el medio de cultivo en el que ha crecido, sin embargo, las células no pueden permanecer indefinidamente en el mismo tubo, porque al seguir activas excretan productos tóxicos del metabolismo que se acumulan, provocando el envejecimiento y muerte celular; con este método es muy difícil conseguir la estabilidad genética, ya que al estar creciendo hay una alternancia de generaciones.¹

L-drying, este es un método mediante la remoción del agua libre del medio, y consiste en un sistema que consta de una bomba de vacío para reducir la presión del sistema, la que está unida a una trampa de agua cuya función es retener el agua que se remueve de viales que contienen una suspensión de microorganismos, mediante la reducción de la presión del sistema a una temperatura fácil de alcanzar, ya que la temperatura propuesta es 20°C. Los viales unidos al sistema por un tubo distribuidor una vez terminado el procedimiento, pueden al final ser llenados con una atmósfera inerte, cortados y sellados con una llama.¹

CAPITULO IV

4.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Se reconstituyeron siete cepas liofilizadas que contenían un gránulo de microorganismos liofilizados, una ampolla de fluido hidratante e hisopos de inoculación. Cada una de las cepas se reconstituyó en Agar Sangre ya que este medio contiene un alto valor nutritivo, permitiendo que las cepas crecieran favorablemente, se incubaron a 35 °C por 24 horas.

Las cepas de reserva se prepararon a partir del crecimiento de cada una de las cepas, a la placa de Agar Sangre se le agregó 4 mililitros de caldo tripticasa soya más glicerol, con un asa de drigalsky se removió todo el crecimiento obtenido y posteriormente se distribuyó 1 mililitro de cepa en cada criovial.

Posteriormente se prepararon las cepas de trabajo, se inoculó 0.5 mililitros de la cepa de reserva en caldo Trypticase Soya y se incubó a 35° C por 24 horas. Pasado el tiempo con una pipeta se distribuyó en los crioviales.

Una vez preparadas las cepas de reserva y de trabajo, los crioviales se rotularon de la siguiente forma, para su correspondiente identificación: nombre de la cepa, lote, tipo de cepa, fecha de fabricación, responsable. Se almacenaron en el ultracongelador a -70° C, para conservar su viabilidad y sus propiedades originales.

A continuación, se presenta las características fenotípicas de las cepas de reserva y de trabajo:

Tabla N° 1. Caracterización de cepas de reserva y trabajo de *Pseudomonas aeruginosa*.

Cepa ATCC	Morfología macroscópica	Morfología microscópica	Prueba de Catalasa	Prueba de oxidasa	Kit de prueba bioquímica
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Agar Cetrimide: Colonias planas verdes, de forma irregular; colonias pequeñas y compactas	Bacilos cortos gramnegativos	Formación de burbujas	Viraje a color púrpura	API 20NE 99.9 % probabilidad que sea <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Ver anexo 1)

Fuente: Elaboración propia

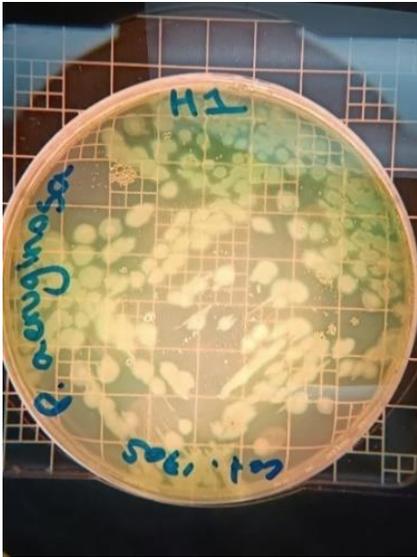


Figura N° 1. *P. aeruginosa* en agar Cetrimide

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 2. *P. aeruginosa* en agar Trypticase Soya

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 3. Catalasa positiva *P. aeruginosa*

Fuente: Elaboración propia

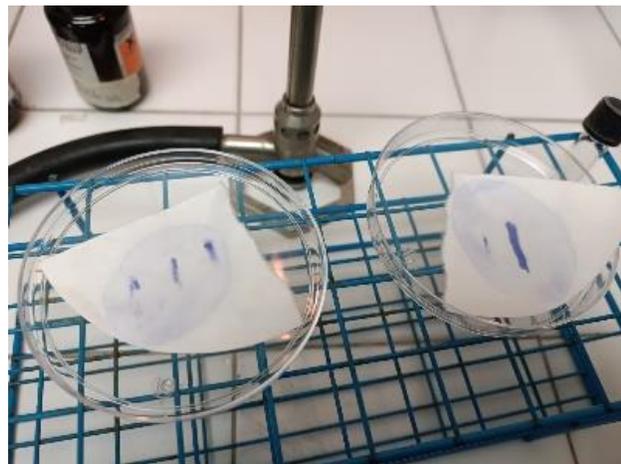


Figura N° 4. Oxidasa positiva *P. aeruginosa*

Fuente: Elaboración propia

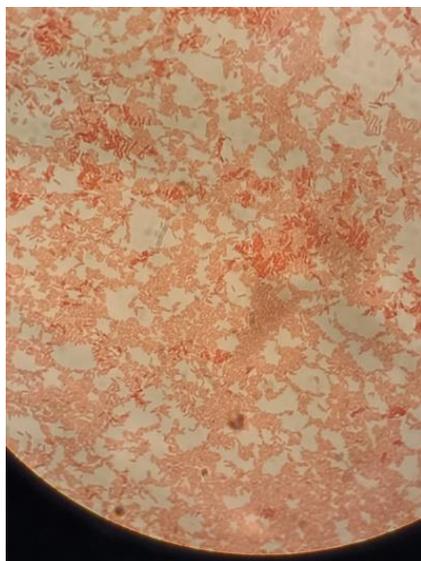


Figura N° 5. Morfología microscópica de *P. aeruginosa*

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 6. Sistema API 20NE, identificación de *P. aeruginosa*

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 2. Caracterización de cepas de reserva y trabajo de *Proteus mirabilis* y *Salmonella typhimurium*.

Cepa ATCC	Morfología macroscópica			Morfología microscópica	Prueba de catalasa	Prueba de oxidasa	Kit de prueba bioquímica
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Agar Hektoen Enteric: Colonias grandes, verdes y planas.	Agar Xilosa Lisina Desoxicolato: Colonias grandes, grises, convexas.	Agar Bismuto Sulfito: colonias café, convexas redondas	Bacilos cortos gram negativos	Formación de burbujas	Sin cambio de color	API 20E 99.9 % de probabilidad que sea <i>Proteus mirabilis</i> (Ver anexo 2)

Fuente: Elaboración propia

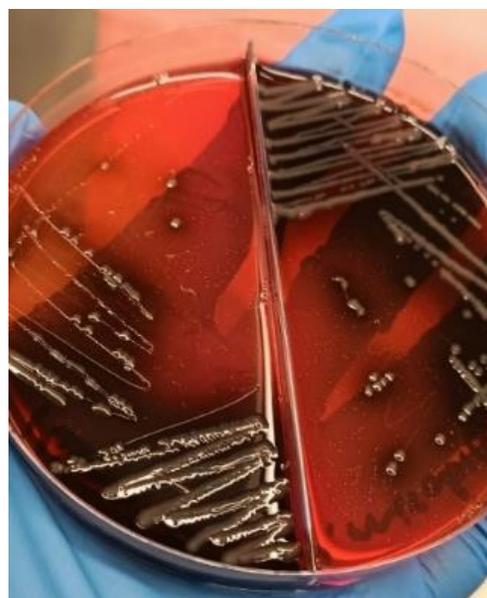
Tabla N° 2. (Continuación)

Cepa ATCC	Morfología macroscópica			Morfología microscópica	Prueba de catalasa	Prueba de oxidasa	Kit de prueba bioquímica
<i>Salmonella entérica subespecie Typhimurium</i> ATCC 14028	Agar Hektoen Enteric: Colonias grandes, redondas, verdes con centro negro, convexas	Agar Xilosa Lisina Desoxicolato: Colonias grandes, rojas con centro negro, convexas.	Agar Bismuto Sulfito: colonias redondas cafés, convexas	Bacilos cortos gram negativos	Formación de burbujas	Sin cambio de color	API 20E 99.8 % de probabilidad de que sea <i>Salmonella</i> spp. (Ver anexo 3)

