

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

UNIDAD ACADÉMICA PROFESIONAL ACOLMAN

LICENCIATURA EN NUTRICIÓN



MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO

AGENTES BIOLÓGICOS

Fecha de elaboración	Octubre de 2019	Versión: 1.0
Fecha de aprobación por la Coordinación de la Unidad	Octubre de 2019	
Elaboró	M. en A. P. Víctor Alfonso Reyes Larios L.N. Lorena Ivette Espinoza Zavala	
Revisó	L. N. Rocío Vázquez García	
Aprobó	M. en Psict. Allyn Moncayo Vichicontty 24/01/2020	



ÍNDICE

	Página
Presentación	3
Características de la Unidad de Aprendizaje de Agentes Biológicos	4
Programa Operativo Práctico	5
Objetivo General	5
Reglamento del laboratorio	6
Evaluación	7
Material	9
Características del Reporte de Práctica	11
Práctica No. 1 Microscopio	12
Práctica No. 2 Clasificación de los microorganismos	16
Práctica No. 3 Preparación de material para microbiología, limpieza y esterilización	20
Práctica No. 4 Clasificación de los medios de cultivo microbiológicos y su utilidad en el diagnóstico	26
Práctica No. 5 Siembra	31
Práctica No. 6 Características macroscópicas	35



PRESENTACIÓN

El presente manual de laboratorio tiene como objetivo principal proporcionar herramientas básicas a los alumnos de la Licenciatura en Nutrición sobre el manejo de material y reactivos de laboratorio, para que adquieran las habilidades y destrezas necesarias para trabajar en un laboratorio de Microbiología.

El desarrollo de las prácticas va de la mano con la impartición de la parte teórica de la unidad de aprendizaje, sin embargo, se dará prioridad a revisar primero teoría y después las practicas asociadas al programa de la unidad de aprendizaje.

El desarrollo de este manual de prácticas tiene el objetivo de acercar a los estudiantes al método científico, priorizando la inventiva y el ingenio para aplicar las buenas prácticas de laboratorio a su futuro desarrollo como profesionales de la nutrición.

El presente manual está considerando enseñar el uso y practicidad del laboratorio, no dejando de lado que es muy posible que los alumnos no tengan experiencia reciente en el quehacer rutinario en un laboratorio, por lo tanto, se pensó en desarrollar practicas introductorias que permitirán al alumno adquirir conocimiento y habilidades necesarias para llevar a buen término sus prácticas de laboratorio consiguientes.

El Manual consta de 6 prácticas que se desarrollan durante el período programado para la Unidad de Aprendizaje.

El presente Manual y las prácticas que en él se proponen permiten que el alumno integre el dominio cognitivo teórico en la aplicación práctica, además desarrollar habilidades tanto numérico como de análisis, que permitan la solución de problemas que demanden su intervención.

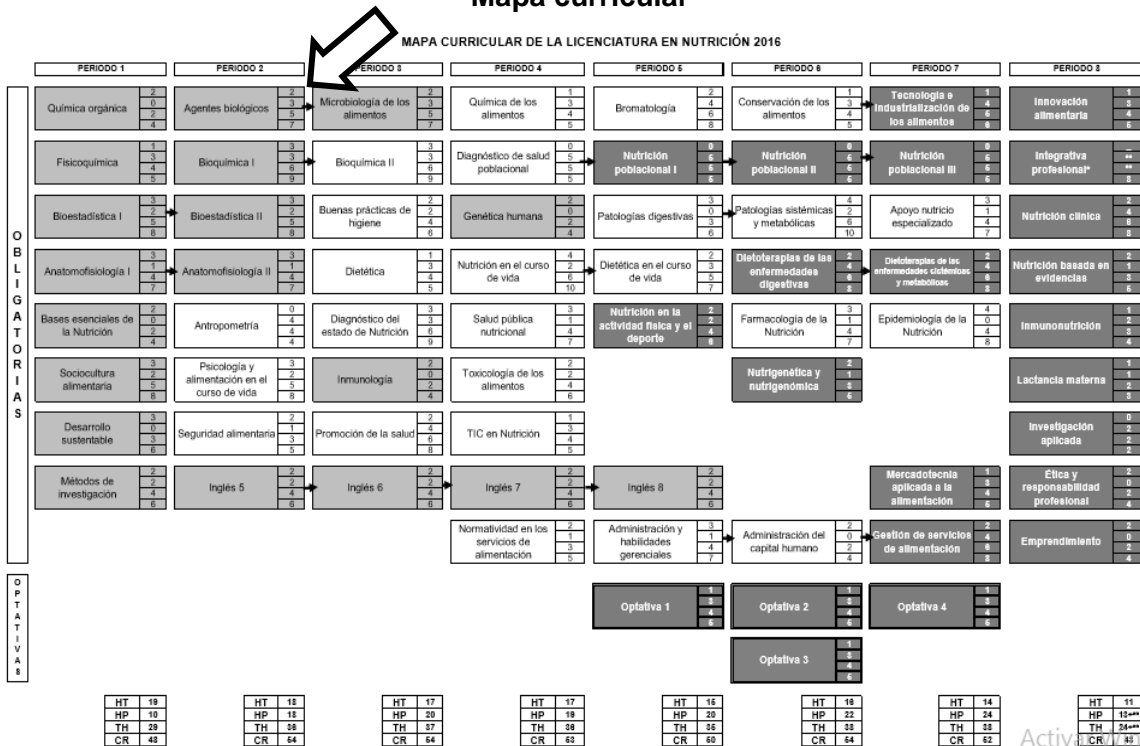
De acuerdo con el perfil de egreso, permite que el alumno adquiera conocimientos en el comportamiento básico de los alimentos y la aplicación de la fisicoquímica, además de entender los cálculos numéricos necesarios para su aplicación en sistemas biológicos.



