



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia
Reestructuración, 2015



**Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia**



**Manual de Prácticas
Bacteriología y Micología Veterinaria**

MVZ. Salvador Lagunas Bernabé

M. en C. Ada Elia González Borja

Elaboró: M. en C. Luis Fernando Vega Castillo

Fecha: 29/10/2018

IAF. María Lourdes García Bello

QFB. Roberto Héctor Díaz Guadarrama

**Fecha de
aprobación**

H. Consejo académico
29/10/2018

H. Consejo de Gobierno
29/10/2018



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia
Reestructuración, 2015



**Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

ULTIMA REVISIÓN



Revisores:

M. en C. Ada Elia Díaz González Borja

**Fecha de
aprobación**

28/01/2025

H. Consejo Académico

28/01/2025

H. Consejo de Gobierno



Índice

	Pág.
I. Datos de identificación	4
II. Introducción	5
III. Lineamientos	5
IV. Organización y desarrollo de las prácticas	6
Práctica 1 Toma de muestras en Explotaciones, Zoológicos, Hospitales y CIESA para el proceso de aislamiento e Identificación de bacterias y hongos	6
Práctica 2 Identificación morfológica y agrupación de bacterias y hongos.	10
Práctica 3 Influencia de factores nutricionales y ambientales sobre el crecimiento de bacterias y hongos.	14
Práctica 4 Aislamiento, identificación y prueba de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias que afectan tegumento, ojos, conjuntiva o glándula mamaria	17
Práctica 5 Aislamiento e identificación de hongos que afectan tegumento y glándula mamaria	22
Práctica 6 Aislamiento, identificación y prueba de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias que afectan el sistema digestivo	27
Práctica 7 Aislamiento e identificación de hongos que afectan el sistema digestivo	33
Práctica 8 Aislamiento, identificación y prueba de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias que afectan el sistema respiratorio o cardiaco	37
Práctica 9 Aislamiento e identificación de hongos que afectan el sistema respiratorio o cardiaco.	43
Práctica 10 Aislamiento, identificación y prueba de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias que afectan el sistema urogenital	47
Práctica 11 Aislamiento e identificación de hongos que afectan el sistema urogenital.	49
Práctica 12 Reconocimiento de bacterias y hongos transmitidos por los alimentos (ETA's)	52
V. Bibliografía	57



I. Datos de identificación

Espacio educativo donde se imparte	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia								
Licenciatura	Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia								
Unidad de aprendizaje	Bacteriología y Micología Veterinaria					Clave	L43785		
Carga académica	4	2	6	10					
	Horas teóricas	Horas prácticas	Total de horas	Créditos					
Período escolar en que se ubica	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Seriación	Microbiología			Ninguna					
	UA Antecedente			UA Consecuente					

Tipo de Unidad de Aprendizaje

Curso	☒	Curso taller	☐
Seminario	☐	Taller	☐
Laboratorio	☐	Práctica profesional	☐
Otro tipo (especificar)			

Modalidad educativa

Escolarizada. Sistema rígido	☐	No escolarizada. Sistema virtual	☐
Escolarizada. Sistema flexible	☒	No escolarizada. Sistema a distancia	☐
No escolarizada. Sistema abierto	☐	Mixta (especificar)	

Formación común

N/A	☐
☐	☐
☐	☐

Formación equivalente

Unidad de Aprendizaje
N/A



II. Introducción

El plan de estudios de la licenciatura de Médico Veterinario Zootecnista, establece un perfil profesional que debe de aplicar los conocimientos adquiridos en la unidad de aprendizaje Bacteriología y Micología, para dar solución a los problemas de salud de los animales en producción, ornamentales o de compañía mediante el diagnóstico oportuno. Para ello la unidad de aprendizaje Bacteriología y Micología en su fase práctica aborda los métodos de diagnóstico de laboratorio de acuerdo a cada unidad de competencia para la identificación y diagnóstico de las enfermedades causadas por bacterias u hongos de importancia veterinaria, de tal manera el profesional en formación integrará los conocimientos teórico-prácticos, ya que estos constituyen un factor primordial en el trabajo experimental debido a que ya conocen y aplican las reglas generales de seguridad e higiene que deben cumplirse con la finalidad de salvaguardar la integridad y seguridad del Médico Veterinario Zootecnista en la práctica profesional. En el caso de la Bacteriología y Micología Veterinaria el objeto de estudio son microorganismos que pueden ser causantes de enfermedades tanto en animales o en los humanos.

Este manual de prácticas de laboratorio de la unidad de Aprendizaje Bacteriología y Micología Veterinaria es una herramienta pedagógica que auxilia a los profesores y estudiantes en el proceso enseñanza aprendizaje, contribuyendo en la formación del Médico Veterinario Zootecnista congruente al perfil profesional establecido

III. Lineamientos

Es importante que el estudiante que cursa la unidad de aprendizaje Bacteriología y Micología Veterinaria, conozca y aplique los lineamientos de los lugares en donde realizará las prácticas por lo que en este apartado solo se describen algunos a considerar.

Para la toma de muestra en Explotaciones, Zoológicos, Hospitales y CIESA, deberá de leer el reglamento correspondiente, para no infringir o incurrir en una falta.

Para el trabajo dentro del laboratorio es obligatorio el uso de bata blanca y limpia, la cual debe abotonarse totalmente. No se permitirá la permanencia de estudiantes en el laboratorio sin bata. Está estrictamente prohibido fumar, ingerir alimentos o beber dentro del laboratorio. Cada equipo es responsable de su material, la limpieza del mismo y de la mesa, así como el cerrado de llave de gas, Antes y después de cada sesión práctica, los estudiantes limpiarán la mesa de trabajo asignada con el desinfectante que se le proporcionará. Quedan estrictamente prohibidas las visitas o alumnos que no pertenezcan al grupo dentro del laboratorio. Está prohibido la comunicación y circulación fuera de la mesa asignada. Ningún estudiante podrá retirarse si la sesión práctica no ha concluido. Cualquier imprevisto será resuelto por el profesor.

**IV. Organización y desarrollo de las prácticas**

Unidad I	Número de la práctica
Generalidades de Bacteriología y Micología	1

Objetivo o competencia de la práctica:

Establecer las directrices para la adecuada toma, conservación y envío de muestras con el propósito de realizar el aislamiento e identificación de los agentes bacterianos y/o micóticos que afectan a las poblaciones animales

Material biológico:

1. Muestras obtenidas

Material de muestreo:

1. Hisopos
2. Medio de Stuart o Cary-Blair o Amies
3. Torundas con alcohol al 70 %
4. Torundas con yodo al 2 %
5. Solución salina 0.8% estéril
6. Lápiz
7. Marcador
8. Hielera con refrigerantes
9. Frascos estériles de boca ancha rosca exterior
10. Guantes de látex
11. Jeringa 3, 5 y 10 mL.
12. Cinta adhesiva transparente
13. Mago de bisturí
14. Hoja para bisturí
15. Caja Petri vacía estéril
16. Portaobjetos estériles

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo

Equipo de protección personal

1. Bata blanca
2. Overol
3. Botas
4. Cubre bocas

Lugar de realización

1. Posta zootécnica de la FMVZ-UAEM



Desarrollo:

Heridas abiertas y exudados

1. Selección del sitio de donde recolectará la muestra
2. En caso de heridas y exudados en contacto con las partes muy sucias del animal, se debe lavar con agua (sin jabón) y secar la zona
3. Con un hisopo estéril, raspar la zona afectada evitando el contacto con cualquier otra parte
4. Introducir dentro de un tubo con medio de transporte y romper el mango del hisopo para eliminar la parte que ha estado en contacto con las manos
5. Tapar el tubo evitando contaminar su interior
6. Identificarlo
7. Conservar en refrigeración

Abscesos

1. En caso que haya pelo se recomienda rasurar (previa autorización)
2. Lavar y desinfectar el sitio de la punción
3. Introducir la aguja en forma perpendicular al absceso, la profundidad se calcula a la mitad de altura del absceso
4. Aspirar la muestra hasta obtener una cantidad aproximada a tres centímetros cúbicos
5. Pasar la muestra a un tubo estéril o bien sellar la punta de la aguja de la jeringuilla con su tapa
6. Identificar
7. Conservar en refrigeración

Órganos y tejidos

1. En el caso de contar con el cadáver de una necropsia previa autorización del patólogo en turno se podrá realizar la recolecta de la muestra, por lo que se debe de considerar que la muerte del animal no debe ser mayor de una hora
2. Realizar una inspección general del cadáver
3. Identificar el sitio de toma de muestra (tejido sano y dañado)
4. Cortar trozos de tejido u órgano afectado de un grosor no menor de 3x3 cm.
5. Evitar contaminar con exudado o sangre
6. Depositar la muestra en un frasco estéril individual de boca ancha y cerrar
7. Identificar
8. Refrigerar

Toma de muestra para micología:

Método directo:

1. Se corta un tramo de aproximadamente 10 centímetros de largo de cinta adhesiva transparente
2. Se aplica la cinta con la cara engomada sobre la lesión y se presiona ligeramente la superficie de la cinta de tal manera que cubra la zona afectada
3. Se retira la cinta obteniéndose así la impronta de la lesión



4. Se aplica la cinta por los extremos sobre una lámina portaobjetos limpia, rebatiendo los extremos hacia abajo para que no se despegue
 5. Se identifica la muestra
 6. Es conveniente tomar dos o tres improntas y montarlas individualmente
- Nota: En caso de infección en el pelo se extraerá un mechón de pelos enfermos con pinza colocarlos en la caja Petri o entre dos portaobjetos

Método de raspado:

Se utiliza para las lesiones con escamas y zonas sin pelo

1. Se raspa el borde activo de la lesión con un bisturí estéril el material recolectado se coloca en una caja Petri o en un portaobjetos
2. En el caso de colocar el material en portaobjetos se coloca otro encima, se coloca cinta en los extremos para evitar que se salga el material y se identifica
3. En el caso de que el material se recolecte en caja Petri se tapa se sella y se rotula
4. Si la lesión se ubica en pezuña, uñas o cuernos se raspa la cara profunda de la superficie afectada, próxima a la región sana, se recolectan los residuos epidérmicos depositados entre dos portaobjetos o caja Petri



Resultados:

Se evaluará las condiciones de recolecta de la muestra

Se resguarda la muestra que fue correctamente tomada e identificada, para continuar con las otras prácticas en los laboratorios multidisciplinarios de la FMVZ-UAEM

Entrega de informe escrito de la práctica

Cuestionario:

¿Cuánto tiempo puede permanecer la muestra el medio de transporte antes de su proceso en el laboratorio?

¿Cuáles son los tipos de riesgos que existen en la toma de la muestra?

Escribe dos medios de transporte para las muestras que serán utilizadas para aislamiento bacteriológico y dos para aislamiento micológico

Escribe los métodos para la recolecta de muestra para micología

Escribe tres nombres de agentes micológicos que afectan la piel de los caninos

Observaciones:

Acatar las normas de bioseguridad de la explotación, zoológico, hospital, posta zootécnica o CIESA, para empezar a la recolecta de muestra.

Antes de recolectar la muestra se debe tener presente de no estresar al animal, así como el de aplicar la correcta sujeción, para evitar el maltrato o traumas, ya que esto puede alterar los resultados.

Las muestras para estudios bacteriológicos y micológicos deben tomarse antes de la administración de medicamentos.



Unidad I	Número de la practica
Generalidades de Bacteriología y Micología 1.4 Práctica de Laboratorio: Identificación morfológica y agrupación de bacterias y hongos	2

Objetivo o competencia de la práctica:

Identificar la morfología y agrupación de bacterias y hongos mediante la aplicación de técnicas de aislamiento y tinción

Material biológico:

1. Cultivo de en agar *Escherichia coli*
2. Cultivo en agar de *Streptococcus* spp.
3. Cultivo en agar de *Staphylococcus* spp.
4. Cultivo en agar de una levadura
5. Cultivo en agar de *Aspergillus* spp.