Fuente: Elaboración propia

**Figura N° 7.** *P. mirabilis* en agar Hektoen Enteric

Fuente: Elaboración propia

**Figura N° 8.** *P. mirabilis* en agar Xilosa Lisina Desoxicolato

Fuente: Elaboración propia

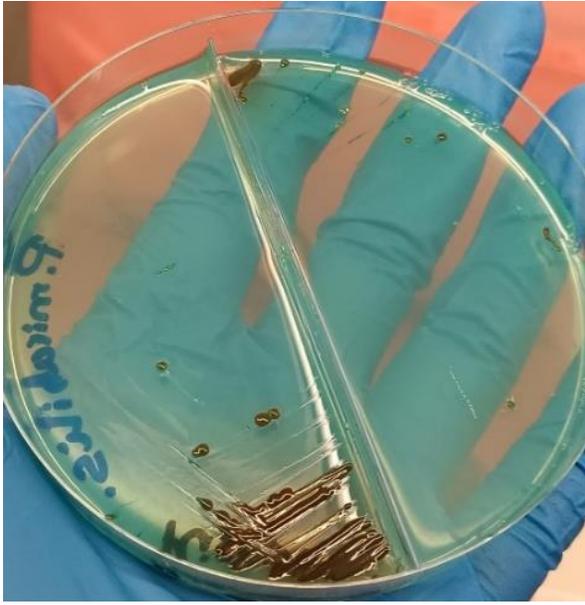


Figura N° 9. *P. mirabilis* en agar Bismuto Sulfito

Fuente: Elaboración propia

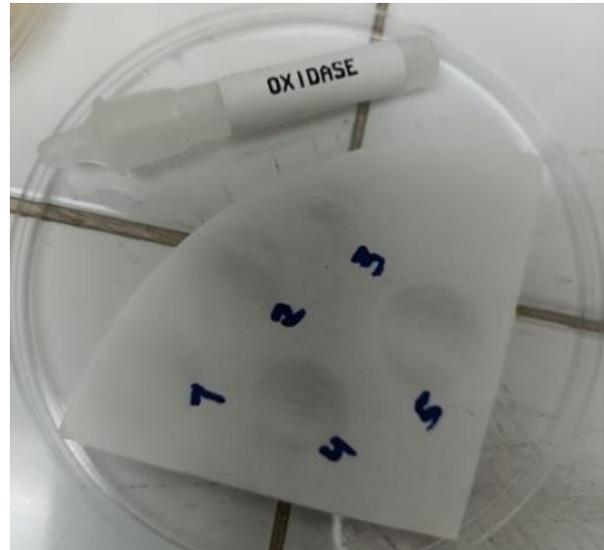


Figura N° 10. Oxidasa negativa *P. mirabilis*

Fuente: Elaboración propia

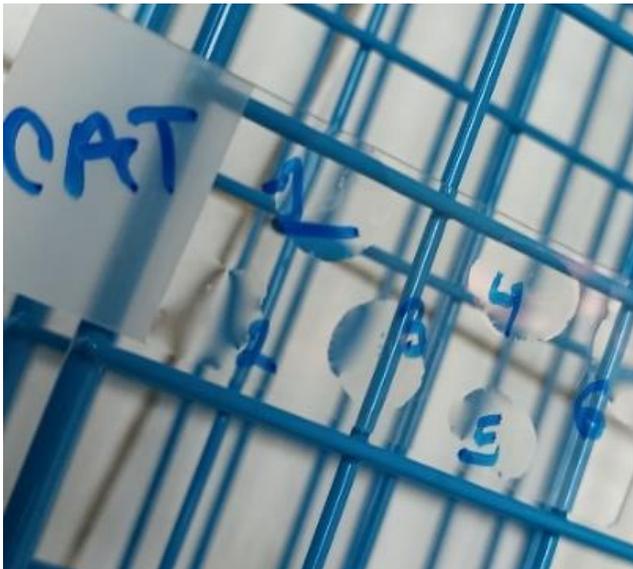


Figura N° 11. Catalasa positiva *P. mirabilis*

Fuente: Elaboración propia

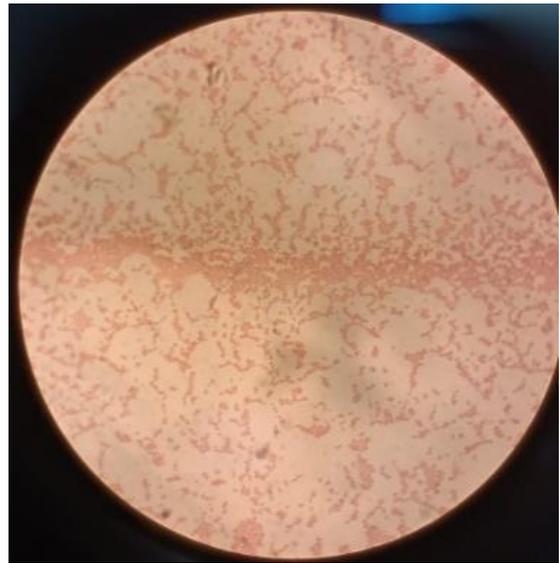


Figura N° 12. Morfología microscópica *P. mirabilis*

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 13. Sistema API 20E, identificación de *P. mirabilis*

Fuente: Elaboración propia

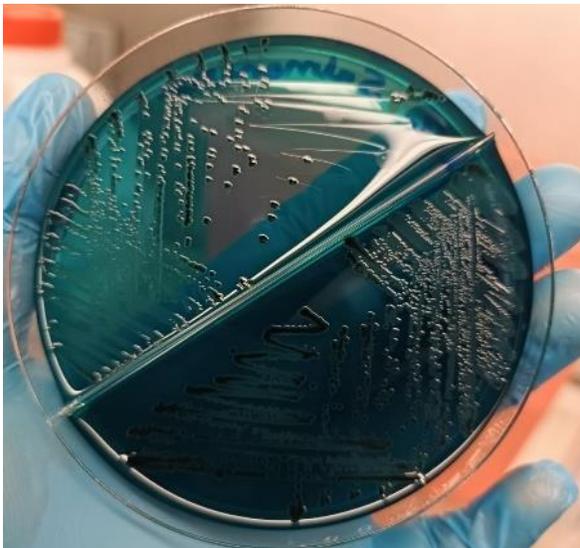


Figura N° 14. *S. typhimurium* en agar Hektoen Enteric

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 15. *S. typhimurium* en agar Xilosa Lisina Desoxicolato

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 16. *S. typhimurium* en agar Sulfito Bismuto

Fuente: Elaboración propia

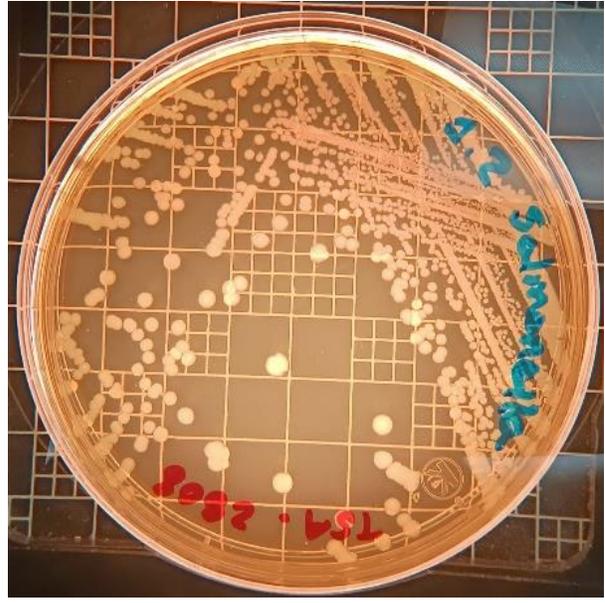


Figura N° 17. *S. typhimurium* en agar Tripticasa Soya

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 18. Catalasa positiva *S. typhimurium*

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 19. Oxidasa negativa *S. typhimurium*

Fuente: Elaboración propia

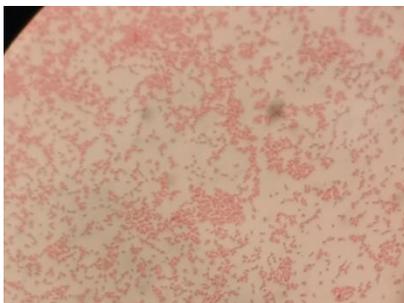


Figura N° 20. Morfología microscópica *S. typhimurium*

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 21. Sistema API 20E, identificación de *S. typhimurium*

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 3. Caracterización cepas de reserva y trabajo de *Listeria seeligeri*, *Listeria ivanovii* y *Listeria monocytogenes*.