Características de la unidad de aprendizaje

NÚCLEO DE FORMACIÓN:	ÁREA DISCIPLINAR:	HORAS		CRÉDITOS
		TEÓRICAS	PRÁCTICAS	
Básico Obligatorio	Ciencias Naturales y exactas	2	3	7

Ubicación de la unidad de aprendizaje en el Mapa curricular





Programa Operativo Práctico de la Unidad de Aprendizaje Agentes biológicos.

DURACIÓN: 16 Semanas

JUSTIFICACIÓN: El estudiante dominará el manejo del equipo básico de un laboratorio de microbiología, las técnicas de asepticas, de preparación de cultivos y sus propiedades así como su uso y aplicación práctica, para la determinación de los principales microorganismos (bacterias, hongos, virus y parásitos) como agentes agresores que alteran el estado de nutrición del individuo, además desarrollará habilidades de análisis y resolución de problemas de datos que le permitirán comprender el comportamiento de los sistemas biológicos, así como el de los alimentos, y adquirir las bases necesarias para entender sus procesos de transformación y conservación de los alimentos, conocimientos necesarios en su desempeño profesional como nutriólogo.

El profesional de la salud requiere entender a la materia en su naturaleza y estructura, conocer sus propiedades y cambios, así como su relación con la energía y tener un conocimiento básico de los Agentes Biológicos, lo que le permitirá entender el funcionamiento del cuerpo humano y la relación con su entorno, además de adquirir destrezas y habilidades en el manejo del material de un laboratorio de Microbiología.

PROPÓSITO GENERAL: Aplicar los principios del cultivo y caracterización morfológica de los microorganismos para su identificación.

ESCENARIO: Salón de clases, Laboratorio de Microbiología.



Reglamento de laboratorio

1. Sólo se permitirá trabajar en el laboratorio cuando se encuentre el profesor de la unidad de aprendizaje.
2. Trabajar con bata blanca de algodón y zapatos cerrados.
3. Cuando se trabaje con microorganismos deben emplearse guantes de látex y cubre bocas.
4. Las superficies de trabajo deben ser descontaminadas antes y después de una sesión de trabajo e inmediatamente después de algún derrame de material contaminante.
5. Deberán lavarse las manos después de manipular cultivos bacterianos, así como al salir del laboratorio.
6. Todos los medios de cultivo inoculados con microorganismos deberán ser esterilizados antes de ser desechados.
7. Los materiales que estén en contacto con microorganismos deberán ser esterilizados por métodos físicos (con calor húmedo) o químicos (por ejemplo, con cloro) antes de ser lavados o desechados en los lugares designados por el profesor.
8. No se permite pipetear ningún líquido con la boca.
9. Está prohibido ingerir alimentos o bebidas dentro del laboratorio.
10. Está prohibido fumar dentro del laboratorio.
11. Deberá mantener limpia y ordenada el área de trabajo y el laboratorio.
12. Todos los resultados y cálculos deben ser registrados en una bitácora exclusiva para el laboratorio.



Evaluación

El alumno deberá cumplir con el 80% de asistencias para poder ser evaluado.
La calificación del módulo de Agentes Biológicos se obtiene acreditando la teoría y el laboratorio con una calificación mínima de seis ()
Teoría () % de la calificación.
Calificación del módulo ()

Laboratorio

Laboratorio () % de la calificación.
El laboratorio se acredita promediando los siguientes rubros:

Rubro a evaluar	Ponderación
Examen práctico	40%
Trabajo de laboratorio	20%
Evaluación de la practica	20%
Mesa redonda	10%
Informe de laboratorio	10%

Nota: Para poder ser promediados todos los aspectos deben tener calificación promedio mínima de SEIS (6.0)

Examen practico 40%

Calificación aprobatoria mínima de ()

Se realiza de manera individual con base en las instrucciones del profesor, considerando los siguientes pasos:

- Tinción de Gram y manejo adecuado del microscopio.
- Selección de los medios de cultivo.
- Cultivo y aislamiento.
- Selección y fundamento de las pruebas bioquímicas.
- Informe del examen práctico, con la estructura que indique el profesor.

Trabajo o desempeño en laboratorio 20%

Calificación promedio aprobatoria mínima de seis ()
Se evaluará el desempeño individual de los alumnos en el laboratorio durante el desarrollo de la practica, considerando los siguientes aspectos



- Asistencia y puntualidad (sin valor para calificación) Se requiere contar con una asistencia mínima de 80% para ser evaluado.
- Contar con el material básico y muestras para el desarrollo de la practica.
- Limpieza durante y al final de la practica.
- Organización para el desarrollo de trabajo colaborativo.
- Habilidad para el desarrollo de las actividades prácticas.

Evaluación de la práctica 20%

Calificación promedio aprobatoria mínima de ()

Se realizará una evaluación de conocimientos previos, el instrumento (formato del examen escrito) para realizar esta evaluación queda a criterio del asesor.

Mesa redonda 10%

Calificación promedio aprobatoria mínima de ()

El profesor realizara la mesa redonda con los equipos integrados por los alumnos; en un tiempo máximo de 40 minutos, en la cual se abordarán los fundamentos, método, e información inherentes a la práctica; así mismo el profesor evaluará los conocimientos previos que poseen los alumnos antes de dar inicio a la sesión práctica. Para lo cual será indispensable que el alumno lleve su bitácora con la investigación correspondiente, ya que esta será tomada en cuenta para su evaluación.

Informe de laboratorio 10%

Calificación promedio aprobatoria mínima de ()

La estructura del reporte será como lo indique el profesor y deberá incluir como mínimo: carátula, objetivo, resultados, análisis de resultados conclusiones y referencias escritas con base en los criterios APA o Vancouver

Material Básico para el laboratorio de la unidad de aprendizaje Agentes Biológicos.