Reactivos:

6. Cristal violeta
7. Safranina
8. Alcohol-cetona
9. Yodo
10. Agua destilada
11. Aceite de inmersión
12. Solución de azul de Algodón-Lactofenol
13. Solución acuosa de glicerol al 10%
14. KOH al 3%

Material de laboratorio

15. Mechero Bunsen
16. Varilla de vidrio doblada en forma de "V"
17. Charola para realizar tinción de Gram
18. Asa bacteriológica
19. Portaobjetos
20. Cubreobjetos
21. Caja de Petri vacía estéril
22. Cinta adhesiva transparente e incolora (Diurex)

Equipo de laboratorio

23. Estufa bacteriológica
24. Microscopio óptico campo claro

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo



Equipo de protección personal

- 25. Cubrebocas
- 26. Goggles
- 27. Cofia
- 28. Bata blanca
- 29. Guantes de látex o nitrilo

Lugar de realización:

- 30. Laboratorio multidisciplinario de la FMVZ-UAEM

Desarrollo:

Bacterias

- 1. Limpiar la zona de trabajo
- 2. Encender el mechero
- 3. Verificar que los materiales que se utilizaran en la práctica estén cerca y preparados
- 4. Limpiar los portaobjetos para que estén libres de grasa, pelusa o pegamento
- 5. Colocar una gota de solución salina o en agua destilada estéril sobre un portaobjetos
- 6. Flamear el asa bacteriológica, enfriarla en agar
- 7. Recolectar una colonia bacteriana
- 8. Realizar una mezcla y extender
- 9. Se deja secar y se procede a la fijación del frotis pasándolo varias veces entre la llama del mechero (Debe evitarse el sobrecalentamiento porque ocasiona deformaciones de las bacterias)
- 10. Para observar la morfología y agrupación se aplicará sobre el frotis la tinción de Gram la cual consiste de los siguientes pasos:
 - a) Colocar los portaobjetos con el extendido bacteriano (frotis) sobre un soporte para tinción
 - b) Cubrir el extendido cristal violeta, dejar actuar durante 60 segundos, lavar con agua y sacudir el exceso
 - c) Cubrir el extendido con lugol, dejar actuar durante 60 segundos, lavar y sacudir el exceso
 - d) Cubrir el extendido con alcohol-cetona, dejar actuar durante 30 segundos, lavar con agua y sacudir el exceso
 - e) Cubrir el extendido con safranina, dejar actuar durante 60 segundos, lavar con agua y sacudir el exceso
 - f) Dejar secar al aire
 - g) Observar al microscopio con objetivo de inmersión

Observación microscópica de levaduras

- 1. De la placa con el cultivo de la levadura seleccionar una colonia de levadura
- 2. Fijar la levadura de la misma manera como se fija una bacteria
- 3. Teñir la preparación con cristal violeta, lavar, sacudir para retirar el exceso de agua



4. Dejar secar
5. Observar la preparación con objetivos en seco y de inmersión

Observación microscópica de hongos filamentosos

1. Técnica de montaje directo
 - a) Colocar una gota de azul de algodón-lactofenol en un portaobjetos
 - b) En condiciones de esterilidad tomar con el asa una pequeña porción de la colonia del hongo y colocarla en la gota del colorante
 - c) Colocar un cubreobjetos y observar al microscopio con objetivos de en seco y de inmersión
2. Técnica de montaje con cinta adhesiva: Este método permite observar la mayoría de las estructuras reproductivas sin alterar la morfología del hongo
 - a). Colocar una gota de solución de azul de algodón-lactofenol en un portaobjetos limpio
 - b). Cortar una tira de cinta adhesiva transparente, tomarla por los extremos con una pinza de tal forma que el lado adhesivo quede al exterior
 - c). Abrir la caja Petri con el cultivo del hongo filamentosos
 - d). Hacer contacto con el hongo sin hacer mucha presión
 - e). Colocar la cinta con la muestra sobre la gota del colorante, cuidando de no formar burbujas
 - f). Colocar un cubreobjetos
 - g). Observar al microscopio con objetivos de en seco y de inmersión
3. Técnica de microcultivo: Esta técnica se recomienda para observar esporas e hifas sin alterar la morfología macroscópica y microscópica del hongo filamentosos
 - a) Con un bisturí estéril cortar un cuadro de un centímetro cuadrado del medio Sabouraud depositarlo sobre el portaobjetos estéril
 - b) Sembrar por picadura los cuatro costados y al centro del cuadro del agar con la colonia de hongo que se desea estudiar y colocar un cubreobjetos
 - c). Colocar el portaobjetos sobre la varilla de vidrio doblada en forma de "V"
 - d) Adicionar a la caja de Petri solución acuosa de glicerol al 10%, colocar la cubierta de la caja cubrir con papel e incubar a 30°C durante 48 horas o en su caso siete días (observar diariamente)
 - e) Después de la incubación, observar al microscopio estereoscópico las colonias desarrolladas
 - f) Encender el mechero para que en condiciones de esterilidad se retire el cubreobjetos del microcultivo
 - g) Colocar sobre el portaobjetos una gota de azul de algodón-lactofenol
 - h) Colocar el cubreobjetos obtenido del microcultivo se debe evitar formar burbujas
 - h) Observar al microscopio con objetivos en seco y húmedo

Resultados:

Bacterias:



Observación de bacilos Gramnegativos
Observación de cocos Gramnegativos con agrupación diferente
Observación de cocos Grampositivos con agrupación diferente

Hongos:

Observación de formas de levadura

Para la morfología de los hongos filamentosos se debe de observar esporas, hifas, micelio, tomando como guía los esquemas disponibles en la biblioteca o en internet para la identificación del hongo de la práctica

Entrega de reporte de práctica

Cuestionario:

De qué color se tiñen las bacterias Gram positivas

De qué color se tiñen las bacterias Gram negativas

¿Qué propósito tiene el fijar al calor el frotis?

¿Por qué es necesario emplear aceite de inmersión para la observación de los microorganismos?

¿Nombre del científico que realizó por primera vez la tinción de Gram?

¿Qué función tiene el lugol en la tinción de Gram?

¿Qué función tiene el alcohol-cetona en la tinción de Gram?

¿Qué estructura de la bacteria le proporciona la afinidad de los colorantes?

¿Cuál es el nombre de la estructura del hongo filamentosos que le proporciona nutrientes?

¿Cuál es el nombre de la estructura fundamental de los hongos filamentosos?

Observaciones

Los estudiantes acataran los lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia, así como el del cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente)



Unidad I	Número de la práctica
Generalidades de Bacteriología y Micología Influencia de factores nutricionales y ambientales sobre el crecimiento de bacterias y hongos	3

Objetivo o competencia de la práctica:

Observar el crecimiento de las bacterias en diferentes sustratos, para conocer su metabolismo en cuanto a sus requerimientos de factores de crecimiento, mediante la inoculación en diferentes medios de cultivo.

Material biológico:

1. Cepa de *Escherichia coli*
2. Cepa de *Pseudomonas fluorescens*
3. Cepa de *Pseudomonas aeruginosa*
4. Cepa de *Serratia marcescens*
5. Cepa de *Bacillus subtilis*
6. Cepa de *Salmonella* sp.
7. Cepa de *Staphylococcus aureus*
8. Cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Material de laboratorio:

9. Tubos con agar nutritivo inclinado (pico de flauta)
10. Tubos con caldo nutritivo 2% NaCl
11. Tubos con caldo nutritivo 5% NaCl
12. Tubos con caldo nutritivo 7% NaCl
13. Tubos con caldo nutritivo pH 4
14. Tubos con caldo nutritivo pH 7
15. Tubos con caldo nutritivo pH 8
16. Cajas Petri con agar MacConkey
17. Gradilla
18. Asa bacteriológica calibrada
19. Asa bacteriológica recta

Equipo de laboratorio:

20. Refrigerador
21. Estufa bacteriológica
22. Mechero
23. Jarra de Gaspak

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo

Equipo de protección personal:

24. Bata



25. Guantes látex o nitrilo
26. Cofia
27. Cubrebocas

Desarrollo:

Temperatura:

1. Se sembrará por triplicado
2. Identificar cada tubo de agar nutritivo inclinado para realizar la siembra con las siguientes bacterias *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* y *Staphylococcus aureus*. Dejar un tubo testigo de medio sin sembrar
3. Se flamea el asa se recolecta una colonia bacteriana, se inocula por picadura y estría en la superficie del tubo con medio de cultivo nutritivo, se repite este paso para cada tubo y para cada cepa bacteriana
4. Incubar los tubos a diferentes temperaturas
 - a). El primer tubo a temperatura de refrigeración, durante 24 horas
 - b). El segundo tubo incubar a temperatura ambiente, durante 24 horas.
 - c). El tercer tubo incubar a 37°C, durante 24 horas
5. Observar si hubo crecimiento y registrarlo

Presión osmótica (salinidad)

1. A partir de un crecimiento de *Escherichia coli*, sembrar tres tubos con caldo nutritivo de diferentes concentraciones de NaCl (2, 5 y 7%)
2. Incubar los tubos a 37°C por 24 horas
3. Finalizado el tiempo de incubación determinar las condiciones de salinidad en las cuales pueden crecer la *Escherichia coli*

Nota: Se debe incubar un tubo control sin sembrar para cada concentración

4. Se repite lo anterior para las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas fluorescens*

Influencia del pH en el crecimiento de microorganismos

1. A partir de un crecimiento de *Escherichia coli*, sembrar tres tubos con caldo nutritivo de diferentes concentraciones de pH (4, 7 y 8)
2. Incubar los tubos a 37°C por 24 horas
3. Finalizado el tiempo de incubación determinar las condiciones de pH en las cuales pueden crecer la *Escherichia coli*

Nota: Se debe incubar un tubo control sin sembrar

4. Se repite lo anterior para las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas fluorescens*

Efecto del oxígeno

1. Sembrar por duplicado la cepa de *Escherichia coli* en el agar MacConkey,



una caja se coloca en la jarra de Gaspak, ambas placas se incuban a 37°C durante 24 horas

2. Sembrar por duplicado en agar TSA *Pseudomonas fluorescens*, colocar una en la jarra de Gaspak, ambas placas se incuban a 37°C durante 24 horas.
3. Sembrar por duplicado en agar sangre *Staphylococcus aureus*, colocar una en la jarra de Gaspak, ambas placas se incuban a 37°C durante 24 horas.

Resultados:

Registre los resultados de crecimiento de las bacterias representado con cruces de la siguiente manera:

Una cruz (+) para poco crecimiento

Dos cruces (++) para moderado crecimiento

Tres cruces (+++) para abundante crecimiento

Temperatura

Determine la temperatura optima de crecimiento para las bacterias

Determine si alguna de las bacterias resultó ser psicrófila

Presión osmótica (salinidad)

Turbidez en el medio de cultivo

Oxígeno

Crecimiento de las bacterias

Determine cuáles bacterias resultaron ser aerobias, cuáles anaerobias y cuales facultativas

Cuestionario:

Escribe dos diferencias entre organismos termófilo y termotolerante

Escribe la definición de organismo anaerobio facultativo

Escribe la definición de bacteria capnófila

Defina factor de crecimiento para las bacterias

Escriba la clasificación de los medios de cultivo

Cuáles son las condiciones óptimas de crecimiento de la *Escherichia coli*

Observaciones

Los estudiantes acataran los Lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia, así como del cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente)



Unidad II	Número de la práctica
Bacterias y hongos que afectan el sistema tegumentario, ojos, conjuntiva y glándula mamaria.	4

Objetivo o competencia de la práctica:

Realizar el proceso de aislamiento, observación e identificación de agentes bacterianos que afectan el tegumento y/o glándula mamaria de importancia veterinaria, con la finalidad de establecer la sensibilidad antimicrobiana, estrategias de diagnóstico, control y tratamiento de las enfermedades que afectan a los animales

Material biológico.

1. Cepas puras aisladas de muestras clínicas, de la práctica anterior
2. Cepas de referencia *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. uberis*, *E. coli.*, y *P. aeruginosa*.

Material de laboratorio.

3. Jabón
4. Pizeta con alcohol 96°
5. Gradilla
6. Mechero Fisher
7. Vernier, y/o regla
8. Tubos con caldo infusión cerebro corazón.
9. Cajas de Petri con agar Mueller-Hinton.
10. Gradilla
11. Asa bacteriológica.
12. Hisopos estériles
13. Pinzas de disección sin dientes de ratón.

Reactivos

14. Multidiscos para bacterias Gram +
15. Multidiscos para bacterias Gram –

Equipo de laboratorio

16. Estufa bacteriológica



17. Refrigerador

18. Mechero

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo

Equipo de protección personal:

19. Bata

20. Mascarilla bacteriológica

21. Guantes de látex o nitrilo

Lugar de realización:

22. Laboratorio multidisciplinario de prácticas de la FMVZ-UAEM.

Desarrollo:

A. Preparación del inóculo, se utilizarán, los cultivos puros provenientes de muestras clínicas y/o se usaran cepas de referencia causantes de enfermedades de tegumento, ojo, conjuntiva o glándula mamaria.

1. Desinfectar la mesa de trabajo.
2. Esterilizar el asa y dejarla enfriar.
3. Seleccionar de las placas de cultivo de 3 a 5 colonias, similares del germen aislado, a una distancia no mayor de 25 cm. del mechero.
4. Flamear un tubo de 13x100mm. que contenga caldo de infusión cerebro corazón.
5. Transferir las colonias al tubo.
6. Esterilizar el asa y dejar enfriar.
7. Flamear el tubo, taparlo e incubar 30 a 45 min. a 37 °C, hasta que al agitar la suspensión este ligeramente turbia.

B. Inoculación de Placas.

1. Flamear un tubo con el inóculo.
2. Tomar un hisopo seco estéril.
3. Introducir el hisopo al tubo, girar varias veces con presión firme contra la pared interior del tubo, para retirar el exceso de cultivo líquido, flamear y tapar el tubo.
4. Sembrar con el hisopo a una distancia no mayor de 20 cm. del mechero, toda la superficie del agar Mueller-Hinton, sucesivamente en forma de cuadrícula cerrada.
5. Cuando el inóculo ha secado (de 3 a 5 minutos) se procede a colocar los discos.