Cepa ATCC	Morfología macroscópica		Morfología microscópica	Prueba de catalasa	Prueba de oxidasa	Kit de prueba bioquímica
<i>Listeria seeligeri</i> ATCC 35967	Agar Oxford: colonias verdosas, pequeñas, umbilicadas	Agar Palcam: colonias grises, pequeñas, umbilicadas	Bacilos cortos gram positivos	Formación de burbujas	Sin cambio de color	Sistema Vitek 99 % de probabilidad de que sea <i>Listeria seeligeri</i> (Ver anexo 4)
<i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119	Agar Oxford: colonias verdosas, pequeñas, umbilicadas	Agar Palcam: colonias grises, pequeñas, umbilicadas	Bacilos cortos gram positivos	Formación de burbujas	Sin cambio de color	Sistema Vitek 99 % de probabilidad de que sea <i>Listeria ivanovii</i> (Ver anexo 5)

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 3. (Continuación)

Cepa ATCC	Morfología macroscópica		Morfología microscópica	Prueba de catalasa	Prueba de oxidasa	Kit de prueba bioquímica
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19114	Agar Oxford: colonias verdosas, pequeñas, umbilicadas	Agar Palcam: colonias grises, pequeñas, umbilicadas	Bacilos cortos gram positivos	Formación de burbujas	Sin cambio de color	Sistema Vitek 99 % de probabilidad de que sea <i>Listeria innocua</i> , con posibilidad de <i>Listeria monocytogenes</i> (Ver anexo 6)

Fuente: Elaboración propia

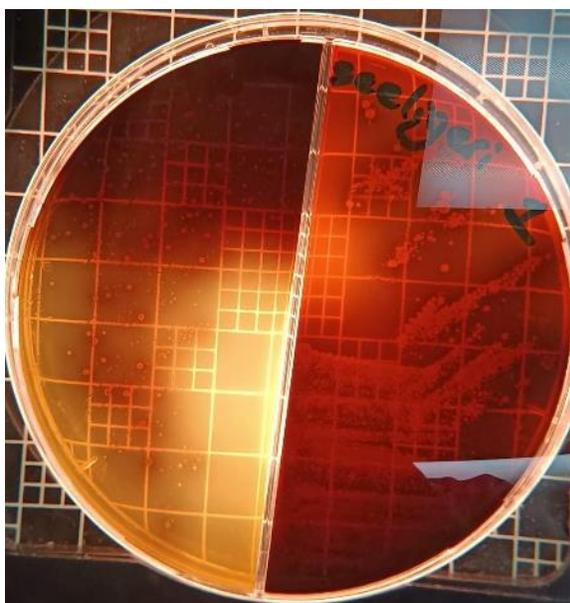


Figura N° 22. *L. seeligeri* en agar Oxford y Palcam

Fuente: Elaboración propia

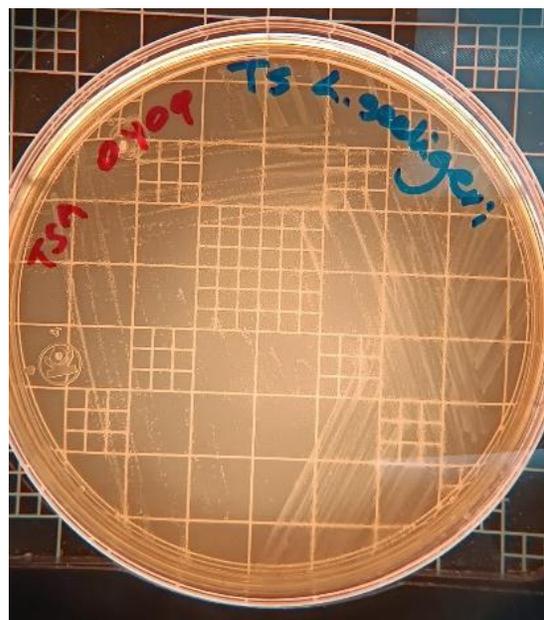


Figura N° 23. *L. seeligeri* en agar Trypticase Soya

Fuente: Elaboración propia

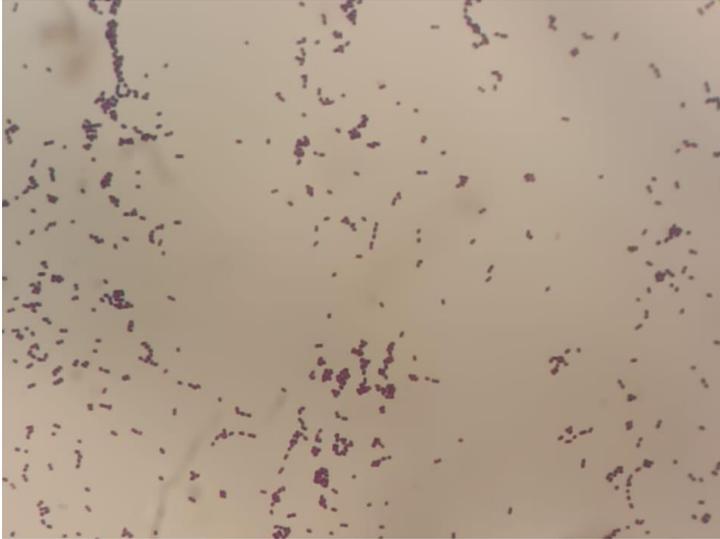


Figura N° 24. Morfología microscópica *L. seeligeri*

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 25. Catalasa positiva *L. seeligeri*