Individual

- Bata blanca para laboratorio.
- Caja de guantes de látex de cirujano.
- Guantes de látex para uso doméstico (para lavar material)
- Cubre bocas.
- Asas bacteriológicas (un asa recta y un asa redonda)
- Libreta forma francesa de pasta dura (bitácora)



Por equipo

- Un paquete grande de Algodón plisado
- Gasa por rollo
- Frascos goteros color ámbar
- Masking tape (de una pulgada de ancho)
- Marcador permanente de punto fino
- Cinta testigo
- Caja de portaobjetos
- Caja de cubreobjetos
- Pinzas de disección de punta roma
- Papel seda
- Tijeras que corten tela
- Papel kraft o un kg de papel de estraza.
- Gradilla para tubos 18X150 (OPCIONAL)
- Jeringas de 5 y 10ml
- 4 botes medianos diferentes tamaños (como fruta en almíbar, leche, etc.)
- Caja de cartón para trasportar el material
- Bandeja de plástico mediana
- Rociador
- Hipoclorito de sodio
- Un frasco de torundas de algodón en alcohol desnaturalizado al 70%
- Etanol desnaturalizado al 70%
- Benzal al 10% v/v
- 2 mecheros Bunsen con manguera
- Franelas de microfibra
- Jabón liquido para manos
- Jabón liquido para trastes
- Escobillón para tubos
- Fibra para lavar trastes
- 2 encendedores o cajas de cerillos
- Tela de alambre (sin asbesto)
- Espátula
- Recipiente para guardar frascos goteros con colorantes
- Termómetro de 150°C
- 1 agitador de vidrio



CARACTERÍSTICAS QUE DEBE CONTENER EL REPORTE DE PRÁCTICA

	PRÁCTICA 1	PRÁCTICA 2	PRÁCTICA 3	PRÁCTICA 4	PRÁCTICA 5
Introducción (1)					
Objetivo (1)					
Material (1)					
Desarrollo (ilustrado) (4)					
Conclusiones (2)					
Bibliografía (formato APA 6.0, artículos o libros) (1)					

NOTA: Todos los reportes son escritos en letra de molde hecha por el alumno. Se irán integrando las hojas del reporte en el manual, para que al final se entregue completo y engargolado.

NOMBRE DE LOS ALUMNOS:

GRUPO: _____ EQUIPO:



PRÁCTICA 1 “MICROSCOPIO”

Objetivo:

Conocer la evolución de los microscopios, las partes que integran un microscopio, así como el correcto cuidado y manejo de este.

Aspectos teóricos

El alumno investigara los siguientes temas relacionados con el microscopio y elaborara un resumen que contenga los siguientes puntos:

1. Aspectos teóricos del estudio de la célula, características morfológicas de la célula, teoría celular, componentes de la célula.
2. Diferenciar e identificar los agentes biológicos que afectan la salud del ser humano.
3. Microscopio.
4. Microscopio óptico de campo claro, sistema mecánico, sistema de iluminación, sistema óptico.
5. Microscopio óptico de campo oscuro.
6. Microscopio óptico de luz ultravioleta.
7. Microscopio óptico de fluorescencia.
8. Microscopio óptico de contraste de fases.
9. Microscopio electrónico.

Material y reactivos.

Material

- Papel seda.
- Preparaciones fijas.

Reactivos.

- Aceite de inmersión.

Equipo.

- Microscopio.

Servicios.

- Electricidad.
- Agua.

Procedimiento.



1. Cuidado del microscopio e identificación de sus componentes.

Recibir el microscopio, sujetándolo firmemente con ambas manos para trasladarlo, con una mano tomarlo de su brazo y con la otra por debajo del soporte o pie, nunca tomarlo de lado o por la platina porque se puede caer y dañarse irremediablemente. Depositarlo sobre la mesa con suavidad.

Identificar cada uno de los componentes del microscopio.

Asegurarse de que se encuentren limpias las piezas ópticas, de no ser así, límpielas cuidadosamente siguiendo el procedimiento para limpieza del microscopio. Los lentes por limpiar son: oculares, objetivos y condensador; las cuales no deben quitarse de su lugar porque podría introducirse polvo al interior del microscopio.

Observar los datos del microscopio e identificar: En el ocular, el coeficiente de aumento.

En el objetivo: el coeficiente de aumento, la apertura numérica, la longitud mecánica del tubo y el espesor del portaobjeto a emplear.

Calcular el total de amplificación que se puede obtener con los diferentes objetivos. Alinear el objetivo de menor aumento con el tubo del microscopio.

Con el tornillo macrométrico, acercar al máximo la platina al objetivo, observando lateralmente para que no lleguen a chocar.

2. Iluminación.

Encender la lámpara.

Abrir los diafragmas (de campo y de iris). Subir el condensador.

Seleccionar el objetivo (5X o 10X).

Ajustar la distancia interpupilar (distancia entre los ojos). Enfocar con el macrométrico y micrométrico.

Cerrar el diafragma de campo.

Descender ligeramente el condensador hasta ver nítido el borde del diafragma de campo.

De ser necesario, centrar el condensador con la ayuda de sus dos tornillos laterales; una vez centrado el condensador, abrir el diafragma de campo, e intensificar un poco más la luz.

3. Enfoque de la preparación.

Colocar la preparación en la platina.

Con el tornillo macrométrico llevar la platina lo más cercano posible al objetivo (observando lateralmente).

Observar por el ocular, mover lentamente el tornillo macrométrico para separar el objetivo de la preparación hasta que aparezca la imagen del objeto.

Para mejorar la nitidez de la imagen utilice el tornillo micrométrico, disminuya la intensidad de la luz cerrando el diafragma de la lámpara o bajando ligeramente el voltaje de la misma. Colocar el objeto de interés en el centro del campo microscópico, moviendo ligeramente la platina.

Girar el revólver y alinear el objetivo de 40X con el tubo microscópico.

Observar por el ocular y verificar que la imagen permanezca enfocada ajustar solamente si es necesario con el tornillo micrométrico nunca con el macrométrico porque esto dañará el microscopio.