C. Aplicación del multidisco.

1. Utilizar un grupo de discos diferentes según sea microorganismos Gram positivo o Gram negativo.
2. Destapar a una distancia aproximada de 20 cm. del mechero, la caja con agar ya sembrado.
3. Aplicar con las pinzas estériles los discos correspondientes en la superficie del agar.
4. Presionar cada disco con las pinzas para asegurar su contacto con el agar.
5. Tapar la caja y rotularla (número del equipo, grupo, bacteria sembrada, tipo de disco empleado, fecha).
6. Incubar a 37°C de 12 a 18 hr. en estufa bacteriológica

INTERPRETACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA:

La medición de los halos de inhibición se hace con un vernier o regla milimétrica, por el fondo de la caja la cual se ilumina con luz reflejada (Ver figura).

Medir los diámetros de las zonas de inhibición en milímetros considerando que:

Los límites finales son los sitios donde se observa crecimiento microscópico (ver flechas en la figura $\longleftrightarrow$).

El punto final de todos los sistemas de lectura será hasta la completa inhibición del crecimiento determinada visualmente, ignorando colonias tenues o muy pequeñas que pueden ser observadas con minuciosidad.

La interpretación de los halos de inhibición permitirá expresar los resultados como sensibles, sensibilidad intermedia o resistente. Estas categorías indican lo siguiente:



Fuente:

Sensible (S): la infección debida al microorganismo aislado puede ser tratada apropiadamente con el antibiótico a la dosis recomendada.

Intermedia (I): indica que el antibiótico tiene aplicabilidad clínica en sitios corporales donde el antibiótico alcance concentraciones terapéuticas

adecuadas, como es el caso de B-lactámicos y quinolonas en el tracto urinario. Es recomendable evitar el uso de la categoría “intermedia” cuando sea posible.

Resistente (R): la bacteria aislada no es inhibida por el antibiótico a las concentraciones terapéuticas ideales o la bacteria ha generado mecanismos de resistencia que evaden la actividad del antibiótico, por lo tanto, la eficacia clínica de éste no es confiable. Es recomendable que ante el aislamiento de un microorganismo multirresistente clínicamente significativo se ensayen otras pruebas de susceptibilidad adicionales.

Resultados:

- 1) Anotar en la siguiente tabla, los resultados obtenidos de la lectura del antibiograma, determinar la actividad antimicrobiana de cada uno de los antibióticos empleados.

[illegible]

- 2) Realizar el reporte de práctica bajo el formato establecido con la finalidad de ser evaluado con la lista de cotejo respectiva, resaltando los resultados obtenidos en la sesión práctica, comparando las imágenes de los hongos aislados con imágenes de libros e internet para determinar su clasificación

**Cuestionario:**

1. ¿Qué otros medios de cultivo se pueden utilizar para preparar el inóculo?
2. ¿Cómo sabremos que el tubo con el inóculo ya está listo para ser sembrado?
3. ¿Qué otros medios de cultivo se pueden utilizar en lugar de Mueller-Hinton?
4. ¿Cuáles son las estrategias para disminuir la aparición de resistencias a los antibióticos?
5. Clasifica a los antimicrobianos usados en la práctica de acuerdo a su estructura química y mecanismo de acción en la estructura celular.
6. ¿Cuáles son las bases para la utilización clínica de los antimicrobianos?
7. ¿Qué otros métodos se pueden utilizar para la valoración y selección de antimicrobiano.

Observaciones

Los estudiantes acatarán los Lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia, así como del cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente).

La tabla, para los resultados obtenidos de la lectura del antibiograma, deberá duplicarse para bacterias Gram negativas y otra para Gram positivos (o más con base al número de antibiogramas realizados).

La disposición final de las muestras será por parte del laboratorio donde se realizó la práctica, y el académico llenará la bitácora correspondiente.

El docente indicará al laboratorio el tratamiento para inactivación de los RPBI, con base a la NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos.



Unidad II	Número de la práctica
Aislamiento e identificación de hongos que afectan tegumento y glándula mamaria	5

Objetivo o competencia de la práctica:

Realizar el proceso de aislamiento, observación e identificación de agentes micóticos que afectan el tegumento y/o glándula mamaria, con la finalidad de establecer estrategias de diagnóstico, control y tratamiento de las enfermedades que afectan a los animales.

Material biológico.

1. Muestras clínicas sospechosa de dermatofitosis, (pelo y escamas), y/o de glándula mamaria.
2. Cepas de *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*.

Material de laboratorio

3. Jabón
4. Pizeta con alcohol 96°
5. Sistema de microcultivo estéril (soporte, caja Petri, cubreobjetos, portaobjetos)
6. Tubo con 10 mL de agua destilada estéril y/o solución al 10% de glicerina estéril
7. Asa bacteriológica calibrada
8. Asa bacteriológica recta
9. Aguja de disección
10. Portaobjetos
11. Cubreobjetos
12. Papel absorbente
13. Solución desinfectante
14. Mango de Bisturí
15. Pinza sin dientes de uso clínico
16. Hoja de bisturí estéril
17. Marcador permanente
18. Charola y Barra para tinción

Reactivos

19. Placa de agar sangre al 10% (sangre ovina)



20. Placa de agar Sabouraud
21. Tubo con tapón de rosca con agar para hongos
22. Placa de agar tripticasa de soya
23. Tubo de ensaye tapón de rosca con lactosa e indicador de pH*
24. Tubo de ensaye Glucosa con indicador de pH*
25. Manitol con indicador de pH*
26. Trehalosa con indicador de pH*
27. Sorbitol con indicador de pH*
28. Maltosa con indicador de pH*
29. Tinción Azul de algodón lactofenol
30. Solución de KOH al 20%
31. Formol al 10% bufferado

*Indicador de pH puede ser rojo de fenol o púrpura de bromocresol

Equipo de laboratorio

32. Estufa Bacteriológica a 30 °C (temperatura constante)
33. Microscopio óptico binocular de campo claro, con objetivos de 4X, 10X, 40X, 100X
34. Mechero Fisher

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo

Equipo de protección personal:

35. Bata
36. Mascarilla bacteriológica
37. Guantes de látex o nitrilo

Lugar de realización

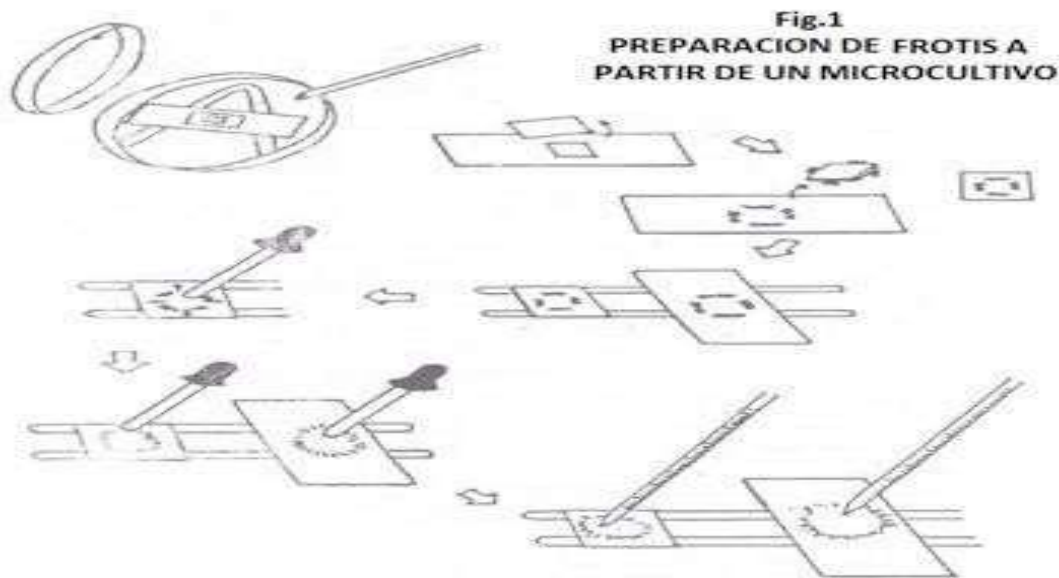
Laboratorio multidisciplinario de la FMVZ-UAEM



Desarrollo:

- A. Examen microscópico directo con KOH al 20%: Se realiza a partir de la muestra clínica, antes de ser sembrada en los medios de cultivo.
1. Se enciende el mechero.
 2. Con una aguja de disección, sobre un portaobjetos se deposita una pequeña cantidad de pelos y /o escamas, raspadas de la periferia de la lesión.
 3. Se agregan 2 a 3 gotas de sol KOH al 20% y se coloca cuidadosamente un cubreobjetos, evitando la formación de burbujas.
 4. Se deja reposar la preparación de 10 a 15 min.
 5. Observar al microscopio con el objetivo seco fuerte (40x) para la identificación de estructuras fúngicas (ver Figura.2).
 6. Anotar y dibujar lo observado.
- B. Siembra en medios de cultivo:
1. Con un hisopo estéril se toma la muestra y se siembra en una caja de agar Sabouraud o agar para hongos y sembrar en forma de cultivo puro a 30 °C por lo mínimo 24 hrs.
- C. Técnica de microcultivo: Se realiza para observar las características del hongo aislado, el arreglo de esporas e hifas.
1. En la placa agar Sabouraud marcar cuadros de 1x1cm.
 2. Cortar un cuadro de utilizando material estéril.
 3. Dentro de una caja Petri estéril agregar entre 10 mL de agua destilada estéril o solución de glicerina al 10% estéril.
 4. Colocar el soporte y poner un portaobjetos y sobre este el cuadro de agar Sabouraud previamente cortado. También se puede utilizar agar para hongos.
 5. Con el asa tomar la muestra problema y sembrar por picadura en cada lado del agar, posteriormente colocar el cubreobjetos, utilizando la pinza previamente flameada encima del cuadro de agar Sabouraud, haciendo ligera presión.
 6. Tapar la caja e incubar de 25 a 30 °C de entre 24 a 120 hrs aproximadamente, o hasta observar el desarrollo del micelio, cuando este toque tanto el portaobjetos como el cubreobjetos (una semana aproximadamente).
- D. Preparación del frotis (Ver figura 1)
1. Introduce un algodón impregnado con formol al 10% en la caja y déjalo actuar durante 30 minutos con el fin de inactivar al hongo.
 2. Se retira el cuadro de Agar Sabouraud, con un bisturí previamente flameado y así se obtiene el hongo sobre el portaobjetos y cubreobjetos.

3. Se agrega de 1 a 2 gotas de azul de lactofenol en un portaobjetos limpio y se coloca el cubreobjetos del microcultivo en el colorante. Por otro lado al portaobjetos se le agrega el colorante y se coloca un porta objetos limpio.
4. Para el examen microscópico, se observan las estructuras fungales y características morfológicas, primero con el objetivo de 10X y después con el de 40X.
5. Observa las estructuras fungales y sus características morfológicas (Figura2).

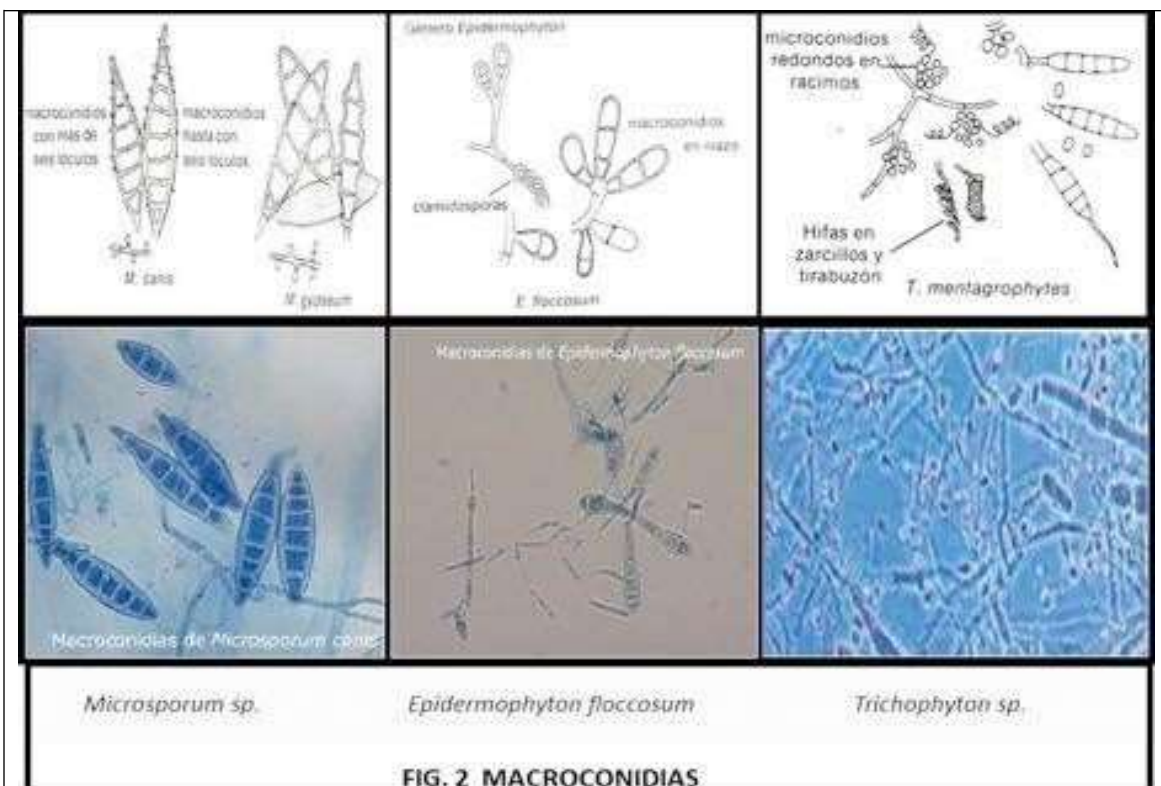


Fuente:

Resultados:

Realizar el reporte de práctica bajo el formato establecido con la finalidad de ser evaluado con la lista de cotejo respectiva, resaltando los resultados obtenidos en la sesión práctica, comparando las imágenes de los hongos aislados con imágenes de libros e internet para determinar su clasificación taxonómica.