Fuente: Elaboración propia

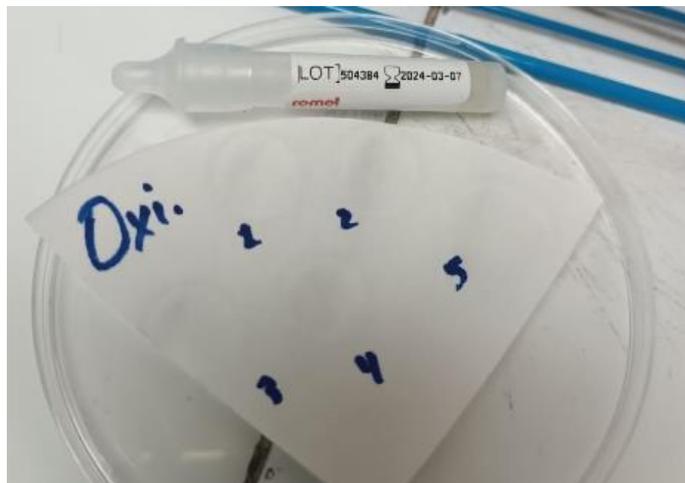


Figura N° 26. Oxidasa negativa
L. seeligeri

Fuente: Elaboración propia

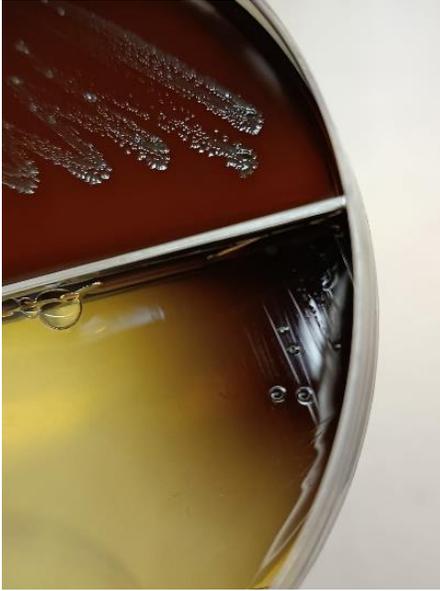


Figura N° 27. *L. ivanovii* en agar Oxford y Palcam

Fuente: Elaboración propia

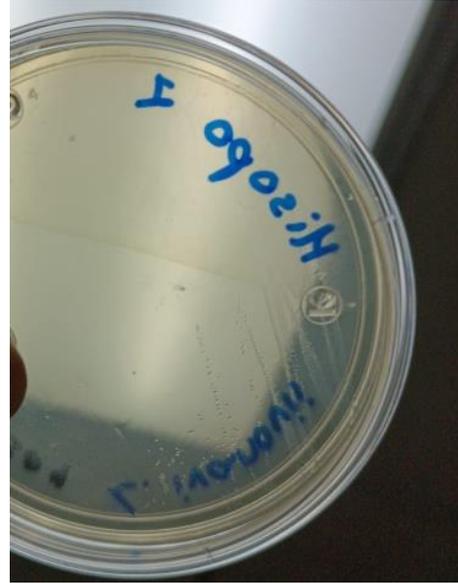


Figura N° 28. *L. ivanovii* en agar Trypticase Soya

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 29. Catalasa positiva *L. ivanovii*

Fuente: Elaboración propia

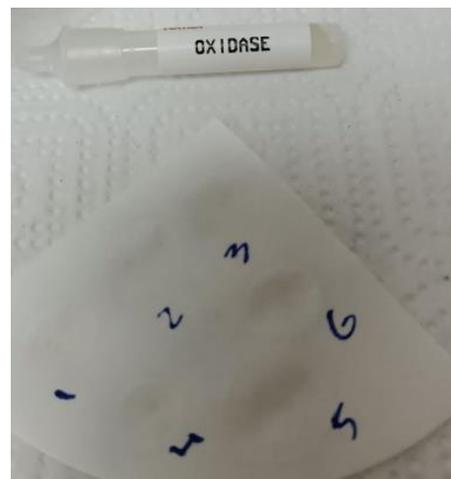


Figura N° 30. Oxidasa negativa *L. ivanovii*

Fuente: Elaboración propia

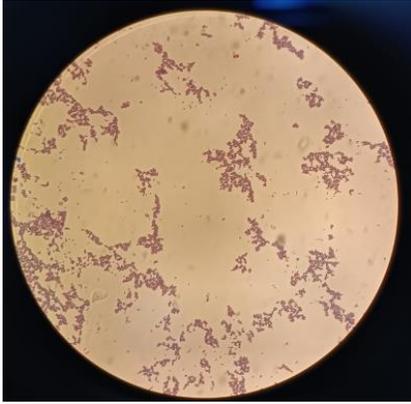


Figura N° 31. Morfología microscópica *L. ivanovii*

Fuente: Elaboración propia

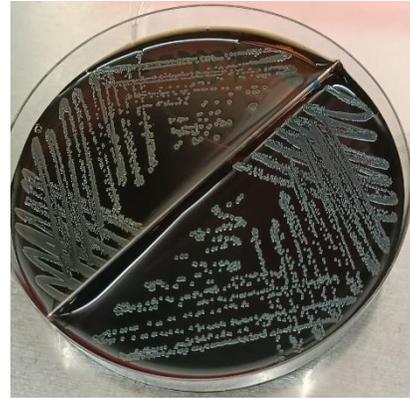


Figura N° 32. *L. monocytogenes* en agar Oxford y Palcam

Fuente: Elaboración propia

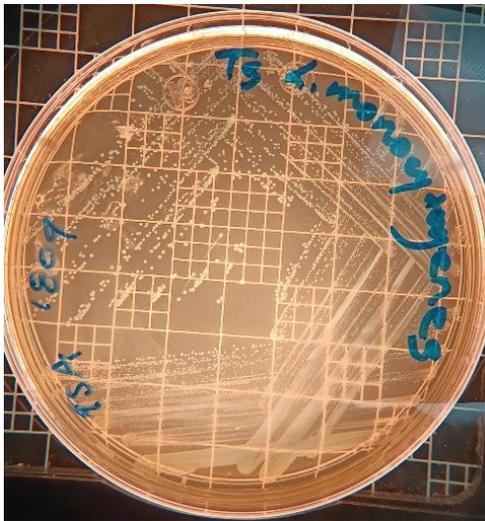


Figura N° 33. *L. monocytogenes* en agar Trypticase Soya

Fuente: Elaboración propia

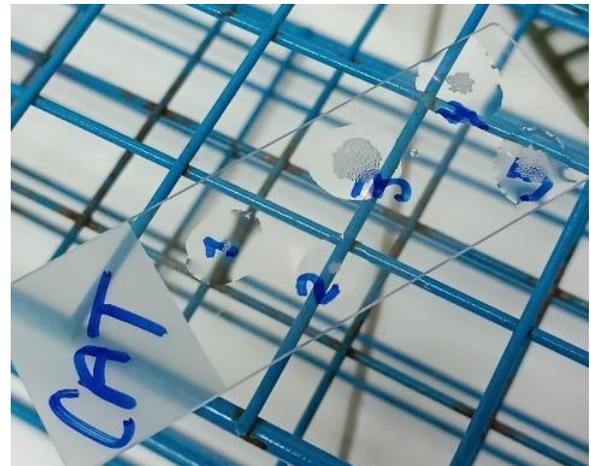


Figura N° 34. Catalasa positiva *L. monocytogenes*

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 35. Oxidasa negativa
L. monocytogenes

Fuente: Elaboración propia

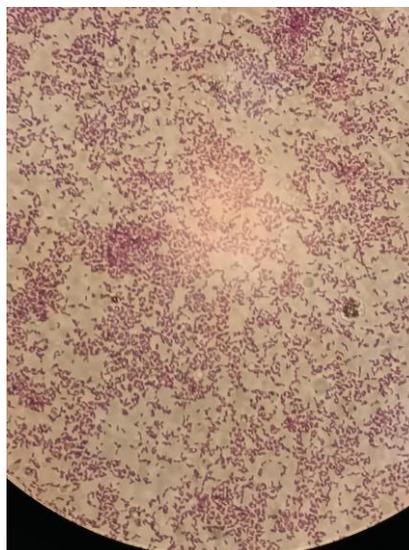


Figura N° 36. Morfología
microscópica *L. monocytogenes*

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 4. Caracterización cepas de reserva y trabajo *Staphylococcus aureus*.

Cepa ATCC	Morfología macroscópica	Morfología microscópica	Prueba de catalasa	Prueba de oxidasa	Kit de prueba bioquímica
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Agar Baird Parker: colonias medianas, redondas, color café con halo, convexas.	Cocos gram positivos	Formación de burbujas	Sin cambio de color	API Staph 97.7 % de probabilidad de que sea <i>Staphylococcus aureus</i> (Ver anexo 7)

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 37. *S. aureus* en agar Baird Parker