Girar el revolver, colocar sobre la preparación un cubreobjetos y una gota de aceite de inmersión y continuar girando hasta alinear el objetivo de 100X.



Observar por el ocular y verificar que la imagen permanezca enfocada ajustar si es necesario con el tornillo micrométrico y para muestras tenidas aumentar la intensidad de la luz.

Después de retirar la preparación y al terminar de hacer las observaciones, limpiar tanto el ocular como los objetivos siguiendo el procedimiento para limpieza del microscopio. Dejar el microscopio con el objetivo de menor aumento alineado con el tubo y lo más cercano posible a la platina.

Entregar las preparaciones fijas al profesor de prácticas después de quitarles el aceite.

Reporte de resultados.

Reportar las observaciones de las preparaciones proporcionados por el profesor, anotar los datos importantes de la preparación y de la observación: muestra, tinción, aumento total y descripción de lo observado.

Muestra	Tinción	Aumento total	Descripción de la observación

Cuestionario.

1. Menciona brevemente como funciona cada uno de los siguientes tipos de microscopio: de campo claro, de campo oscuro, de contraste de fases, de luz ultravioleta, de fluorescencia y electrónico.
2. ¿Cuál es la principal utilidad de cada uno de los microscopios antes mencionados?
3. Defina lo que es poder de resolución y discuta los factores que lo condicionan.
4. ¿Por qué es necesario el uso de aceite de inmersión cuando se realizan enfoques con el lente objetivo de alto poder?
5. Describa la técnica correcta para enfocar un frotis bacteriano.
6. ¿Qué cuidados se deben tener en el uso y manejo del microscopio?
7. Defina el término apertura numérica.
8. ¿Por qué los objetivos están ubicados en un revolver?
9. ¿Qué es el índice de refracción?
10. ¿Qué es el índice de difracción?



Bibliografía

S, Biagi F., Flisser A., Pérez-T m y R, (2006) "Aprendizaje de la parasitología basado en problemas" México Editores de textos mexicanos.

Bonifaz, A (2012) "Micología Médica básica". España. Editorial Mc Graw Hill 4° Edición.

Jawetz, Melnick y Adelberg. (2011) "Microbiología Médica" Méxi Edi i Mc Graw Hill. 25° Edición.

Flint S., Enquist L., Krug R (2000) "Principles of Virology" Es d s U id s, ASM ss K ip D , H w y (2001) "Virology" Estados Unidos. Lippincott Williams & Wilkins, 4th. Edition.

Madigan M., Martinko J., Parker J. (1999). "Brock Biología de los microorganismos" España. Editorial Prentice Hall, 8ª ed.

s (2013) "Microbiología y Parasitología Médicas" Editorial Médica Panamericana

Um A (2000) "Microbiología y Parasitología Médica" México Ed S v 2° Edición

Romero-C b R (2007) "Microbiología y Parasitología humana" Méxi Edi i Médica Panamericana, 3° Edición.

V s O (2004) "Micología Médica". México Méndez Editores, 2° Edición.



Practica 2. Clasificación de los Microorganismos.

Objetivo

Determinar la ubicación de los microorganismos dentro de los seres vivos, así como las características distintivas de cada uno de los diferentes grupos de microorganismos.

Aspectos teóricos

El alumno investigara los siguientes temas relacionados con la clasificación de RH Whittaker, reino animal, vegetal, protista, fungí y monera, y elaborara un resumen previo al ingreso a la practica.

Clasificación de las células de acuerdo con los ribosomas, eucariontes, eubacterias y arqueobacterias.

Clasificación propuesta por C Wiese, O Chandler y ML Chelis.

Materiales y reactivos

Material

- Papel seda
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Asa bacteriológica
- Pipeta Pasteur
- Aguja de disección (o asa micológica)

Material biológico

- Agua de charco.
- Pulque
- Fruta contaminada con hongo
- Yogurt natural
- Materia fecal

Reactivos

- Lugol
- Safranina
- Azul de algodón de lactofenol



Equipo

- Microscopio

Servicios

- Electricidad
- Agua

Procedimiento

I. PROTOZOARIOS

1. Con una semana de anticipación, cada equipo colocará en un frasco pequeño de boca ancha un poco de pasto o paja con agua de charco a temperatura ambiente.
2. El día de la práctica se colocará una gota de esta agua entre porta y cubreobjetos.

3. Observar al microscopio en objetivo seco débil y seco fuerte.
4. Realizar descripciones y anotaciones de los organismos observados.

II. HONGOS Y LEVADURAS

1. Tomar una muestra de la fruta contaminada con una aguja de disección (o asa micológica) y colocarla entre el porta y cubreobjetos, colocando una gota de azul de algodón de lactofenol.
2. Desmenuzar la muestra antes de colocar el cubreobjetos.
3. Observar al microscopio en objetivo seco débil y seco fuerte.
4. Realizar el procedimiento anterior con el pulque, tomando la muestra con una pipeta Pasteur.
5. Realizar descripciones y anotaciones de los organismos observados.

III. BACTERIAS

1. De la muestra de yogurt, tomar con el asa bacteriológica una muestra y hacer una extensión delgada sobre un portaobjetos con una gota de lugol y cubreobjetos.
2. Observar al microscopio con el objetivo seco fuerte.
3. Observar que las bacterias se aprecian como puntos móviles y refringentes en todo el campo.
4. Realizar las actividades anteriores con la muestra de heces.
5. Estas observaciones se pueden realizar utilizando safranina en vez de lugol.

Reporte de resultados.



Reportar las observaciones de las preparaciones, anotando los siguientes datos y ubicarlos en alguno de los cinco reinos y en alguno de los tres dominios.

Muestra	colorante	Ubicación en reino y dominio	Descripción de la observación

Manejo de residuos

Todas las prácticas del laboratorio de Agentes Biológicos en las que se trabaja con microorganismos generan Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos (R.P.B.I.), estos residuos son aquellos materiales generados que contengan agentes biológico-infecciosos o sus productos (como los cultivos de microorganismos) y que pueden causar efectos nocivos a la salud y al ambiente.