Fig.2 Material de apoyo: Macroconidias, Para la Identificación de estructuras micóticas (somáticas y reproductoras).


Questionario:

1. ¿Menciona las principales diferencias morfológicas entre bacterias y hongos microscópicos?
2. ¿Qué ventajas tiene realizar examen microscópico directo con hidróxido de potasio (KOH)?
3. ¿Qué medidas de bioseguridad realizarías para manejar y trabajar en enfermedades micóticas?

Observaciones:

Los estudiantes acataran los Lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia, así como del cuidado y bienestar animal.

La muestra ha utilizar para el aislamiento e identificación micológica debe ser representativa del problema, y debe ser tomada bajo las debidas medidas de bioseguridad exigidas para este género y del tamaño adecuado, y procesarse inmediatamente. Cuando esto no es posible será necesario mantenerla en refrigeración hasta que pueda ser procesada.

Sobre el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente).



La disposición final de las muestras será por parte del laboratorio donde se realizó la práctica, y el académico llenara la bitácora correspondiente.

El académico indicara al laboratorio el tratamiento para inactivación de los RBI. Con base a la NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico- infecciosos.

Unidad III	Número de la práctica
Bacterias y hongos que afectan el sistema digestivo	6

Objetivo o competencia de la práctica:

Realizar el proceso de aislamiento e identificación bacteriana a partir de muestras de sistema digestivo, con la finalidad de establecer estrategias de diagnóstico, control y tratamiento de las enfermedades que afectan a los animales.

Material biológico

1. Cultivo en agar de *E. coli*
2. Cultivo en agar de *Salmonella typhimurium*
3. Cultivo en agar de *Enterobacter cloacae*
4. Cultivo en agar de *Citrobacter freundii*
5. Cultivo en agar de *Proteus vulgaris* o *Proteus mirabilis*
6. Cultivo de agar de *Serratia Marcescens*
7. Cultivo en agar de *Pseudomona aeruginosa*

Material de laboratorio

1. Franela
2. Jabón
3. Pizeta con alcohol 96°
4. Gradilla
5. Asas bacteriológicas calibradas
6. Asas bacteriológicas rectas
7. Portaobjetos
8. Cubreobjetos



Tubos con medios de cultivo con tapón de rosca

7. Agar hierro de Kligler (AHK)./ TSI Triple azúcar hierro
8. Medio de SIM
9. Citrato de Simmons.
10. Ureasa
11. RM VP
12. Fenil Alanina
13. Lisina descarboxilasa
14. Urea
15. Caja de Petri con papel filtro, cortado en cuadritos de 2X2 cm en total 20 cuadritos, estériles

Reactivos

16. Reactivo de Cloruro férrico.
17. Reactivo de Oxidasa
18. Reactivo de Kovac
19. Reactivo Rojo de metilo
20. Reactivo de KOH al 3%
21. Reactivo Solución A 5 g - naftol
22. Reactivo Solución B Hidróxido de potasio
23. Agua destilada 100 ml
24. Tren de tinción de Gram

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo

Equipo de laboratorio

1. Estufa bacteriológica con rango de temperatura constante de 37°C
2. Mechero Fisher
3. Microscopio óptico binocular de campo claro, con objetivos de 4X, 10X, 40X, 100X

Equipo de protección personal:

4. Bata
5. Mascarilla bacteriológica
6. Guantes de látex o nitrilo

**Lugar de realización**

Laboratorio multidisciplinario de la FMVZ-UAEM

Desarrollo:

1. Desinfectar la mesa de trabajo
2. Inocule y siembre en cada medio de cultivo, la cepa bacteriana asignada por equipo.
3. Realice la tinción de Gram y compruebe con la prueba de KOH al 3%.
4. Siembre las bioquímicas con la cepa bacteriana asignada por equipo.
5. Incube los medios de cultivo y las pruebas bioquímicas a 37 °C por 24 y 48 horas.
6. Realizar lectura de bioquímicas a las 24 y 48 horas, apoyándose de la tabla 1
7. Anotar los resultados en el cuadro 1.
8. Realice la prueba de Oxidasa, utilizando el papel filtro.
9. Observe la morfología colonia y las reacciones que se observan en cada medio de cultivo.
10. Concluya la identificación del microorganismo con base en la tablas de identificación de géneros bacterianos que afectan al sistema digestivo (entregadas por el Académico).

Tabla 1: Lectura de pruebas bioquímicas

Lectura de agar Kigler y/o TSI	
Fermentación de glucosa.	
Pico de flauta:	Reacción alcalina (color rojo).
Capa profunda:	Reacción ácida (color amarillo).
Fermentación de lactosa y glucosa	
Pico de flauta:	Reacción ácida (color amarillo).
Capa profunda:	Reacción ácida (color amarillo).
No fermentación de glucosa ni de lactosa	
Pico de flauta:	Reacción alcalina (color rojo).
Capa profunda:	Reacción alcalina (color rojo).
Producción de gas como bióxido de carbono	
Capa profunda:	Burbujas (bióxido de carbono).
Capa profunda:	Color negro (ácido sulfhídrico).



Lectura de SIM	
Indol +	Anillo rojo en la superficie del medio en la capa alcohólica (presencia de Indol).
Indol –	No se produce color en la capa alcohólica, toma el color del reactivo de Kovac
Movilidad	El medio se torna turbio.
No Movilidad	Crecimiento a lo largo de la picadura
Producción H ₂ S	El medio se torna negro
Lectura de citrato de Simmons	
Prueba +	Cambio de color del medio a azul intenso en el pico de flauta.
Prueba –	No se observa crecimiento, ni cambio de color (verde).
Lectura de la prueba de Urea	
Reacción+	Color rojo a rosado.
Reacción -	No hay cambio de coloración (amarillo anaranjado).
Lectura de la prueba Rojo de Metilo	
Reacción+	Color rojo a rosado.
Reacción -	Coloración (amarillo anaranjado).
Lectura de la prueba Voges Proskauer	
Reacción+	Color rojo a rosado.
Reacción -	Coloración (amarillo anaranjado).
Lectura de la prueba Fenil alanina	
Reacción+	Color verde pálido a intenso, Determina la capacidad e la bacteria para desaminar el aminoácido fenilalanina en ácido fenilpirúvico por acción de la enzima Fenilalanina desaminasa
Reacción -	Coloración del reactivo No presenta la enzima Fenilalanina desaminasa
Lectura de la prueba Lisina descarboxilasa	
Reacción+	Color rojo violeta, Indica que la bacteria produce una enzima que descarboxila el aminoácido lisina.
Reacción -	Coloración (amarillo). No presenta la enzima lisina descarboxilasa
Lectura de la prueba de Oxidasa	
Reacción+	Color azul-violeta.
Reacción -	Coloración amarillo.

Resultados:

1. Anotar en el cuadro 1 los resultados obtenidos de la lectura de las bioquímicas.
2. Comparar los resultados obtenidos con las tablas de identificación bacteriana (serán entregadas por el académico)
3. Realizar el reporte de práctica bajo el formato establecido con la finalidad de ser evaluado con la lista de cotejo respectiva, resaltando los resultados



obtenidos en la sesión práctica, comparando las imágenes de los hongos aislados con imágenes de libros e internet para determinar su clasificación taxonómica.

Cuadro. 1 Resultados de la lectura de las pruebas bioquímicas a las 24 y 48 hr

Prueba	Lectura 24 horas			
	Superficie	Fondo	Gas	H ₂ S
TSI/ Kigler				
SIM	indol	Motilidad	H ₂ S	

Prueba	Lectura 48 horas			
	Superficie	Fondo	Gas	H ₂ S
TSI - kigler				
SIM	indol	Motilidad	H ₂ S	

Prueba	Lectura 24 Hr	
	+	-
Citrato de Simmons		
Urea		
RM		
VP		
Motilidad		
LD		
PD		
Oxidasa		

Prueba	Lectura 48 Hr	
	+	-
Citrato de Simmons		
Urea		
RM		
VP		
Motilidad		
LD		
PD		
Oxidasa		

Nombre de la Enterobacteria identificada 1

Nota: Repetir el cuadro el número de veces que sea requerido

Cuadro. 1 Resultados de la lectura de las pruebas bioquímicas a las 24 y 48 hr

Prueba	Lectura 24 horas			
	Superficie	Fondo	Gas	H ₂ S
TSI/ Kigler				
SIM	indol	Motilidad	H ₂ S	

Prueba	Lectura 48 horas			
	Superficie	Fondo	Gas	H ₂ S
TSI - kigler				
SIM	indol	Motilidad	H ₂ S	

Prueba	Lectura 24 horas	
	+	-
Citrato de Simmons		
Urea		
RM		
VP		
Motilidad		

Prueba	Lectura 48 horas	
	+	-
Citrato de Simmons		
Urea		
RM		
VP		
Motilidad		

LD

PD

LD

PD



Oxidasa		Oxidasa																																																																																																											
Nombre de la Enterobacteria identificada 2 Nota: Repetir el cuadro el número de veces que sea requerido																																																																																																													
Cuadro. 1 Resultados de la lectura de las pruebas bioquímicas a las 24 y 48 hr <table border="1" style="width: 48%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Prueba</th> <th colspan="4">Lectura 24 horas</th> </tr> <tr> <th>Superficie</th> <th>Fondo</th> <th>Gas</th> <th>H₂S</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>TSI/ Kigler</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>indol</td> <td>Motilidad</td> <td colspan="2">H₂S</td> </tr> <tr> <td>SIM</td> <td></td> <td></td> <td colspan="2"></td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 48%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Prueba</th> <th colspan="4">Lectura 48 horas</th> </tr> <tr> <th>Superficie</th> <th>Fondo</th> <th>Gas</th> <th>H₂S</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>TSI - kigler</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>indol</td> <td>Motilidad</td> <td colspan="2">H₂S</td> </tr> <tr> <td>SIM</td> <td></td> <td></td> <td colspan="2"></td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 48%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Prueba</th> <th colspan="2">Lectura 24 horas</th> </tr> <tr> <th>+</th> <th>-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Citrato de Simmons</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Urea</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>RM</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>VP</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Motilidad</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>LD</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>PD</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Oxidasa</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 48%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Prueba</th> <th colspan="2">Lectura 48 horas</th> </tr> <tr> <th>+</th> <th>-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Citrato de Simmons</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Urea</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>RM</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>VP</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Motilidad</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>LD</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>PD</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Oxidasa</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>				Prueba	Lectura 24 horas				Superficie	Fondo	Gas	H ₂ S	TSI/ Kigler						indol	Motilidad	H ₂ S		SIM					Prueba	Lectura 48 horas				Superficie	Fondo	Gas	H ₂ S	TSI - kigler						indol	Motilidad	H ₂ S		SIM					Prueba	Lectura 24 horas		+	-	Citrato de Simmons			Urea			RM			VP			Motilidad			LD			PD			Oxidasa			Prueba	Lectura 48 horas		+	-	Citrato de Simmons			Urea			RM			VP			Motilidad			LD			PD			Oxidasa		
Prueba	Lectura 24 horas																																																																																																												
	Superficie	Fondo	Gas	H ₂ S																																																																																																									
TSI/ Kigler																																																																																																													
	indol	Motilidad	H ₂ S																																																																																																										
SIM																																																																																																													
Prueba	Lectura 48 horas																																																																																																												
	Superficie	Fondo	Gas	H ₂ S																																																																																																									
TSI - kigler																																																																																																													
	indol	Motilidad	H ₂ S																																																																																																										
SIM																																																																																																													
Prueba	Lectura 24 horas																																																																																																												
	+	-																																																																																																											
Citrato de Simmons																																																																																																													
Urea																																																																																																													
RM																																																																																																													
VP																																																																																																													
Motilidad																																																																																																													
LD																																																																																																													
PD																																																																																																													
Oxidasa																																																																																																													
Prueba	Lectura 48 horas																																																																																																												
	+	-																																																																																																											
Citrato de Simmons																																																																																																													
Urea																																																																																																													
RM																																																																																																													
VP																																																																																																													
Motilidad																																																																																																													
LD																																																																																																													
PD																																																																																																													
Oxidasa																																																																																																													
Nombre de la Enterobacteria identificada 3 Nota: Repetir el cuadro el número de veces que sea requerido																																																																																																													

Cuestionario:

1. ¿Menciona las principales enterobacterias de importancia Medicina Veterinaria?
2. ¿Cuáles son las enfermedades que produce y que especie afecta las enterobacterias que mencionaste anteriormente?
3. ¿Qué medios de cultivo y pruebas complementarias necesitarías para confirmar el género y especie de las enterobacterias antes mencionadas?
4. ¿Mencione el fundamento bioquímico de la prueba bioquímicas primarias y

Observaciones

Los estudiantes acataran los Lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios



de Docencia, así como del cuidado y bienestar animal

Antes de iniciar el proceso de identificación es necesario considerar: No utilizar cultivos mixtos.