Fuente: Elaboración propia

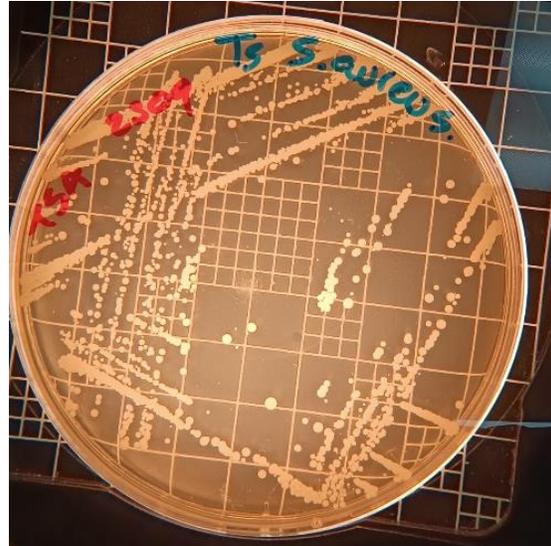


Figura N° 38. *S. aureus* en agar Trypticase Soya

Fuente: Elaboración propia

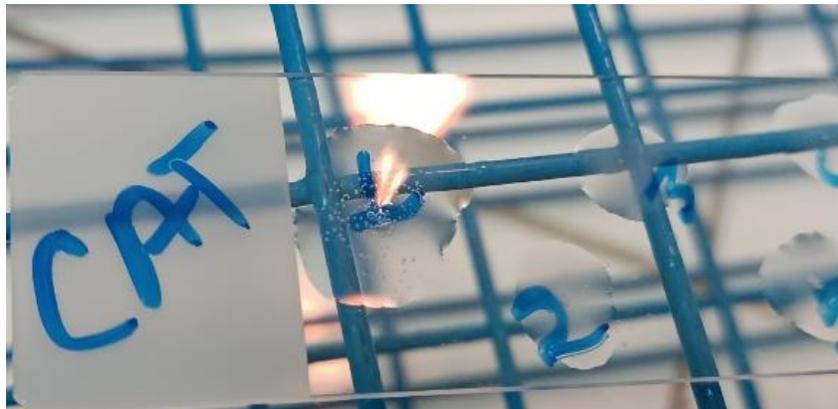


Figura N° 39. Catalasa positiva *S. aureus*

Fuente: Elaboración propia

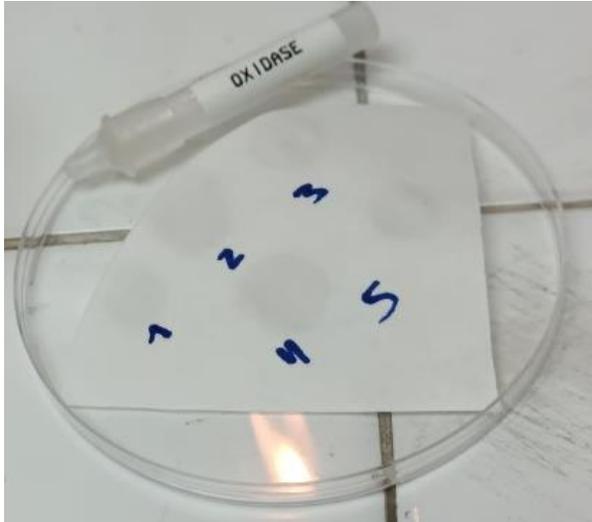


Figura N° 40. Oxidasa negativa
S. aureus

Fuente: Elaboración propia

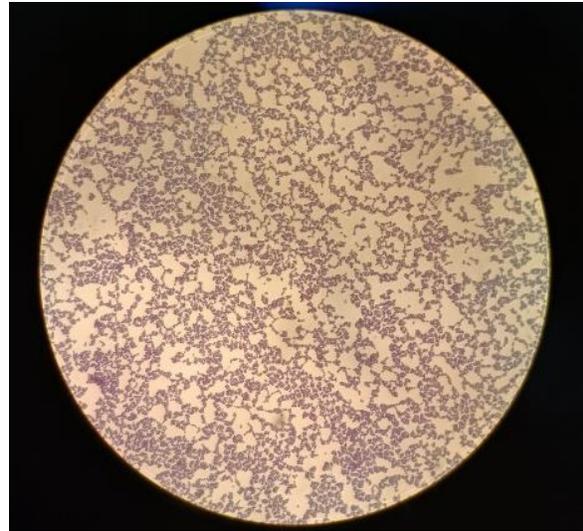


Figura N° 41. Morfología
microscópica *S. aureus*

Fuente: Elaboración propia

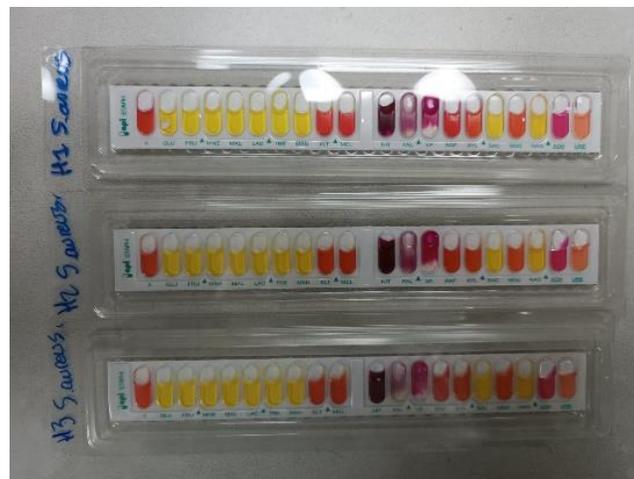


Figura N° 42. Sistema API Staph, identificación
de *S. aureus*

Fuente: Elaboración propia

Procedimiento para reconstituir cepas liofilizadas ATCC

1. A partir del cultivo de referencia en presentación de hisopos (tercer pasaje) se debe presionar la ampolla en la parte superior para liberar el líquido de hidratación. Romper la ampolla una sola vez.
2. Sostener verticalmente y dar pequeños golpes contra una superficie dura para facilitar el flujo del fluido.
3. Presionar varias veces la parte inferior de la unidad para triturar la microesfera en el fluido.
4. Saturar fuertemente el hisopo con el material hidratado, luego estriar en el medio de agar nutritivo y medios selectivos. Estriar en la placa por agotamiento, para obtener colonias aisladas, usar un asa bacteriológica estéril.
5. Desechar el hisopo en el recipiente de riesgos biológicos
6. Incubar las placas a la temperatura y condiciones apropiadas para el microorganismo.
7. Confirmar características fenotípicas de las colonias.

Procedimiento para preparar las cepas de reserva.

1. Transcurrido el tiempo de incubación de las placas agregar caldo tripticasa soya más glicerol y resuspender con asa de drigalski, de modo que se pueda remover todo el crecimiento bacteriano.
2. Aspirar el líquido con pipeta estéril y distribuir en crioviales.
3. Rotular los crioviales y almacenarlos a -70°C .
4. Registrar y documentar en bitácora respectiva.

Procedimiento para preparar cepas de trabajo

1. Retirar del ultracongelador el criovial necesario y transferir alícuotas en tubos con caldo de tripticasa soya más glicerol.
2. Incubar los tubos a la temperatura y condiciones apropiadas.
3. Transcurrido el tiempo de incubación estriar cada tubo en medios selectivos.
4. Transferir alícuotas de los tubos que contienen caldo tripticasa soya a crioviales estériles.
5. Rotular los crioviales y almacenarlos a -70°C .
6. Registrar y documentar en bitácora respectiva.

Procedimiento para caracterizar cepas de referencia

1. Verificar colonias y describirlas conforme su tamaño, color, borde, elevación, consistencia.
2. De una colonia proveniente de agar Tripticasa soya, picar una colonia y realizar prueba de oxidasa y catalasa.
3. Realizar tinción de gram, partiendo de una colonia proveniente de un cultivo en agar Tripticasa soya.
4. Realizar prueba API o utilizar tarjetas para identificación bacteriana mediante sistema VITEK.

CAPITULO V

5.0 CONCLUSIONES

1. Se reconstituyeron seis hisopos por cada cepa liofilizada de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Listeria seeligeri*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria ivanovii*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*; dando lugar a cien crioviales de reserva por cada cepa.
2. Con la presente investigación se creó una colección de cepas de reserva, con lo que se contribuye a aportar al Laboratorio de Alimentos y Toxicología, 7 cepas bacterianas distribuidas en crioviales.
3. Se prepararon cien crioviales de cepas de trabajo por cada cepa liofilizada, las cuales podrán ser utilizadas en la preparación de controles positivos-negativos, evaluar medios de cultivo y en futuras validaciones de métodos microbiológicos dentro del Laboratorio de Alimentos y Toxicología.
4. Se confirmó la pureza de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Listeria seeligeri*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria ivanovii*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* ya que cada cepa presentó las características macroscópicas y microscópicas esperadas, además las pruebas de oxidasa y catalasa permitieron realizar la identificación preliminar de las siete cepas.
5. Las galerías multipuebas y el sistema VITEK permitieron identificar satisfactoriamente las cepas de *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *L. seeligeri*, *S. typhimurium*, *L. ivanovii* y *S. aureus*; sin embargo el sistema VITEK identificó la cepa de *L. monocytogenes* como *L. innocua*.

CAPITULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

1. A los futuros investigadores retomar esta investigación con el fin de evaluar otras características de las cepas como la homogeneidad y la estabilidad, para verificar que las bacterias mantienen sus características a lo largo del tiempo.
2. Al personal del Laboratorio de Alimentos y Toxicología del Instituto Nacional de Salud, realizar prueba de CAMP con *Staphylococcus aureus* o *Rhodococcus equi* para distinguir *Listeria monocytogenes* de *Listeria innocua*, y de otras especies del género *Listeria*.
3. A los analistas del Laboratorio de Alimentos y Toxicología se les recomienda utilizar las cepas de referencia de *Listeria monocytogenes* en los ensayos microbiológicos, luego de realizar su identificación definitiva.
4. A la Facultad de Química y Farmacia, continuar con las Prácticas Profesionales Supervisadas, ya que permiten consolidar los conocimientos teóricos-prácticos adquiridos durante la formación académica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ¹ Pacheco M, Serpas A. Evaluación de dos métodos para la conservación de cepas bacterianas de trabajo utilizadas en un laboratorio de control microbiológico de medicamentos. Universidad de El Salvador; 2013. [citado el 2 de noviembre de 2023]
- ² Burgos, T. INSTRUCCION TECNICA PARA EL MANEJO Y MANTENIMIENTO DE CULTIVOS DE REFERENCIA. Laboratorio de Alimentos y Toxicología. [citado el 2 de noviembre de 2023]
- ³ OTRAS COLECCIONES. (S/F). WWW.UV.ES, [citado el 2 de noviembre de 2023] Disponible en <http://https://www.uv.es/uvweb/coleccion-espanola-cultivos-tipo/es/cect/recursos-informacion/otras-colecciones-1285889197463.html>
- ⁴ Microbiology of food, animal feeding stuffs and water -Preparation, production, storage and performance testing of culture media. [citado el 2 de noviembre de 2023] <https://infostore.saiglobal.com/preview/is/en/2014/i.s.eniso11133-2014%2Ba1-2018.pdf?sku=1734447>.: EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION C O M I T É E U R O P É E N D E N O R M A L I S A T I O N E U R O P Ä I S C H E S K O M I T E E F Ü R N O R M U N G;
- ⁵ Olmos Ana, García Celia, Sáez Juan, Valdezate Sylvia. Metodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología [Internet]. [citado el 2 de noviembre de 2023] 2010. Disponible en: <file:///D:/PPS/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- ⁶ Pérez-Reytor DC, Campos LY, Domínguez I, Sosa AE. Verificación rápida de la pureza microbiológica de bancos de Escherichia coli K12. Biotecnología Aplicada 2003; 20(4):231-7. [citado el 2 de noviembre de 2023] Disponible en: <https://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2003/20/4/BA002004231-237OC.pdf>
- ⁷ López M, Fernández F. La conservación de cepas microbianas. [Internet]. Wwww.uv.es. [citado el 2 de noviembre de 2023]. Disponible en: https://www.uv.es/cect2/87_Conservacion_cepas_microbianas