Los R.P.B.I. deberán ser tratados, con base en lo que establece la Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSAI-2002 y el MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN MANEJO DE R.P.B.I.

Los residuos peligrosos biológico-infecciosos deben ser tratados por métodos físicos o químicos que garanticen la eliminación de microorganismos patógenos

En el laboratorio de Microbiología se utilizara la esterilización por calor húmedo a 15 libras de presión, 121 °C por un periodo de 15 a 20 minutos y posterior disposición final en los sitios autorizados (indicados por el profesor)

Cuestionario

1. ¿Cuáles son las diferencias entre células eucariotas y procariotas?
2. De un ejemplo de microorganismos intermedios entre:
 - a) virus y bacterias.
 - b) Bacterias y hongos.
3. De las características generales de los virus por las cuales no son incluidos en ningún reino.
4. ¿Qué es un prion?
5. Mencione las diferencias entre algas unicelulares y protozoarios.
6. Explique el término taxonomía y los diferentes niveles taxonómicos que existen.
7. ¿Qué es la taxonomía binomial?
8. Explique qué es la taxonomía numérica.
9. Indique los criterios generales que se utilizan para clasificar a los virus.
10. Clasifique el reino al que pertenecen los siguientes microorganismos:
 - a) *Tripanosoma cruzi*.
 - b) *Cándida albicans*.
 - c) *Paramecium* sp.
 - d) *Aspergillus niger*.



- e) Rotavirus.
- f) Euglena sp.

Bibliografía

S, Biagi F., Flisser A., Pérez-T m y R, (2006) "Aprendizaje de la parasitología basado en problemas" México Editores de textos mexicanos.

Bonifaz, A (2012) "Micología Médica básica". España. Editorial Mc Graw Hill 4° Edición.

Jawetz, Melnick y Adelberg. (2011) "Microbiología Médica" Méxi Edi i Mc Graw Hill. 25° Edición.

Flint S., Enquist L., Krug R (2000) "Principles of Virology" Es d s U id s, ASM ss K ip D , H w y (2001) "Virology" Estados Unidos. Lippincott Williams & Wilkins, 4th. Edition.

Madigan M., Martinko J., Parker J. (1999). "Brock Biología de los microorganismos" España. Editorial Prentice Hall, 8ª ed.

s (2013) "Microbiología y Parasitología Médicas" Editorial Médica Panamericana

Um A (2000) "Microbiología y Parasitología Médica" México Ed S v 2° Edición

Romero-C b R (2007) "Microbiología y Parasitología humana" Méxi Edi i Médica Panamericana, 3° Edición.

V s O (2004) "Micología Médica". México Méndez Editores, 2° Edición.



Práctica 3. Preparación de material para microbiología, limpieza y esterilización.

Objetivos

- Comparar el diferente proceso de esterilización utilizados en el laboratorio de Agentes Biológicos.
- Describir las diferentes técnicas para la preparación del material por calor húmedo.

Aspectos teóricos

El alumno investigara y elaborara un resumen que contenga los siguientes aspectos teóricos acerca de la preparación de material para microbiología, limpieza y esterilización:

- Esterilización
- Esterilización por calor
- Calor húmedo
- Calor seco
- Esterilización por filtración
- Esterilización por radiaciones
 - Luz ultravioleta
 - Luz infrarroja
 - Radiaciones ionizantes
- Esterilización gaseosa

Material y reactivos

Material

- Olla de presión
- Tripie
- Mecheros Fisher
- Guantes de asbesto
- 12 tubos de ensayo 13x100 con torunda
- 12 tubos de ensayo 18x150 con torunda
- 8 cajas de petri
- Matraz de Erlenmeyer de 1 litro con torunda
- Pipetas de 5 y 10 mililitros
- Aplicadores de madera
- Algodón
- Papel de estraza o Kraft
- Gasa



- Tijeras
- Pinzas de disección punta roma

Servicios

- Electricidad
- Agua
- Gas

Procedimiento

- I. Lavado

Limpieza general

1. Colocar el material en recipientes que contengan soluciones detergentes apropiadas (de preferencia usar Dextrán), procurando que el material quede totalmente sumergido; para eliminar materia orgánica, dejar actuar durante 24 horas, si el material tiene sales someterlo a un ligero calentamiento con HCl concentrado por espacio de 30 minutos.
2. Lavar el material con la solución detergente, auxiliándose de escobillones en buen estado y de esponjas de celulosa o estropajos. No usar limpiadores abrasivos.
3. Enjuagar con abundante agua de la llave y al final con agua destilada por lo menos tres veces.

Tratamiento severo

Si después del lavado ordinario en el material de vidrio permanecieran algunos contaminantes que se manifiesten por la presencia de residuos o porque la superficie del mismo no se humecta uniformemente, se recomienda sumergir el material en mezcla crómica o en ácido sulfúrico como a continuación se indica.

1. Observando las medidas de seguridad adecuadas, sumergir el material en mezcla crómica o en ácido sulfúrico durante 10-15 minutos.
2. Sacar el material y aplicarle el lavado ordinario como se indicó anteriormente.

II. Preparación del material

1. Envolver con papel las cajas de Petri como lo indique el profesor, anotar en el papel el número de equipo y la fecha de preparación.
2. Poner en la boquilla de las pipetas un filtro de algodón, de tal manera que el aire pase libremente a través de él.