Usar cultivos jóvenes, de preferencia en fase exponencial.

Verificar que la cepa a identificar, no esté contaminada

Sobre el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente).

1. La disposición final de las muestras será por parte del laboratorio donde se realizó la práctica, y el académico llenara la bitácora correspondiente.
2. El académico indicara al laboratorio el tratamiento para inactivación de los RBI. Con base a la NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico- infecciosos.

Unidad III	Número de la practica
Bacterias y hongos que afectan el sistema digestivo	07

Objetivo o competencia de la práctica:

Realizar el proceso de aislamiento e identificación a partir de muestras o cepas de hongos aislados previamente, con la finalidad de establecer estrategias de diagnóstico, control y tratamiento de las enfermedades que afectan los animales.

Materiales:

1. Cajas Petrí de 15 X 100 mm estériles



2. Soporte de vidrio en forma de "V"
3. Asas bacteriológicas calibradas
4. Asas bacteriológicas rectas
5. Portaobjetos.
6. Cubreobjetos
7. Papel secante
8. Marcador permanente
9. Hojas y mango de bisturí
10. Pinzas sin dientes de uso clínico

Material Biológico:

1. Cultivo micótico de *Aspergillus* spp. y/o *Fusarium* spp
2. Una muestra clínica de sistema digestivo con problemas micóticos
3. Una muestra de alimento contaminado por hongos

Reactivos:

1. Agar dextrosa Sabouraud, Agar para hongos o Agar Trypticase de Soya
2. Agar Sangre
3. Agar MacConkey
4. Tinción de Azul de algodón
5. Solución desinfectante de cloro al 0.5%

Equipo:

1. Estufa microbiológica con rango de temperatura constante de 25 a 30°C
2. Mechero Fisher
3. Microscopio óptico binocular de campo claro, con objetivos de 4X, 10X, 40X, 100X.

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo

Equipo de protección personal:

1. Bata blanca
2. Cubrebocas
3. Guantes de nitrilo

Lugar de realización:

Laboratorio multidisciplinario de prácticas de la FMVZ-UAEM.

Desarrollo:

Dentro de todo el proceso técnico, se debe realizar bajo la flama de un mechero y no hacerlo a más de 20 cm de distancia de este. Así mismo antes de iniciar el proceso de laboratorio y al terminar se debe desinfectar la mesa de trabajo.

1. Aislamiento e identificación primaria:

- Tomar con un Hisopo estéril o asa bacteriológica graduada la muestra y e inocular en una caja de Agar Dextrosa-Sabouraud o agar para hongos



- Estriar bajo la técnica de cultivo puro a 30 °C por lo mínimo 72 hrs
- Una vez obtenido el aislamiento se realiza la tinción de Gram y/o tinción de Azul de Algodón-lactofenol.

2. Aislamiento e identificación por el método de microcultivo:

- En una caja Petri de agar dextrosa Sabouraud o agar para hongos se cuadrícula bajo 1 cm² y se cortan con una hoja de bisturí para posterior utilización.
- Dentro de una caja Petri estéril agregar entre 2 a 4 mL de agua destilada estéril o solución de glicerina al 10%.
- Colocar el soporte de vidrio y poner un portaobjetos con un cuadro de Agar Sabouraud o Agar para hongos de aproximadamente 1 cm² cortado previamente.
- Con el asa bacteriológica recta tomar la muestra o el hongo previamente aislado, y sembrar por picadura en cada lado del agar, posteriormente colocar el cubreobjetos, tapar la caja e incubar de 25 a 30 °C de entre 24 a 120 hrs aproximadamente.
- Una vez obtenido el crecimiento micótico, se procede a la realización del frotis húmedo.

3. Preparación del frotis húmedo:

- a) Se introduce un algodón impregnado con formol al 10 % en la caja y dejarlo actuar durante 30 minutos con el fin de inactivar al hongo.
- b) En un portaobjetos coloca dos gotas separadas de la tinción de azul de algodón-lactofenol.
- c) Con las pinzas, tomar cada uno de los cubreobjetos que tienen contacto con el crecimiento micótico y colocarlos sobre una de las gotas del colorante.
- d) Se quita el cuadro de agar del portaobjetos donde se cultivo con el apoyo de una hoja de bisturí o pinzas, se coloca dos gotas de colorante y se cubre con un cubreobjetos.
- e) Colocar las preparaciones en el microscopio óptico y observar con los objetivos 10 y 40X
- f) Visualizar las estructuras fungales y sus características morfológicas; y registrarla en el reporte.

Resultados:

Realizar el reporte de práctica bajo el formato establecido con la finalidad de ser evaluado con la lista de cotejo respectiva, resaltando los resultados obtenidos en la sesión práctica, comparando las imágenes de los hongos aislados con imágenes de libros e internet para determinar su clasificación taxonómica.

Como apoyo puede utilizar las siguientes imágenes:



Hongo	Forma micelial	Esquema	Forma levaduri- forme	Esquema
<u>Histoplasma capsulatum</u>	Micelio hialino, septado y delgado. Posee microaleuriosporas redondas o piriformes, esfélicas, y grandes macroaleuriosporas redondas, de pared delgada, tuberculadas		Levaduras pequeñas, redondas u ovales, unigu- nantes. En los tejidos infecta- dos pueden obser- varse intracelu- lamente y pseudo- encapsuladas	
<u>Coccidioides immitis</u>	Micelio hialino, septado, con ar- trómeros rectan- gulares o en for- ma de barril		Esférulas de pared gruesa llenas de pequeñas entomo- rias esféricas	
<u>Paracoccidioides brasiliensis</u>	Micelio hialino, septado con nume- rosas clamidios- poras laterales o terminales. Ocasionalmente conidióforos si- miliares a los de <i>B. dermatitidis</i>		Levaduras grandes, de pared gruesa, con múltiples ge- niraciones a veces con aspecto de "tínde de barco"	
Hongo	Forma micelial	Esquema	Forma 'levaduri- forme	Esquema
<u>Aspergillus spp</u>	Micelio hialino y septado. Coni- dióforos termina- dos en una vesí- cula con varias hileras de este- rignatas a par- tir de donde se originan cadenas de microconidias. Ocasionalmente se observan peri- tecios y cleis- totecios (formas sexuales de re- producción)		Ausente	

**Observaciones:**

Los estudiantes acatarán los Lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia, así como del cuidado y bienestar animal.

El material biológico por utilizar en el aislamiento e identificación micológica debe ser característica, y tomada bajo las debidas medidas de bioseguridad exigidas para este microorganismo y procesarse inmediatamente.

Durante el desarrollo de la práctica se debe cumplir con las medidas de seguridad y bioseguridad por los alumnos, administrativos y académicos bajo la supervisión del responsable de laboratorio.

La disposición final de las muestras y material biológico será por parte del laboratorio donde se realizó la práctica, y el académico llenará la bitácora correspondiente.

Unidad IV	Número de la practica
Bacterias y hongos que afectan el sistema respiratorio y cardiaco	08

Objetivo o competencia de la práctica:

Realizar el proceso de aislamiento e identificación a partir de muestras o cepas bacterianas de aislamientos previos, con la finalidad de establecer estrategias de diagnóstico, control y tratamiento de las enfermedades que causan en los animales.

Materiales, reactivos y/o equipo:**Materiales:**

1. Asas bacteriológicas calibradas
2. Asas bacteriológicas rectas
3. Portaobjetos.
4. Cubreobjetos
5. Papel secante
6. Marcador permanente
7. Tiras de papel filtro

Material Biológico:

1. 1 cultivo en agar de *Pasteurella multocida*
2. 1 cultivo en agar de *Mannheimia haemolytica*



3. 1 cultivo en agar de *Bordetella Bronchiseptica*

4. 1 cultivo en agar de *Staphylococcus aureus*

5. Una muestra clínica de pulmón

6. Una muestra clínica de corazón

Reactivos:

1. Cajas Petri con Agar Sangre con sangre de ovino al 10%

2. Cajas Petri con Agar MacConkey.

3. Cajas Petri con Muller-Hinton

4. Tubos con tapón de rosca con Agar de Triple Hierro y Azúcar (TSI)

5. Tubos con tapón de rosca con Medio SIM

6. Tubos con tapón de rosca con Urea

7. Tubos con tapón de rosca con Base de rojo de Fenol con Lactosa, glucosa, manitol y maltosa.

8. Tubos con tapón de rosca con Medio MIO

9. Tubos con tapón de rosca con Citrato de Simmons

10. Tubos con tapón de rosca con Urea

11. Tubos con tapón de rosca con MR-VP

12. Tubos con tapón de rosca con caldo Muller-Hinton

13. Frasco gotero con Reactivo de Oxidasa

14. Frasco gotero con Reactivo de Kovac

15. Frasco gotero con Reactivo Rojo de Metilo

16. Frascos gotero con reactivos Voges-Proskauer

17. Juego de tinción de Gram

18. Frasco gotero con reactivo de KOH al 3 %

19. Caja de multidiscos para Gram negativos

20. Caja de multidiscos para Gram positivos

Equipo:

1. Estufa bacteriológica con una temperatura constante de 37°C

2. Mechero Fisher

3. Microscopio óptico binocular de campo claro, con objetivos de 4X, 10X, 40X, 100X.

Equipo de protección personal:

1. Bata blanca

2. Cubrebocas

3. Guantes de nitrilo

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo

Lugar de realización:

Laboratorio multidisciplinario de prácticas de la FMVZ-UAEM.

Desarrollo:

Dentro de todo el proceso técnico, se debe realizar bajo la flama de un mechero y no hacerlo a más de 20 cm de distancia de este. Así mismo antes de iniciar el



proceso de laboratorio y al terminar se debe desinfectar la mesa de trabajo.

Procedimiento 1: Aislamiento e identificación bacteriana

Proceso de Inoculación y Siembra en Placa:

Primer Día (Sesión Uno)

1. Desinfectar la mesa de trabajo con cloro al 0.5%.
2. Seleccionar una colonia del medio con cultivo puro, sosteniendo la placa a una distancia no mayor de 20 cm del mechero.
3. Esterilizar el asa con el mechero y enfriarla en el agar.
4. Tomar únicamente la colonia seleccionada con el asa.
5. Descargar el asa en uno de los extremos de la placa.
6. Realizar la siembra con la misma asa bajo la técnica de aislamiento en cultivo puro.
7. Esterilizar el asa y dejarla enfriar.
8. Cerrar la caja y rotularla con el número o nombre de muestra, número de equipo y fecha.
9. Incubar las placas a 37 °C por 24 horas.
10. Repetir los pasos 1 a 9 con la muestra problema.

Segundo Día (Sesión Dos)

1. Desinfectar la mesa de trabajo y encender el mechero.
2. Analizar cuidadosamente el crecimiento bacteriano en las cajas de Petri, sin abrirlas.
3. Observar las colonias obtenidas y describirlas teniendo en cuenta las siguientes características: tamaño, color de la colonia, pigmentación de medio, estructura interna, borde y hemólisis.
4. Interpretar las formas y características de las colonias.
5. Guardar las cajas en el refrigerador, hasta la próxima práctica (OPCIONAL).

Proceso de Inoculación y Siembra en Tubo (Medio Sólido):

Primer Día (Sesión Uno)

1. Destapar el tubo y flamear la parte superior.
2. Esterilizar el asa recta y enfriarla.
3. Tomar una colonia del medio que contiene el cultivo puro con el asa recta estéril.
4. Sembrar en los tubos con agar inclinado de acuerdo con el método que se utilice de siembra, a una distancia aproximada de 20 cm del mechero.
5. Rotular los tubos de la misma manera que las placas.
6. Incubar placas a 37 °C por 24 horas.
7. Repetir los pasos 1 a 6 con la muestra problema.

Segundo Día (Sesión Dos)

1. Analizar y observar cuidadosamente el crecimiento en los tubos, sin abrirlos, y anotar lo interpretado.
2. En caso de las pruebas bioquímicas, realizar la lectura respectiva y la aplicación de los reactivos correspondiente a la prueba a confirmar.