ANEXOS

ANEXO N° 1

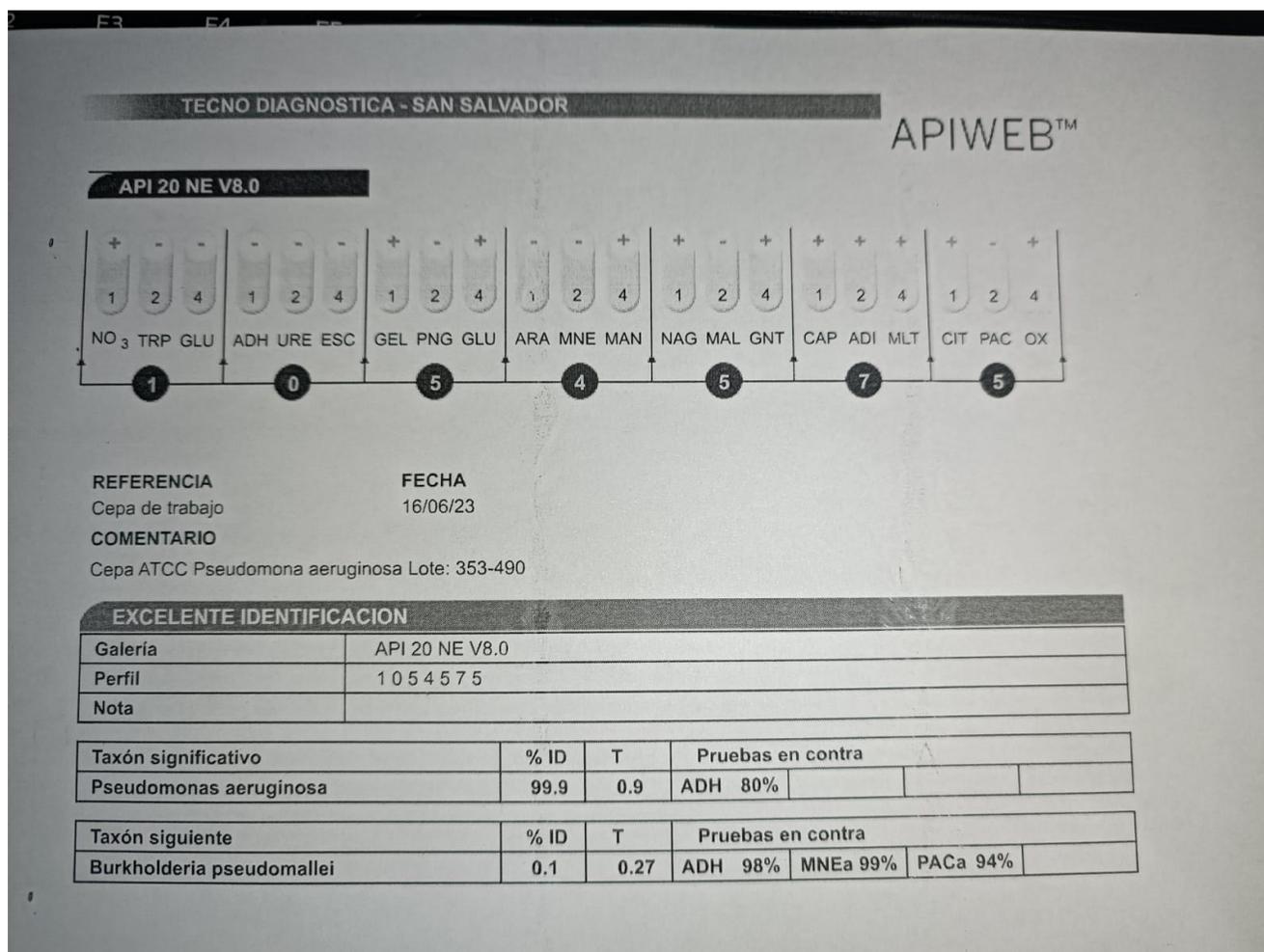


Figura N° 43. Reporte de resultados API 20NE de *P. aeruginosa*

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 2

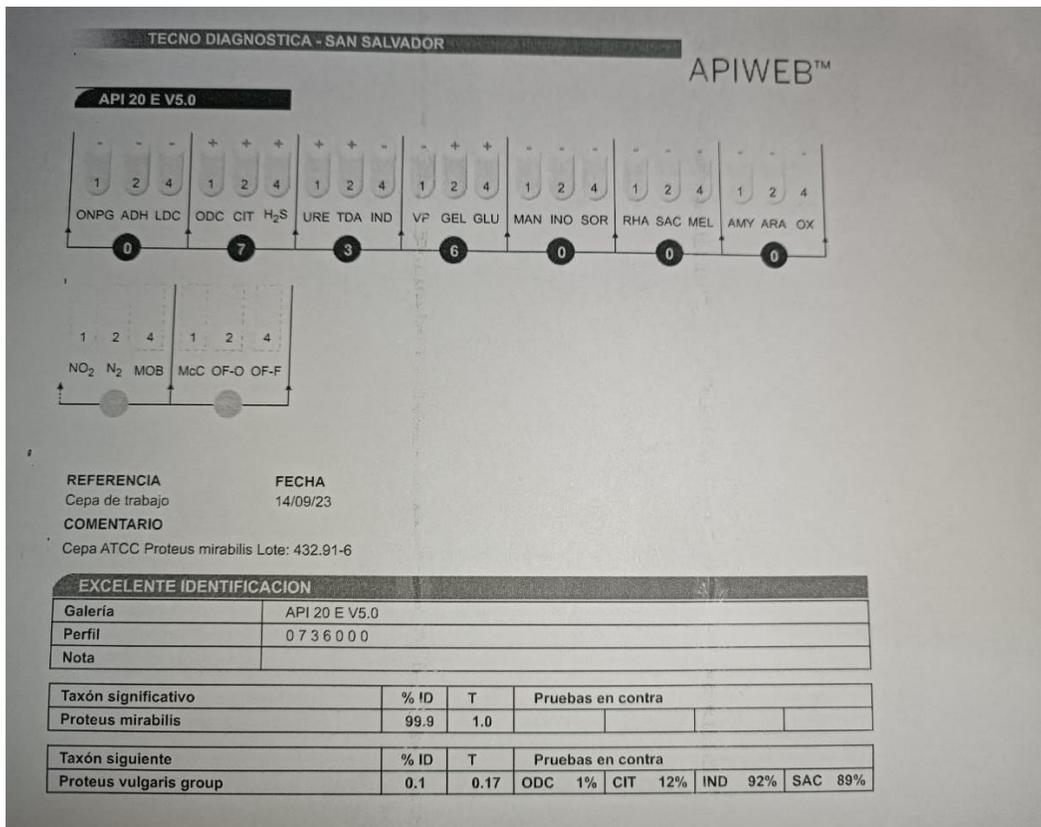


Figura N° 44. Reporte de resultados API 20E de *P. mirabilis*

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 3

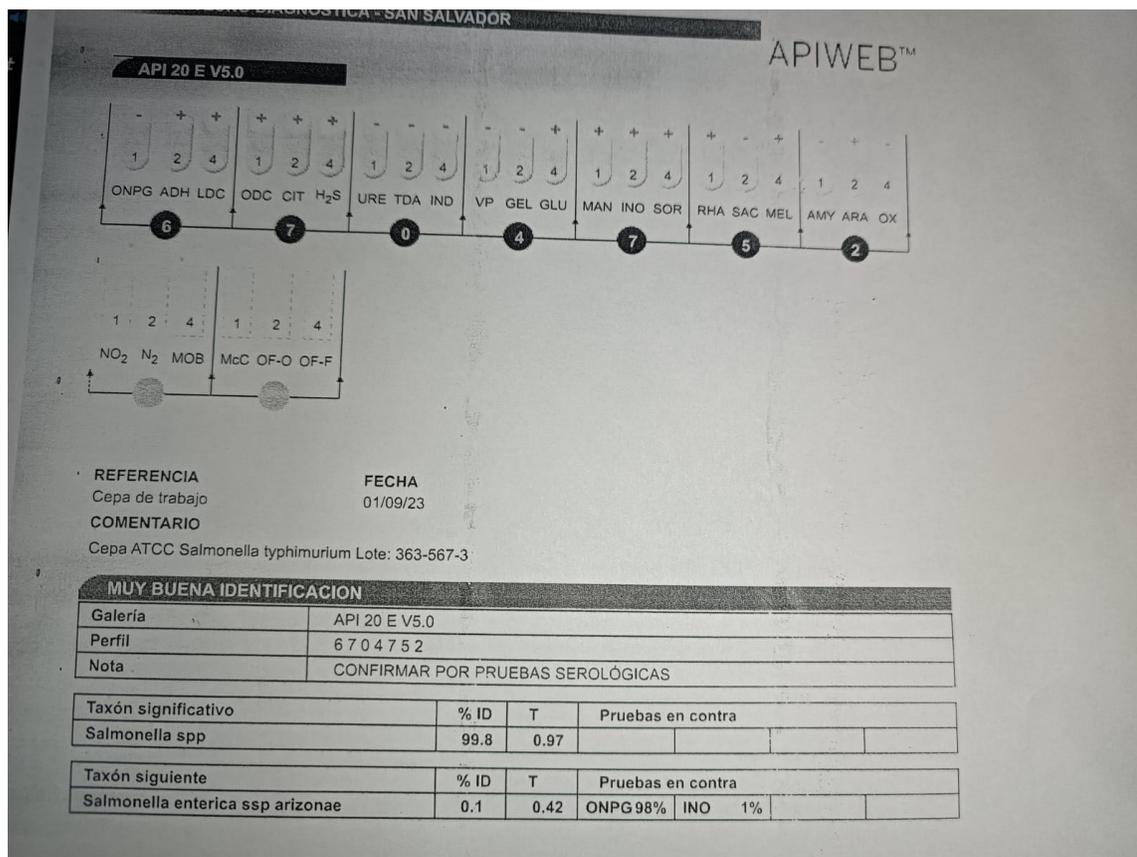


Figura N° 45. Reporte de resultados API 20E de *S. typhimurium*

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 4

Cliente de bioMérieux: Equipo N°: Nombre del paciente: Aislamiento: <i>L. seeligeri</i> H194-1 (Calificados) Tipo de tarjeta: GP Código de barras: 2422266403014258 Prueba de instrumento: 00000A726CDA (L. N. R.) Técnico de preparación: Laboratorio Nacional de Referencia(Bacalimentos)	Informe de examen	Editado por: Labadmin N° paciente:															
Bionúmero: 542010204733621 Cantidad de organismo:																	
Organismo seleccionado: <i>Listeria seeligeri</i>																	
Comentarios:	<table border="1" style="width: 100%; height: 40px;"> <tr><td> </td></tr> <tr><td> </td></tr> <tr><td> </td></tr> </table>																
Información de identificación	Tarjeta: GP Estado: Final	N° de lote: 2422266403 Tiempo de análisis: 6,82 horas	Fecha caduc.: 09-feb-2024 12:00 CST Finalizado: 07-sep-2023 15:33 CST														
Origen del organismo		VITEK 2															
Organismo seleccionado		99% Probabilidad <i>Listeria seeligeri</i> Bionúmero: 542010204733621 Nivel de confianza: Identificación excelente															
Organismos de análisis y pruebas a separar:																	
Mensajes análisis:																	
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s)																	
Detalles bioquímicos																	
2	AMY	+	4	PIPLC	-	5	dXYL	+	8	ADH1	-	9	BGAL	-	11	AGLU	+
13	APPA	-	14	CDEX	+	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	+	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	-	27	BGUR	-
28	AlaA	-	29	TyrA	+	30	dSOR	-	31	URE	-	32	POLYB	-	37	dGAL	-
38	dRIB	-	39	ILATk	-	42	LAC	+	44	NAG	+	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	+	50	NC6.5	+	52	dMAN	-	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	+	59	SAL	+	60	SAC	-	62	dTRE	+	63	ADH2s	-
64	OPTO	+															
Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02 Guía de interpretación de CMI: Nombre de juego de parámetros de AES:				Guía de interpretación terapéutica: Última modificación de parámetros de AES: Página 1 de 2													