3. Envolver con papel cada pipeta, marcando en la envoltura el volumen de cada una de ellas.
4. Tapar cada uno de los tubos y matraces con torundas de algodón, siguiendo las indicaciones del profesor. Las torundas deben prepararse a la medida de la boca del matraz o tubo, no deben deformarse, ni ser forzada su entrada, ni de caerse al ser invertidos estos y deben llevar una cubierta de gasa para evitar que la pelusa contamine al medio de cultivo.
5. Colocar los tubos en un cesto de alambre o en un bote y cubrirlos con papel Kraft (esta envoltura protege los algodones y evita durante la esterilización que estos se humedezcan)
6. Los hisopos se preparan con aplicadores de madera y algodón, el cual debe ser enrollado con fuerza y en suficiente cantidad, de tal manera que no se desprenda ni presenta asperezas.
7. Todo el material debe ser identificado con su correspondiente etiqueta antes de ser esterilizado.

III. Esterilización

ESTERILIZACIÓN POR CALOR HÚMEDO (15 LB, 121 °C X 15-20 MIN).

1. Este proceso se aplica al material que no resiste temperaturas arriba de 135° C (material de vidrio con torunda de algodón, jeringas desarmadas –no agujas-, recipientes con tapón de rosca –no cerrados fuertemente-, tapones de hule envueltos en papel).
2. Todo material a tratar en forma individual o conjunta debe cubrirse perfectamente con material permeable, resistente al calor, no debe usarse papel aluminio o celofán.
3. Operar el autoclave de acuerdo a las instrucciones del equipo. De manera general el procedimiento es el que se indica a continuación: meter el material en la autoclave, cerrarla, dejar calentar con la válvula abierta y esperar a que el aire del interior de la autoclave sea desplazado totalmente por el vapor de agua, lo que se habrá conseguido cuando a través de la válvula salga una columna continua de vapor de agua. Cerrar la válvula y esperar a que la presión suba hasta 15 lb/in² (15 psia) y una temperatura de 121 °C. Mantener estas condiciones de 15 a 20 minutos (condiciones generales requeridas para esterilizar el material).

ESTERILIZACIÓN POR CALOR SECO (180 °C durante una hora).

1. Este proceso se aplica a todo material cuya resistencia térmica sea superior a los 150 °C (material de vidrio o metal con cierre hermético, cera, vaselina, aceite, talco).
2. Todo material a tratar de forma individual o conjunta debe cubrirse perfectamente con papel aluminio o colocarse en recipientes de acero inoxidable. No usar fibras sintéticas o de algodón.
3. Al final del proceso dejar enfriar el material dentro del horno.



IV. Prueba de esterilidad

Pueden utilizarse bioindicadores (por ejemplo, esporas de *Bacillus stearothermophilus*) o tiras indicadoras.

V. ALMACENAMIENTO

Debe guardarse el material esterilizado al resguardo del polvo, pasado un tiempo de 1 a 3 meses y dependiendo de las condiciones deberá ser esterilizado nuevamente.

Cada ciclo de esterilización debe registrarse en una libreta con los siguientes datos:

VI. DOCUMENTACIÓN

1. Fecha del proceso.
2. Condiciones del proceso (tiempo, temperatura y presión).
3. Material procesado.
4. Nombre y firma del operador.

RECOMENDACIONES GENERALES

1. El material de vidrio que se utiliza en los análisis microbiológicos debe ser exclusivo para este fin.
2. Para el lavado ordinario usar soluciones detergentes alcalinas o neutras.
3. Para tratamiento severo utilizar mezcla crómica, ácido nítrico caliente, ácido sulfúrico, alcohol, hidróxido de potasio en alcohol o fosfato de sodio en solución acuosa.
4. Clasificar y separar el material contaminado del no contaminado y colocarlo en los lugares asignados para cada caso, en áreas físicas bien separadas.
5. El material contaminado debe colocarse en recipientes adecuados para su esterilización y lavado posterior.
6. El agar proveniente de matraces, tubos, cajas, etcétera, una vez esterilizado debe recolectarse en bolsas de plástico de alto punto de fusión para su eliminación posterior, no debe eliminarse por el drenaje.
7. El material desechable contaminado debe depositarse en recipientes especiales (ejemplo: bolsas de plástico de alto punto de fusión), y posteriormente esterilizarse, desecharse o incinerarse.
8. Las pipetas contaminadas inmediatamente después de su uso deben colocarse en recipientes que contengan soluciones germicidas, se les quita el algodón de la boquilla y se procede a su esterilización evitando depositar sobre ellas material que pueda quebrarlas. Finalmente debe someterse al procedimiento de lavado en forma manual.
9. Durante el lavado no usar fibras ni polvos, auxiliarse de escobillones en buen estado y estropajos y/o esponjas.



10. Colocar el material en escurridores y/o canastillas. Dejar secar al aire o en una estufa.
11. Los portaobjetos y cubreobjetos luego de lavarlos y secados deben de colocarse en un vaso con alcohol para desengrasarlos y posteriormente secarlos con papel seda o higiénico.

Reporte de resultados

Con base en su bibliografía y el trabajo realizado, indicar si aplico los métodos de esterilización adecuados para el material que preparo.

Indicar si el proceso de esterilización aplicado fue eficiente.

Describir las dificultades a las que se enfrento y los errores que cometió durante el desarrollo de esta práctica, así como las consecuencias de estos en el desarrollo de las subsecuentes prácticas.

Cuestionario

1. ¿Que es la esterilización?
2. ¿Qué métodos de esterilización existen?
3. Mencione por lo menos tres métodos de esterilización por agentes físicos.
4. ¿En que consiste la pasteurización y que finalidad tiene?
5. ¿Qué tipo de esterilización se efectúa en el autoclave?
6. ¿Qué método de esterilización es el más recomendado para el siguiente material?
 - a) Un medio de cultivo termolábil
 - b) Un medio de cultivo termoestable
 - c) Jeringa de vidrio
 - d) Un medicamento termolábil cuya vía de administración es intravenosa
 - e) Instrumental quirúrgico
 - f) Material de curación contaminado
7. ¿Cuál es el fundamento de la esterilización por calor seco?

Bibliografía

S, Biagi F., Flisser A., Pérez-T m y R, (2006) "Aprendizaje de la parasitología basado en problemas" México Editores de textos mexicanos.