3. Guardar los tubos en el refrigerador, hasta la próxima práctica (opcional).

Proceso de Inoculación en Tubo (Medio Líquido):

Primer Día (Sesión Uno)

1. Esterilizar el asa recta y enfriarla.
2. Seleccionar una colonia del medio a una distancia aproximada de 20 cm del mechero.
3. Destapar el tubo y flamear la parte superior.
4. Introducir el asa con el inóculo a sembrar, agitar el asa hasta que la muestra sea homogénea.
5. Esterilizar el asa y dejarla enfriar.
6. Flamear el tubo y taparlo.
7. Rotular los tubos de la misma manera que las placas.
8. Desinfectar la mesa de trabajo.
9. Incubar tubos a 37 °C por 24 horas.
10. Repetir los pasos 1 a 9 con la muestra problema.

Segundo Día (Sesión Dos)

1. Analizar y observar cuidadosamente el crecimiento en los tubos, sin abrirlos, y anotar lo observado.
2. En caso de las pruebas bioquímicas, realizar la lectura respectiva y la aplicación de los reactivos correspondiente a la prueba a confirmar.
3. Guardar los tubos en refrigeración (4 a 8 °C), hasta la próxima práctica (opcional).

Procedimiento 2: Prueba de Susceptibilidad a los antibióticos

PREPARACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA:

1. Tomar con un asa bacteriológica de 4 o 5 colonias aisladas del mismo tipo morfológico e inocular en 4 o 5 mL de Caldo Mueller-Hinton
2. Se incuba a 35 °C hasta que aparece una turbidez ligera (generalmente 2 a 5 horas)
3. La turbidez se ajusta con solución salina estéril o caldo estéril hasta tener una densidad comparable, con un estándar de sulfato de bario [El estándar se prepara mezclando 0.5 mL de BaCl₂ 0.048 M (1.175 % peso/volumen de BaCl₂H₂O) con 99.5 ml de H₂SO₄ al 1% v/v (0.36N)].
4. La suspensión ajustada del inóculo no debe permanecer más de 15 a 20 minutos antes de proceder a sembrarla en la caja de Petri.

PROCEDIMIENTO:

Procedimiento:

1. Para inocular el agar se utiliza un hisopo estéril de algodón, el cual se humedece con la suspensión, se quita el exceso de caldo presionado y girando el hisopo sobre la pared interna del tubo, por arriba del nivel del caldo
2. Se estría el medio en tres direcciones sobre la totalidad de la superficie de agar, para obtener un inóculo uniforme, se efectúa un último barrido del

hisopo sobre el reborde de la caja de Petrí y el agar. Cuando el inóculo se haya secado (de 3 a 5 minutos) se procede a colocar los discos.

3. Los discos se toman con pinza estéril y se colocan en la superficie del medio en un tiempo menor de 15 minutos después de haber inoculado la placa, los discos deberán presionarse ligeramente para asegurar un contacto con la superficie
4. Deberá prevenirse una sobreposición de las zonas de inhibición con la distribución adecuada de los discos y con un límite no menor de 15 mm de los bordes de la placa.
5. Después de 15 minutos de haber colocado los discos, invertir la caja de Petrí e incubar a 35 °C. El tiempo de incubación es de 18 a 24 horas.

Segundo Día (Sesión Dos)

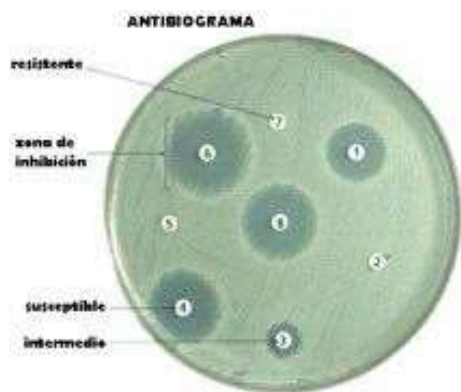
Interpretación:

1. La medición de los halos de inhibición se hace con compás de calibración, Vernier o regla, por el fondo de la caja la cual se ilumina con luz reflejada. El punto final de todos los sistemas de lectura será hasta la completa inhibición del crecimiento determinada visualmente, ignorando colonias tenues o muy pequeñas que pueden ser observadas con minuciosidad.

Resultados:

Realizar el reporte de práctica bajo el formato establecido con la finalidad de ser evaluado con la lista de cotejo respectiva, resaltando los resultados obtenidos en la sesión práctica, comparando las imágenes de los agentes bacterianos aislados con imágenes de libros e internet para determinar su clasificación taxonómica y susceptibilidad antimicrobiana.

Como apoyo se tienen la siguiente imagen y cuadro:



Fuente:

ANTIBIÓTICO	CONCENTRACION (μ g/mL)	DIAMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm		
		Resistente ($\leq$)	Intermedio (ENTRE)	Sensible ($\geq$)
AMIKACINA	30	14	15-16	17
AMPICILINA	10	11	12-13	14
ENTEROBACTERIACEAE Staphylococcus spp.		28		29



ENTEROCOCO		16		17
OTROS ESTREPT.		21	22-29	30
CARBENICILINA	100	17	18-22	23
ENTEROBACTERIACEAE		13	14-16	17
Pseudomona				
CEFALOTINA	30	14	15-17	18
CEFOTAXIMA	30	14	15-22	23
CEFTAZIDIMA	30	14	15-17	18
CETRIAXONA	30	13	14-20	21
CEFUROXIMA	30	14	15-17	18
CLORANFENICOL	30	12	13-17	18
DICLOXACILINA	1			
ESTAFILOCOCOS		10	11-12	13
ENOXACIMA	10	14	15-17	18
ERITROMICINA	15	13	14-17	18
GENTAMICINA	10	12	13-14	15
NETILMICINA	30	12	13-14	15
NITROFURANTOINA	300	14	15-16	17
PEFLOXACINA	5	14	15-22	23
PENICILINA	10 U			
ESTAFILOCOCOS		28		29
N. GONORREAE		19		20
ENTEROCOCOS		14		
OTROS ESTREPT.		19		20
TETRACICLINA	30	14	15-18	19
TRIMETROPRIM-SULFAMETOXAZOL	25	10	11-15	16

Fuente: Instructivo de multidiscos Gram positivos, Gram negativos BIO-RAD

Cuestionario:

1. Menciona las principales diferencias morfológicas de entre la enterobacterias y bacterias Gram negativas que afectan el tracto respiratorio
2. ¿Qué medios de cultivo y pruebas complementarias necesitarías para confirmar el género y especie de los agentes bacterianos antes mencionados?
3. Menciona al menos **cinco** agentes bacterianos que afectan el sistema cardiaco y su relación con problemas respiratorios

Observaciones:

Los estudiantes acataran los Lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia, así como del cuidado y bienestar animal.

El material biológico por utilizar en el aislamiento e identificación micológica debe ser característica, y tomada bajo las debidas medidas de bioseguridad exigidas para este microorganismo y procesarse al menos 4 horas de haber sido recolectada la muestra.

Durante el desarrollo de la práctica se debe cumplir con las medidas de seguridad y bioseguridad por los alumnos, administrativos y académicos bajo la supervisión del responsable de laboratorio. La disposición final de las muestras y material biológico será por parte del laboratorio donde se realizó la práctica, y el académico



Unidad IV	Número de la practica
Bacterias y hongos que afectan el sistema respiratorio y cardiaco	09

Objetivo o competencia de la práctica:

Realizar el proceso de aislamiento e identificación a partir de muestras o cepas de hongos aislados previamente, con la finalidad de establecer estrategias de diagnóstico, control y tratamiento de las enfermedades que afectan los animales.

Materiales:

1. Cajas Petrí de 15 X 100 mm estériles
2. Soporte de vidrio en forma de "V"
3. Asas bacteriológicas calibradas
4. Asas bacteriológicas rectas
5. Portaobjetos.
6. Cubreobjetos
7. Papel secante
8. Marcador permanente
9. Hojas y mango de bisturí
10. Pinzas sin dientes de uso clínico

Material Biológico:

1. Cultivo micótico de *Aspergillus* spp. y/o *Fusarium* spp
2. Una muestra clínica de pulmón con problemas micóticos
3. Una muestra de alimento contaminado por hongos

Reactivos:

1. Agar dextrosa Sabouraud, Agar para hongos o Agar Tripticasa de Soya
2. Agar Sangre
3. Agar MacConkey
4. Tinción de Azul de algodón
5. Solución desinfectante de cloro al 0.5%

Equipo:

1. Estufa microbiológica con rango de temperatura constante de 25 a 30°C
2. Mechero Fisher
3. Microscopio óptico binocular de campo claro, con objetivos de 4X, 10X, 40X, 100X.

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo

Equipo de protección personal:

1. Bata blanca
2. Cubrebocas
3. Guantes de nitrilo

**Lugar de realización:**

Laboratorio multidisciplinario de prácticas de la FMVZ-UAEM.

Desarrollo:

Dentro de todo el proceso técnico, se debe realizar bajo la flama de un mechero y no hacerlo a más de 20 cm de distancia de este. Así mismo antes de iniciar el proceso de laboratorio y al terminar se debe desinfectar la mesa de trabajo.

1. Aislamiento e identificación primaria:

- Tomar con un Hisopo estéril o asa bacteriológica graduada la muestra y e inocular en una caja de Agar Dextrosa-Sabouraud o agar para hongos
- Estriar bajo la técnica de cultivo puro a 30 °C por lo mínimo 72 hrs
- Una vez obtenido el aislamiento se realiza la tinción de Gram y/o tinción de Azul de Algodón-lactofenol.

2. Aislamiento e identificación por el método de microcultivo:

- En una caja Petri de agar dextrosa Sabouraud o agar para hongos se cuadricula bajo 1 cm² y se cortan con una hoja de bisturí para posterior utilización.
- Dentro de una caja Petri estéril agregar entre 2 a 4 mL de agua destilada estéril o solución de glicerina al 10%.
- Colocar el soporte de vidrio y poner un portaobjetos con un cuadro de Agar Sabouraud o Agar para hongos de aproximadamente 1 cm² cortado previamente.
- Con el asa bacteriológica recta tomar la muestra o el hongo previamente aislado, y sembrar por picadura en cada lado del agar, posteriormente colocar el cubreobjetos, tapar la caja e incubar de 25 a 30 °C de entre 24 a 120 hrs aproximadamente.
- Una vez obtenido el crecimiento micótico, se procede a la realización del frotis húmedo.

3. Preparación del frotis húmedo:

- g) Se introduce un algodón impregnado con formol al 10 % en la caja y dejarlo actuar durante 30 minutos con el fin de inactivar al hongo.
- h) En un portaobjetos coloca dos gotas separadas de la tinción de azul de algodón-lactofenol.
- i) Con las pinzas, tomar cada uno de los cubreobjetos que tienen contacto con el crecimiento micótico y colocarlos sobre una de las gotas del colorante.
- j) Se quita el cuadro de agar del portaobjetos donde se cultivo con el apoyo de una hoja de bisturí o pinzas, se coloca dos gotas de colorante y se cubre con un cubreobjetos.

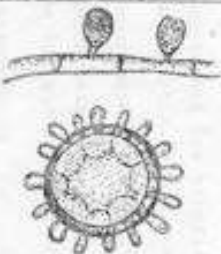
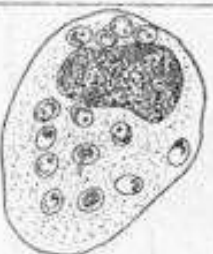
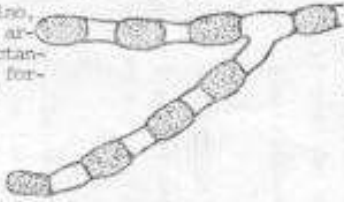
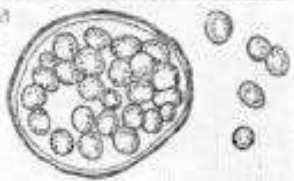
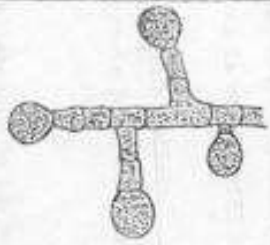
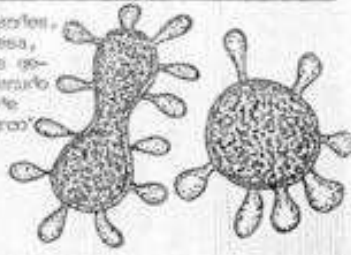


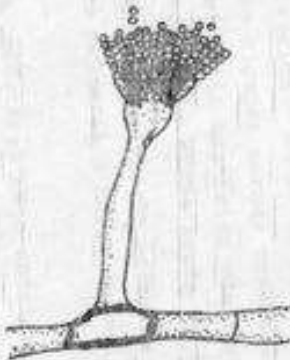
- k) Colocar las preparaciones en el microscopio óptico y observar con los objetivos 10 y 40X
- l) Visualizar las estructuras fungales y sus características morfológicas; y registrarla en el reporte.

Resultados:

Realizar el reporte de práctica bajo el formato establecido con la finalidad de ser evaluado con la lista de cotejo respectiva, resaltando los resultados obtenidos en la sesión práctica, comparando las imágenes de los hongos aislados con imágenes de libros e internet para determinar su clasificación taxonómica.