Figura N° 46. Reporte de resultados VITEK de *L. seeligeri*

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 5

Cliente de bioMérieux: Equipo N°: Nombre del paciente: Aislamiento: L. ivanovii 2-1 (Calificados) Tipo de tarjeta: GP Código de barras: 2422153403242886 Prueba de instrumento: 00000A726CDA (L. N. R.) Técnico de preparación: Laboratorio Nacional de Referencia(Bacalimentos)	Informe de examen	Editado por: Bacalimentos N° paciente:																																																																																																																																																
Bionúmero: 742010222513401 Cantidad de organismo:																																																																																																																																																		
Organismo seleccionado: Listeria ivanovii ssp ivanovii																																																																																																																																																		
Comentarios:																																																																																																																																																		
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">Información de identificación</td> <td style="width: 20%;">Tarjeta: GP</td> <td style="width: 20%;">N° de lote: 2422153403</td> <td style="width: 40%;">Fecha caduc.: 19-oct-2023 12:00 CST</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Estado: Final</td> <td>Tiempo de análisis: 3,35 horas</td> <td>Finalizado: 25-abr-2023 17:22 CST</td> </tr> </table>			Información de identificación	Tarjeta: GP	N° de lote: 2422153403	Fecha caduc.: 19-oct-2023 12:00 CST		Estado: Final	Tiempo de análisis: 3,35 horas	Finalizado: 25-abr-2023 17:22 CST																																																																																																																																								
Información de identificación	Tarjeta: GP	N° de lote: 2422153403	Fecha caduc.: 19-oct-2023 12:00 CST																																																																																																																																															
	Estado: Final	Tiempo de análisis: 3,35 horas	Finalizado: 25-abr-2023 17:22 CST																																																																																																																																															
Origen del organismo: VITEK 2																																																																																																																																																		
Organismo seleccionado: 99% Probabilidad Listeria ivanovii ssp ivanovii Bionúmero: 742010222513401 Nivel de confianza: Identificación excelente																																																																																																																																																		
Organismos de análisis y pruebas a separar: Listeria ivanovii Listeria ivanovii ssp ivanovii dRIBOSE(99), Listeria ivanovii ssp londoniensis dRIBOSE(1),																																																																																																																																																		
Mensajes análisis:																																																																																																																																																		
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s)																																																																																																																																																		
Detalles bioquímicos <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr> <td>2</td><td>AMY</td><td>+</td><td>4</td><td>PIPLC</td><td>+</td><td>5</td><td>dXYL</td><td>+</td><td>8</td><td>ADH1</td><td>-</td><td>9</td><td>BGAL</td><td>-</td><td>11</td><td>AGLU</td><td>+</td> </tr> <tr> <td>13</td><td>APPA</td><td>-</td><td>14</td><td>CDEX</td><td>+</td><td>15</td><td>AspA</td><td>-</td><td>16</td><td>BGAR</td><td>-</td><td>17</td><td>AMAN</td><td>-</td><td>19</td><td>PHOS</td><td>-</td> </tr> <tr> <td>20</td><td>LeuA</td><td>+</td><td>23</td><td>ProA</td><td>-</td><td>24</td><td>BGURr</td><td>-</td><td>25</td><td>AGAL</td><td>-</td><td>26</td><td>PyrA</td><td>-</td><td>27</td><td>BGUR</td><td>-</td> </tr> <tr> <td>28</td><td>AlaA</td><td>-</td><td>29</td><td>TyrA</td><td>+</td><td>30</td><td>dSOR</td><td>-</td><td>31</td><td>URE</td><td>-</td><td>32</td><td>POLYB</td><td>+</td><td>37</td><td>dGAL</td><td>-</td> </tr> <tr> <td>38</td><td>dRIB</td><td>-</td><td>39</td><td>ILATk</td><td>+</td><td>42</td><td>LAC</td><td>-</td><td>44</td><td>NAG</td><td>+</td><td>45</td><td>dMAL</td><td>-</td><td>46</td><td>BACI</td><td>+</td> </tr> <tr> <td>47</td><td>NOVO</td><td>+</td><td>50</td><td>NC6.5</td><td>-</td><td>52</td><td>dMAN</td><td>-</td><td>53</td><td>dMNE</td><td>+</td><td>54</td><td>MBdG</td><td>+</td><td>56</td><td>PUL</td><td>-</td> </tr> <tr> <td>57</td><td>dRAF</td><td>-</td><td>58</td><td>O129R</td><td>-</td><td>59</td><td>SAL</td><td>+</td><td>60</td><td>SAC</td><td>-</td><td>62</td><td>dTRE</td><td>-</td><td>63</td><td>ADH2s</td><td>-</td> </tr> <tr> <td>64</td><td>OPTO</td><td>+</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>			2	AMY	+	4	PIPLC	+	5	dXYL	+	8	ADH1	-	9	BGAL	-	11	AGLU	+	13	APPA	-	14	CDEX	+	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-	20	LeuA	+	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	-	27	BGUR	-	28	AlaA	-	29	TyrA	+	30	dSOR	-	31	URE	-	32	POLYB	+	37	dGAL	-	38	dRIB	-	39	ILATk	+	42	LAC	-	44	NAG	+	45	dMAL	-	46	BACI	+	47	NOVO	+	50	NC6.5	-	52	dMAN	-	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-	57	dRAF	-	58	O129R	-	59	SAL	+	60	SAC	-	62	dTRE	-	63	ADH2s	-	64	OPTO	+															
2	AMY	+	4	PIPLC	+	5	dXYL	+	8	ADH1	-	9	BGAL	-	11	AGLU	+																																																																																																																																	
13	APPA	-	14	CDEX	+	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-																																																																																																																																	
20	LeuA	+	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	-	27	BGUR	-																																																																																																																																	
28	AlaA	-	29	TyrA	+	30	dSOR	-	31	URE	-	32	POLYB	+	37	dGAL	-																																																																																																																																	
38	dRIB	-	39	ILATk	+	42	LAC	-	44	NAG	+	45	dMAL	-	46	BACI	+																																																																																																																																	
47	NOVO	+	50	NC6.5	-	52	dMAN	-	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-																																																																																																																																	
57	dRAF	-	58	O129R	-	59	SAL	+	60	SAC	-	62	dTRE	-	63	ADH2s	-																																																																																																																																	
64	OPTO	+																																																																																																																																																
Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02 Guía de interpretación de CMI: Nombre de juego de parámetros de AES:																																																																																																																																																		
Guía de interpretación terapéutica: Última modificación de parámetros de AES: Página 1 de 2																																																																																																																																																		

Figura N° 47. Reporte de resultados VITEK de *L. ivanovii*

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 6

Cliente de bioMérieux: Equipo N°: Nombre del paciente: Aislamiento: L. MONOCITOGENE-1 (Calificados) Tipo de tarjeta: GP Código de barras: 2422266403013968 Prueba de instrumento: 00000A726CDA (L. N. R.) Técnico de preparación: Laboratorio Nacional de Referencia(Bacalimentos)	Informe de examen	Editado por: Labadmin N° paciente:															
Bionúmero: 142200220733631 Cantidad de organismo: Organismo seleccionado: Listeria innocua																	
Comentarios:	<table border="1" style="width: 100%; height: 40px;"> <tr><td> </td></tr> <tr><td> </td></tr> <tr><td> </td></tr> </table>																
Información de identificación	Tarjeta: GP Estado: Final	N° de lote: 2422266403 Tiempo de análisis: 7,78 horas	Fecha caduc.: 09-feb-2024 12:00 CST Finalizado: 21-sep-2023 16:58 CST														
Origen del organismo	VITEK 2																
Organismo seleccionado	95% Probabilidad Listeria innocua Bionúmero: 142200220733631 Nivel de confianza: Identificación muy buena																
Organismos de análisis y pruebas a separar:																	
Mensajes análisis: Véanse datos adicionales en la información sobre el producto. Posibilidad de Listeria monocytogenes. Verificar la beta-hemólisis																	
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s) Listeria innocua SAC(1),																	
Detalles bioquímicos																	
2	AMY	+	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	-	9	BGAL	-	11	AGLU	+
13	APPA	-	14	CDEX	+	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	+	19	PHOS	-
20	LeuA	-	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	-	27	BGUR	-
28	AlaA	-	29	TyrA	+	30	dSOR	-	31	URE	-	32	POLYB	+	37	dGAL	-
38	dRIB	-	39	ILATk	-	42	LAC	-	44	NAG	+	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	+	50	NC6.5	+	52	dMAN	-	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	+	59	SAL	+	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	-
64	OPTO	+															

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02
 Guía de interpretación de CMI:
 Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:
 Última modificación de parámetros de AES:
 Página 1 de 2

Figura N° 48. Reporte de resultados VITEK de *L. monocytogenes*

Fuente: Elaboración propia