Bonifaz, A (2012) "Micología Médica básica". España. Editorial Mc Graw Hill 4° Edición.

Jawetz, Melnick y Adelberg. (2011) "Microbiología Médica" Méxi Edi i Mc Graw Hill. 25° Edición.

Flint S., Enquist L., Krug R (2000) "Principles of Virology" Es d s U id s, ASM ss K ip D , H w y (2001) "Virology" Estados Unidos. Lippincott Williams & Wilkins, 4th. Edition.

Madigan M., Martinko J., Parker J. (1999). "Brock Biología de los microorganismos"



España. Editorial Prentice Hall, 8ª ed.

s (2013) "Microbiología y Parasitología Médicas" Editorial Médica Panamericana

Um A (2000) "Microbiología y Parasitología Médica" México Ed S v 2º Edición

Romero-C b R (2007) "Microbiología y Parasitología humana" Méxi Edi i
Médica Panamericana, 3º Edición.

V s O (2004) "Micología Médica". México Méndez Editores, 2º Edición.



Practica 4. Clasificación de los medios de cultivo microbiológicos y su utilidad en el diagnóstico.

Objetivo

Analizar el fundamento de los principales tipos de medios de cultivo para bacteriología.

Aspectos teóricos

El alumno realizara un trabajo que contenga los siguientes aspectos teóricos:

1. Medios de cultivo
2. Factores de crecimiento
3. Sustancias esenciales para la síntesis de sus constituyentes celulares
4. Condiciones ambientales optimas
5. Utilidad en los medios de cultivo
6. Clasificación de los medios de cultivo por su composición
7. Clasificación de los medios de cultivo de acuerdo con su consistencia
8. Sustancias utilizadas como agentes solidificantes para formulaciones no liquidas

Material y reactivos

Material

- 9 matraces Erlenmeyer de 1 litro
- 1 tripie
- 1 Tela de alambre sin asbesto
- 1 Agitador de vidrio
- 2 Tubos (13x100) con agar nutritivo inclinado
- 2 Tubos (18x 150) con gelatina nutritiva o medio SIM
- 2 Tubos (13x100) con caldo nutritivo
- 10 tubos (18x150) con agar nutritivo (resiembra del cepario)
- 2 Cajas de Petri con agar chocolate
- 2 Cajas de Petri con ASC 5%
- 2 Cajas de Petri con EMB
- 2 Cajas de Petri con agar nutritivo

Equipo

- Incubadora

Servicios



- Electricidad
- Agua
- Gas

Procedimiento

La cantidad de medio de cultivo que deberá de emplearse por litro, está especificado en cada frasco, se hacen los cálculos necesarios para las cantidades deseadas y a continuación se pesan.

Colocar el polvo en un matraz Erlenmeyer y añadir poco a poco el agua destilada; agitando constantemente para evitar que se formen grumos; para efectuar la agitación se utiliza un agitador o varilla de vidrio; la cantidad completa de agua se añade cuando todo el polvo se haya mojado bien; los medios líquidos o caldos se disuelven bien a temperatura ambiente.

Los medios de agar tienen que calentarse hasta punto de ebullición para que se disuelvan por completo. Esto puede realizarse de varias formas; para cantidades (hasta 300 mg.), el mejor procedimiento es calentar el matraz manteniendo contenido bien agitado para impedir que se queme.

Otro método satisfactorio que reduce el tiempo de calentamiento del medio es hervir tres cuartas partes de agua destilada y suspender el medio deshidratado en el resto de agua fría, teniendo cuidado de que todo el medio sea suspendido uniformemente, entonces la suspensión se añade al agua hirviendo hasta que la solución sea completa; también debe tenerse cuidado de que la ebullición no sea demasiado fuerte y en un momento dado pueda ocasionar que el medio se derrame. Los medios de gelatina se disuelven mejor calentándose hasta 50°C en un baño de agua (baño María).

Los medios de agar y gelatina tienen que estar en una completa solución antes de verterlos en los recipientes en los que habrán de esterilizarse.

Cuando se logra la disolución completa de los medios se prepara una torunda de algodón y gasa para el matraz en el cual se encuentra contenido el medio, se introduce en el autoclave para esterilizarlos; previamente marcados para su identificación.

Los medios de cultivo de agar están propensos a mostrar un precipitado, bajo una esterilización o calentamiento prolongado. La repetida fusión del agar solidificado o el mantenerlo en fusión a alta temperatura pueden, así mismo, causar la formación de un precipitado en el medio de cultivo.

Un medio que contenga agar también puede formar un precipitado floculante si el medio líquido se mantiene en un baño de agua (baño María), a una temperatura de 43 a 45°C, por un tiempo superior a los 30 min. Este precipitado de agar floculante, no obstante puede disolverse calentando de nuevo el medio.

Un calentamiento del medio también da como resultado un aumento de la acidez. Por un calentamiento prolongado es posible destruir las propiedades de gelatinización y esta destrucción se acelera a medida que se aumenta la acidez.



Cumplido el tiempo necesario para la esterilización se saca de la autoclave e inmediatamente se coloca en los recipientes adecuados. Sus cajas de Petri y los tubos de ensayo estériles se destapan cerca de la flama de un mechero y se le agrega el medio para evitar cualquier contaminación.

El caldo nutritivo se distribuye en los tubos de ensayo estériles y se colocan en posición vertical. El agar nutritivo se distribuye en las cajas de Petri (Fig. 4.1) y en los tubos de ensayo estériles (Fig.4.2), estos últimos se colocan en posición inclinada aproximadamente a unos 45° C, permitiendo que se solidifiquen en esta posición. Al colocar los tubos en esta posición se debe tener cuidado de que el ángulo de inclinación sea el adecuado para impedir que la torunda se moje y pueda contaminar el medio.