Como apoyo puede utilizar las siguientes imágenes:

Hongo	Forma micelial	Esquema	Forma levaduriforme	Esquema
<u>Histoplasma capsulatum</u>	Micelio hialino, septado y delgado. Posee microaleuriosporas redondas o piriformes, efímeras, y grandes macroaleuriosporas redondas, de pared delgada, tuberculadas		Levaduras pequeñas, redondas u ovales, uniguicantes. En los tejidos infectados pueden observarse intracelularmente y pseudocapsulas	
<u>Coccidioides immitis</u>	Micelio hialino, septado, con artrosporas rectangulares o en forma de barril		Esferulas de pared gruesa llenas de pequeñas esferulas esféricas	
<u>Paracoccidioides brasiliensis</u>	Micelio hialino, septado con numerosas clamidiosporas intercaladas o terminales. Ocasionalmente conidióforos similares a los de B. dermatitidis		Levaduras grandes, de pared gruesa, con múltiples germinaciones a menudo con aspecto de "tínde de barco"	

Hongo	Forma micelial	Esquema	Forma "evacuáril-forma"	Esquema
<i>Aspergillus spp</i>	Micelio hialino y septado. Conidióforos terminados en una vesícula con varias hileras de esterigmas a partir de donde se originan cadenas de microconidias. Ocasionalmente se observan perithecios y cleistotecios (formas sexuales de reproducción)		Ausente	

Fuente: Manual de microbiología de la FMVZ-UNAM (1ª edición).

Cuestionario:

1. ¿Menciona las principales diferencias morfológicas entre las bacterias y los hongos microscópicos?
2. ¿Qué diferencia hay entre la tinción de Gram y la tinción azul de algodón-lactofenol?
3. ¿Qué medidas de bioseguridad realizarías para manejar y trabajar en enfermedades micóticas?
4. Menciona al menos tres agentes micóticos de importancia en veterinaria que afecta los sistemas respiratorio y cardíaco

Observaciones:

Los estudiantes acataran los Lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia, así como del cuidado y bienestar animal.

El material biológico por utilizar en el aislamiento e identificación micológica debe ser característica, y tomada bajo las debidas medidas de bioseguridad exigidas para este microorganismo y procesarse inmediatamente.

Durante el desarrollo de la práctica se debe cumplir con las medidas de seguridad y bioseguridad por los alumnos, administrativos y académicos bajo la supervisión del responsable de laboratorio.

La disposición final de las muestras y material biológico será por parte del laboratorio donde se realizó la práctica, y el académico llenará la bitácora correspondiente.



Unidad V	Número de la práctica
Bacterias y hongos que afectan el sistema urogenital	10

Objetivo o competencia de la práctica:

Realizar el proceso de aislamiento e identificación bacteriana a partir de muestras de sistema urogenital, con la finalidad de establecer estrategias de diagnóstico, control y tratamiento de las enfermedades que afectan a los animales.

Materiales:

1. Cajas Petrí de 15 X 100 mm estériles
2. Asas bacteriológicas calibradas
3. Asas bacteriológicas rectas
4. Portaobjetos.
5. Cubreobjetos
6. Papel secante
7. Marcador permanente
8. Hisopos

Material Biológico:

4. Cultivo micótico de *Aspergillus* spp. y/o *Fusarium* spp
5. Una muestra clínica de pulmón con problemas micóticos
6. Una muestra de alimento contaminado por hongos

Reactivos:

6. Agar dextrosa Sabouraud
7. Agar para hongos
8. Agar Trypticase de Soya
9. Agar Sangre
10. Agar MacConkey
11. Tinción de Azul de algodón
12. Solución desinfectante de cloro al 0.5%
13. Agar Müller Hinton
14. Multidisco para antibiograma (Gram negativos y Gram positivos)
15. Tinción de Gram
16. Bioquímicas convencionales

Equipo:

4. Estufa microbiológica con rango de temperatura constante de 25 a 30°C
5. Mechero Fisher
6. Microscopio óptico binocular de campo claro, con objetivos de 4X, 10X, 40X, 100X.

Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo



Equipo de protección personal:

4. Bata blanca
5. Cubrebocas
6. Guantes de nitrilo

Lugar de realización:

Laboratorio multidisciplinario de prácticas de la FMVZ-UAEM.

Desarrollo:

1. A partir de una muestra de orina de perro, iniciar el proceso bacteriológico. Inoculando mediante una asa bacteriológica calibrada en los medios de cultivo agar sangre, agar MacConkey y agar de manitol sal. Incubar en la estufa bacteriológica por 24 hrs. a 37 C.
2. Revisar las placas para observar el crecimiento y las características fenotípicas de las colonias, como color, hemólisis y viraje de los medios selectivos como el agar MacConkey.
3. Realizar tinción de Gram para determinar si son Gram negativas o positivas.
4. Realizar las pruebas bioquímicas convencionales necesarias, de acuerdo al enfoque diagnóstico bacteriológico.
5. Desarrollo del antibiograma. Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana se realizaran de acuerdo a la metodología descrita en la práctica número

Resultados:

Con base al crecimiento en los medios de cultivo, características fenotípicas y tintoriales determinar mediante tablas de identificación, al agente o agentes bacteriológicos obtenidos (s).

Las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos de acuerdo a sus propiedades tintoriales (Gram negativas o positivas) se interpretaran de acuerdo a lo descrito en la práctica numero 4

Los resultados obtenidos se registraran de acuerdo al siguiente cuadro

Antibiótico	mg/µg/ UI	Diámetro del halo (mm)		
		Resistente (R) (≤)	Intermedio (I)	Sensible (S) (≥)

**Cuestionario:**

A que se llama medios de cultivo selectivos. Por
qué son útiles los medios selectivos.

Como se determina la sensibilidad o resistencia utilizando multidiscos.

Observaciones:

Los estudiantes acatarán los Lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia, así como del cuidado y bienestar animal.

El material biológico por utilizar en el aislamiento e identificación micológica debe ser característica, y tomada bajo las debidas medidas de bioseguridad exigidas para este microorganismo y procesarse inmediatamente.

Durante el desarrollo de la práctica se debe cumplir con las medidas de seguridad y bioseguridad por los alumnos, administrativos y académicos bajo la supervisión del responsable de laboratorio.

La disposición final de las muestras y material biológico será por parte del laboratorio donde se realizó la práctica, y el académico llenará la bitácora correspondiente.

Unidad V	Número de la practica
Aislamiento e identificación de hongos que afectan el sistema urogenital.	11

Objetivo o competencia de la práctica:

Aislar e identificar hongos que afectan al sistema urogenital de importancia veterinaria, con la finalidad de establecer estrategias de diagnóstico, control y tratamiento de las enfermedades que afectan los animales.

Material biológico

1. Muestra de hisopado vaginal de perra sospechosa de infección por *Cándida albicans* genital

Material de laboratorio

2. Franela
3. Jabón
4. Pizeta con alcohol 96°
5. Gradilla
6. Asas bacteriológicas calibradas
7. Asas bacteriológicas rectas
8. Jeringa 3, 5 y 10 mL.
9. Cinta adhesiva transparente



10. Mango de bisturí
11. Hoja para bisturí
12. Caja Petri vacía estéril
13. Hisopos
14. Hielera con refrigerantes
15. Lápiz
16. Marcador
17. Frascos estériles de boca ancha rosca exterior
18. Portaobjetos
19. Cubreobjetos

Medios de cultivo

20. Placas de agar Sabouraud
21. Tubos de medio de Stuart o Cary-Blair o Amies

Reactivos

22. Azul algodón-lactofenol para tinción de hongos
23. Torundas con alcohol al 70 %
24. Torundas con yodo al 2 %
25. Solución salina 0.8% estéril

Equipo de laboratorio

26. Estufa bacteriológica con rango de temperatura constante de 30°C
 27. Mechero Fisher
 28. Microscopio óptico binocular de campo claro, con objetivos de 4X, 10X, 40X, 100X
- Nota: la cantidad de cada material estará sujeto al número de alumnos matriculados en cada grupo

Equipo de protección personal:

29. Bata
30. Mascarilla bacteriológica
31. Guantes de látex o nitrilo
32. Overol
33. Botas

Lugar de realización

Laboratorio multidisciplinario de la FMVZ-UAEM

Desarrollo:

A. Aislamiento y cultivo de levaduras.

1. Obtener una muestra de hisopado vaginal de perra sospechosa de infección por *Cándida albicans* genital
2. Inocular placas de agar Sabouraud,



3. Incubar a temperatura ambiente durante varios días hasta observar el crecimiento de colonias

B. Observación microscópica de levaduras

1. De la placa con el cultivo de la levadura seleccionar una colonia de levadura.
2. Fijar la levadura de la misma manera como se fija una bacteria.
3. Teñir la preparación con la solución de azul de algodón lactofenol, lavar, sacudir para retirar el exceso de agua, dejar secar.
4. Para la identificación microscópica de hongos filamentosos, deberá observarse la morfología, micelio, estructuras especiales y/o características, con los objetivos en seco y de inmersión.

Resultados:

1. Las colonias de *Cándida albicans* son de color blanco amarillas lisas de apariencia cremosa y convexa.
2. Mediante frotis del aislado teñido con azul algodón, deberán observarse levaduras esféricas o subglobosas, solitarias o en gemación multipolar.
3. Realizar el reporte de práctica bajo el formato establecido con la finalidad de ser evaluado con la lista de cotejo respectiva, resaltando los resultados obtenidos en la sesión práctica.

Cuestionario:

1. Por qué los tratamientos prolongados con antibióticos puede predisponer a infecciones a infecciones por *Cándida albicans*.

Observaciones

Los alumnos acataran los lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia, así como el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente).



Unidad VII	Número de la practica
Bacterias y hongos involucrados en enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's).	12

Objetivo o competencia de la práctica:

Realizar el proceso de aislamiento e identificación a partir de muestras de alimentos o cepas aisladas previamente, con la finalidad de establecer estrategias de diagnóstico, control de las enfermedades que afectan la Salud Pública y los animales.

Materiales, reactivos y/o equipo:**Materiales:**

1. Asas bacteriológicas calibradas
2. Asas bacteriológicas rectas
3. Portaobjetos.
4. Cubreobjetos
5. Papel secante
6. Marcador permanente
7. Tiras de papel filtro

Material Biológico:

1. 1 cultivo en agar de *Escherichia coli*
2. 1 cultivo en agar de *Staphylococcus aureus*
3. Una muestra de alimento de origen animal
4. Una muestra de alimento para uso o consumo animal

Reactivos:

1. Cajas Petri con Agar Sangre con sangre de ovino al 10%
2. Cajas Petri con Agar MacConkey.
3. Cajas Petri con Mueller-Hinton
4. Tubos con tapón de rosca con Agar de Triple Hierro y Azúcar (TSI)
5. Tubos con tapón de rosca con Medio SIM
6. Tubos con tapón de rosca con Urea
7. Tubos con tapón de rosca con Base de rojo de Fenol con Lactosa, glucosa, manitol y maltosa.
8. Tubos con tapón de rosca con Medio MIO
9. Tubos con tapón de rosca con Citrato de Simmons
10. Tubos con tapón de rosca con Urea
11. Tubos con tapón de rosca con MR-VP
12. Tubos con tapón de rosca con caldo Mueller-Hinton
13. Frasco gotero con Reactivo de Oxidasa
14. Frasco gotero con Reactivo de Kovac
15. Frasco gotero con Reactivo Rojo de Metilo
16. Frascos gotero con reactivos Voges-Proskauer
17. Juego de tinción de Gram



18. Frasco gotero con reactivo de KOH al 3 %

19. Caja de multidiscos para Gram negativos

20. Caja de multidiscos para Gram positivos

Equipo:

1. Estufa bacteriológica con una temperatura constante de 37°C

2. Mechero Fisher

3. Microscopio óptico binocular de campo claro, con objetivos de 4X, 10X, 40X, 100X.

Equipo de protección personal:

1. Bata blanca

2. Cubrebocas

3. Guantes de nitrilo

Lugar de realización:

1. Laboratorio multidisciplinario de prácticas de la FMVZ-UAEM.

Desarrollo:

Dentro de todo el proceso técnico, se debe realizar bajo la flama de un mechero y no hacerlo a más de 20 cm de distancia de este. Así mismo antes de iniciar el proceso de laboratorio y al terminar se debe desinfectar la mesa de trabajo.

Procedimiento 1: Aislamiento e identificación bacteriana

Proceso de Inoculación y Siembra en Placa:

Primer Día (Sesión Uno)

1. Desinfectar la mesa de trabajo con cloro al 0.5%.

2. Seleccionar una colonia del medio con cultivo puro, sosteniendo la placa a una distancia no mayor de 20 cm del mechero.

3. Esterilizar el asa con el mechero y enfriarla en el agar.

4. Tomar únicamente la colonia seleccionada con el asa.

5. Descargar el asa en uno de los extremos de la placa.

6. Realizar la siembra con la misma asa bajo la técnica de aislamiento en cultivo puro.

7. Esterilizar el asa y dejarla enfriar.

8. Cerrar la caja y rotularla con el número o nombre de muestra, número de equipo y fecha.

9. Incubar las placas a 37 °C por 24 horas.

10. Repetir los pasos 1 a 9 con la muestra problema.

Segundo Día (Sesión Dos)

1. Desinfectar la mesa de trabajo y encender el mechero.

2. Analizar cuidadosamente el crecimiento bacteriano en las cajas de Petrí, sin abrirlas.

3. Observar las colonias obtenidas y describirlas teniendo en cuenta las siguientes características: tamaño, color de la colonia, pigmentación de medio, estructura interna, borde y hemólisis.

4. Interpretar las formas y características de las colonias.



5. Guardar las cajas en el refrigerador, hasta la próxima práctica (OPCIONAL).

Proceso de Inoculación y Siembra en Tubo (Medio Sólido):

Primer Día (Sesión Uno)

1. Destapar el tubo y flamear la parte superior.
2. Esterilizar el asa recta y enfriarla.
3. Tomar una colonia del medio que contiene el cultivo puro con el asa recta estéril.
4. Sembrar en los tubos con agar inclinado de acuerdo con el método que se utilice de siembra, a una distancia aproximada de 20 cm del mechero.
5. Rotular los tubos de la misma manera que las placas.
6. Incubar placas a 37 °C por 24 horas.
7. Repetir los pasos 1 a 6 con la muestra problema.

Segundo Día (Sesión Dos)

1. Analizar y observar cuidadosamente el crecimiento en los tubos, sin abrirlos, y anotar lo interpretado.
2. En caso de las pruebas bioquímicas, realizar la lectura respectiva y la aplicación de los reactivos correspondiente a la prueba a confirmar.
3. Guardar los tubos en el refrigerador, hasta la próxima práctica (opcional).

Proceso de Inoculación en Tubo (Medio Líquido):

Primer Día (Sesión Uno)

1. Esterilizar el asa recta y enfriarla.
2. Seleccionar una colonia del medio a una distancia aproximada de 20 cm del mechero.
3. Destapar el tubo y flamear la parte superior.
4. Introducir el asa con el inoculador a sembrar, agitar el asa hasta que la muestra sea homogénea.
5. Esterilizar el asa y dejarla enfriar.
6. Flamear el tubo y taparlo.
7. Rotular los tubos de la misma manera que las placas.
8. Desinfectar la mesa de trabajo.
9. Incubar tubos a 37 °C por 24 horas.
10. Repetir los pasos 1 a 9 con la muestra problema.

Segundo Día (Sesión Dos)

1. Analizar y observar cuidadosamente el crecimiento en los tubos, sin abrirlos, y anotar lo observado.
2. En caso de las pruebas bioquímicas, realizar la lectura respectiva y la aplicación de los reactivos correspondiente a la prueba a confirmar.
3. Guardar los tubos en refrigeración (4 a 8 °C), hasta la próxima práctica (opcional).

Procedimiento 2: Prueba de Susceptibilidad a los antibióticos

PREPARACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA:



1. Tomar con un asa bacteriológica de 4 o 5 colonias aisladas del mismo tipo morfológico e inocular en 4 o 5 mL de Caldo Mueller-Hinton
2. Se incuba a 35 °C hasta que aparece una turbidez ligera (generalmente 2 a 5 horas)
3. La turbidez se ajusta con solución salina estéril o caldo estéril hasta tener una densidad comparable, con un estándar de sulfato de bario [El estándar se prepara mezclando 0.5 mL de BaCl₂ 0.048 M (1.175 % peso/volumen de BaCl₂H₂O) con 99.5 ml de H₂SO₄ al 1% v/v (0.36N)].
4. La suspensión ajustada del inóculo no debe permanecer más de 15 a 20 minutos antes de proceder a sembrarla en la caja de Petrí.

Procedimiento:

1. Para inocular el agar se utiliza un hisopo estéril de algodón, el cual se humedece con la suspensión, se quita el exceso de caldo presionado y girando el hisopo sobre la pared interna del tubo, por arriba del nivel del caldo
2. Se estría el medio en tres direcciones sobre la totalidad de la superficie de agar, para obtener un inóculo uniforme, se efectúa un último barrido del hisopo sobre el reborde de la caja de Petrí y el agar. Cuando el inóculo se haya secado (de 3 a 5 minutos) se procede a colocar los discos.
3. Los discos se toman con pinza estéril y se colocan en la superficie del medio en un tiempo menor de 15 minutos después de haber inoculado la placa, los discos deberán presionarse ligeramente para asegurar un contacto con la superficie
4. Deberá prevenirse una sobreposición de las zonas de inhibición con la distribución adecuada de los discos y con un límite no menor de 15 mm de los bordes de la placa.
5. Después de 15 minutos de haber colocado los discos, invertir la caja de Petrí e incubar a 35 °C. El tiempo de incubación es de 18 a 24 horas.

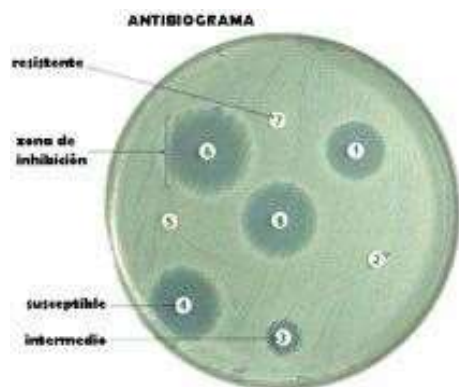
Segundo Día (Sesión Dos)

Interpretación:

1. La medición de los halos de inhibición se hace con compás de calibración, Vernier o regla, por el fondo de la caja la cual se ilumina con luz reflejada. El punto final de todos los sistemas de lectura será hasta la completa inhibición del crecimiento determinada visualmente, ignorando colonias tenues o muy pequeñas que pueden ser observadas con minuciosidad.

Resultados:

Realizar el reporte de práctica bajo el formato establecido con la finalidad de ser evaluado con la lista de cotejo respectiva, resaltando los resultados obtenidos en la sesión práctica, comparando las imágenes de los agentes bacterianos aislados con imágenes de libros e internet para determinar su clasificación taxonómica y susceptibilidad antimicrobiana. Como apoyo se tienen la siguiente imagen y cuadro:



Fuente:

ANTIBIÓTICO	CONCENTRACIÓN (μ g/mL)	DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN mm		
		Resistente ($\leq$)	Intermedio (ENTRE)	Sensible ($\geq$)
AMIKACINA	30	14	15-16	17
AMPICILINA	10	11	12-13	14
ENTEROBACTERIACEAE		28		29
Staphylococcus spp.		16	22-29	17
ENTEROCOCO		21		30
OTROS ESTREPT.	100	17	18-22	23
CARBENICILINA		13	14-16	17
ENTEROBACTERIACEAE	30	14	15-17	18
Pseudomona spp		14	15-22	23
CEFALOTINA	30	14	15-17	18
CEFOTAXIMA	30	14	15-22	23
CEFTAZIDIMA	30	14	15-17	18
CETRIAXONA	30	13	14-20	21
CEFUROXIMA	30	14	15-17	18
CLORANFENICOL	30	12	13-17	18
DICLOXACILINA	1	10	11-12	13
ESTAFILOCOCOS		14		18
ENOXACIMA	10	13	14-17	18
ERITROMICINA	15	12	13-14	15
GENTAMICINA	30	12	13-14	15
NETILMICINA	300	14	15-16	17
NITROFURANTOINA	5	14	15-22	23
PEFLOXACINA	10 U	28		29
PENICILINA		19		20
ESTAFILOCOCOS		14		
N. GONORREAE		19		20
ENTEROCOCOS		19		
OTROS ESTREPT.	30	14	15-18	19
TETRACICLINA	25	10	11-15	16
TRIMETROPRIM-SULFAMETOXAZOL				

Fuente: Instructivo de multidiscos Gram positivos, Gram negativos BIO-RAD

**Cuestionario:**

1. Menciona las principales diferencias morfológicas de entre la enterobacterias y bacterias Gram negativas que afectan el tracto respiratorio
2. ¿Qué medios de cultivo y pruebas complementarias necesitarías para confirmar el género y especie de los agentes bacterianos antes mencionados?
3. Menciona al menos 5 agentes bacterianos que afectan el sistema cardiaco y su relación con problemas respiratorios

Observaciones:

Los alumnos acataran los lineamientos de los Laboratorios Multidisciplinarios de Docencia. El material biológico por utilizar en el aislamiento e identificación micológica debe ser característica, y tomada bajo las debidas medidas de bioseguridad exigidas para este microorganismo y procesarse al menos 4 horas de haber sido recolectada la muestra. Durante el desarrollo de la práctica se debe cumplir con las medidas de seguridad y bioseguridad por los alumnos, administrativos y académicos bajo la supervisión del responsable de laboratorio. La disposición final de las muestras y material biológico será por parte del laboratorio donde se realizó la práctica, y el académico llenará la bitácora correspondiente.



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia
Reestructuración, 2015



V. Acervo bibliográfico

Básico:

Baron, S., Medical Microbiology (1996). Consultado: Disponible:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21413252/>

Carlton, L. G.; John, F. P.; Songer, J. G. and C. O. Thoen, (2010) *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. USA, Blackwell Publishing. ISBN: 9780813812373. (SF780.3 .P37 2010).

Carter, G.R. and Wise Darla., (2004). *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*. Sixth Edition. Blackwell Publishing Profesional. ISBN 0-8138-1179.1 (QR49.C32 2004).

Hirsh, D. C.; MacLachlan, J. and R. L. Walker, (2004) *Veterinary Microbiology*. USA, Blackwell Science. ISBN: 9780813803791. (SF 780.2 .V48 2004).

Madigan Michael, T. et al., (2009) *Biología de los microorganismos*. 12ª edición. España, Pearson. ISBN: 9788478290970. (QR 41.2 .B753 2009).

Molina, L. J.; Manjarrez, Z. M. E. y Z. J. Tay, (2010) *Bacteriología y Virología*. México, Méndez Editores. ISBN: 9786077659112. (QR46 .M653 2010).

Ofek, Itzhark; Hasty David L. and Doyle Ron J., (2003). *Bacterial Adhesion to Animal Cell and Tissues*. American Society for Microbiology. ASM PRESS .ISBN 1-55581-263-5-90000. (QR96.8.044 2003).

Pommerville, J., *Fundamentals of Microbiology* (2013).
Disponible: [https://books.google.com.pk/books?hl=es&lr=&id=IW0rAQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&dq=Fundamentos+de+microbiología+\(10.ª+ed.\)&ots=NofF63F--Z&sig=JNjkBICd9qiC9iPJI4G3IbJLLJk](https://books.google.com.pk/books?hl=es&lr=&id=IW0rAQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&dq=Fundamentos+de+microbiología+(10.ª+ed.)&ots=NofF63F--Z&sig=JNjkBICd9qiC9iPJI4G3IbJLLJk)

Songer, J. G. and K. W. Post, (2005) *Veterinary Microbiology (Bacterial and fungal Agents of Animal Disease)*. 1ª edition. USA, Elsevier Saunders. ISBN: 0721687172. (SF780.2 C55 2013).

Stanchi, O. N. et al., (2007) *Microbiología Veterinaria*. 1ª edición. Argentina, Inter- Médica. ISBN: 9789505553211. (SF 780.2 M53 2007).

Tortora, G., Funke, B., Case, C., *Microbiology: An Introduction* 9 (2018).
Disponible: <https://lib.hpu.edu.vn/handle/123456789/33526>

Complementario:

Brogden, K. A., (2000) *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens*. 3ª edition. USA, ASM Press. ISBN: 1-55581-174-4 (QR175 V57 2000).

Burdon, Kennet L.; Williams, Robert P., (1978) *Microbiología*. 2ª reimpresión en español. The Mac Millan Company. (QR41/B78).

Deacon, J. W., (1988) *Introducción a la Micología Moderna*. México, Limusa. ISBN: 968-18-2641-8. (QK 603 D42).

Hungerford, C. C.; Charles, L. et al., (1998) *Veterinary mycology laboratory manual*. USA, Blackwell Science. ISBN: 0-8138-2849-X. (SF 780.7 H85).

Holt, J. G. et al., (1994) *Bergey's manual of determinative bacteriology*. USA, Lippincott Williams & Wilkins. ISBN: 9780683006032. (QR81 .A5 1994).



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia
Reestructuración, 2015



Jawetz, E.; Melnick, J. L. et al., (1981) *Manual de Microbiología Medica*. México, El Manual Moderno. ISBN: 968-426-155-1. (QR 46 J375 1981).

Mac Faddin, J. F., (1990) *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. México, Médica Panamericana ISBN: 968-7157-10-0. (QR46 M32).

Madigan, Michael T. and Martinko John M., (2006) *Brock Biology Microorganisms*. Eleventh Edition. Pearson Prentice Hall. (QR 41.2.B77 2006).

Pérez, M. J. A. y G. F. Suarez, (1990) *Bacteriología General: Principios Químico- Biológicos*. México, UNAM. ISBN 968-36-1495-7. (QR 46 P48).

Prescott, L. M. et al., (1999) *Microbiología*. España, Mc Graw-Hill-Interamericana. ISBN: 84-486-0525-X. (QR 41.2 P74).

Wheelis Mark L (2008). *Principles of Modern Microbiology*. (QR 41.2.W52 2008).