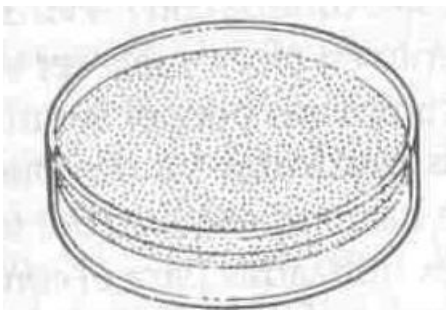


Figura 4.1 Agar en caja

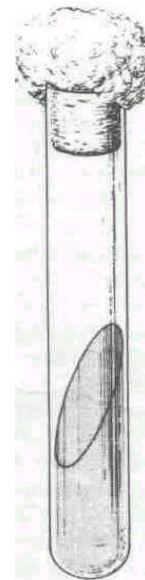


Figura 4.2 Agar inclinado

La gelatina nutritiva se distribuye en los tubos de ensayo estériles colocándolos en posición vertical, el medio SIM también se coloca en posición vertical. El agar sangre se prepara colocando la sangre desfibrinada estéril en el matraz que contiene el medio base para agar sangre ya estéril y se mezcla con un movimiento ligero formando un ocho, sobre la mesa de trabajo, a continuación, se distribuye a las cajas de Petri. Debe asegurarse de que el medio base se enfríe justamente abajo de 56°C, antes de agregarle la sangre (los glóbulos rojos sanguíneos se hemolizan a 56°C y las proteínas se precipitan a 65°C).

Se pueden esterilizar al mismo tiempo los medios líquidos en tubos de ensayo para evitar contaminaciones posteriores, cuando no se cuenta con un sistema de flujo laminar para el vaciado posterior.

El agar chocolate es básicamente el mismo que el agar sangre, pero con la adición de sangre a la base, mientras esta última se mantiene aun a 80°C; las proteínas precipitarán, los glóbulos rojos se lisarán y la hemoglobina se convertirá en hematina, haciendo con ella nutrimentos más fácilmente accesibles para el crecimiento de los microorganismos más exigentes.



Por lo general la siembra de microorganismos en medios de cultivo semisólidos y sólidos se utiliza para la identificación por pruebas bioquímicas.

Reporte de Resultados

Indique las dificultades y posibles fuentes de error al preparar medios de cultivo analizando las consecuencias y registrándolos en un cuadro que incluya los siguientes campos.

Medio de cultivo	Error	Consecuencias

Cuestionario

1. Defina que es un medio de cultivo y cual es su utilidad.
2. ¿Cómo se clasifican los medios de cultivo de acuerdo con su consistencia?
3. ¿Qué sustancia se emplean para modificar la consistencia de los medios de cultivo?
4. Mencione las propiedades fisicoquímicas del agar.
5. Que utilidad tiene cada uno de los siguientes tipos de medios de cultivo:
 - a. Líquido
 - b. Semisólido
 - c. Sólido
6. Explique en que consisten los siguientes medios de cultivo y cite tres ejemplos de cada uno:
 - a. Básicos
 - b. Enriquecido
 - c. Selectivo y/o diferencial
 - d. Especial o de ensayo
7. ¿Cuál es la diferencia entre agar sangre y agar chocolate?
8. Realice una tabla para los siguientes medios de cultivo: EMB, Sal y manitol, Agar chocolate, agar Mueller Hinton y agar base leche:
 - a. Nombre del medio de cultivo
 - b. Clasificación de acuerdo a su composición química
 - c. Composición química
 - d. Fundamento del medio
 - e. Utilidad
 - f. Interpretación



Bibliografía

S, Biagi F., Flisser A., Pérez-T m y R, (2006) "Aprendizaje de la parasitología basado en problemas" México Editores de textos mexicanos.

Bonifaz, A (2012) "Micología Médica básica". España. Editorial Mc Graw Hill 4° Edición.

Jawetz, Melnick y Adelberg. (2011) "Microbiología Médica" Méxi Edi i Mc Graw Hill. 25° Edición.

Flint S., Enquist L., Krug R (2000) "Principles of Virology" Es d s U id s, ASM ss K ip D , H w y (2001) "Virology" Estados Unidos. Lippincott Williams & Wilkins, 4th. Edition.

Madigan M., Martinko J., Parker J. (1999). "Brock Biología de los microorganismos" España. Editorial Prentice Hall, 8ª ed.

s (2013) "Microbiología y Parasitología Médicas" Editorial Médica Panamericana

Um A (2000) "Microbiología y Parasitología Médica" México Ed S v 2° Edición

Romero-C b R (2007) "Microbiología y Parasitología humana" Méxi Edi i Médica Panamericana, 3° Edición.

V s O (2004) "Micología Médica". México Méndez Editores, 2° Edición.



Practica 5 Siembras

Objetivos

Aprender la técnica de siembra adecuada dependiendo de la consistencia del medio de cultivo y la finalidad de dicha siembra (aislar, crecimiento masivo, enriquecimiento, conteo semicuantitativo y/o metabolismo bacteriano)

Manipular los medios de cultivo en placa para obtener colonias aisladas mediante el procedimiento de siembra en cuadrantes (agotamiento e inóculo o siembra en T) y en tubo (medios líquidos, sólidos y semisólidos)

Aspectos teóricos

El alumno realizara un trabajo que contenga los siguientes aspectos teóricos:

1. Siembra en placa de Agar
 - a. Aislamiento (siembra en T, por cuadrantes o agotamiento de inóculo)
 - b. Siembra masiva
 - c. Siembra para recuentos semicuantitativos
2. Siembra en tubo
 - a. Líquido (por dispersión o punto de contacto)
 - b. Semisólido (punción de asa recta)
 - c. Sólidos (siembra por picadura y estría en pico de flauta)

Material y reactivos

Material

- Mechero
- Asa recta
- Asa de aro
- Medios de cultivo elaborados en la practica 4

Material biológico

Cepas sugeridas por el profesor

Procedimiento

Se trabajará siempre con técnica aséptica.

1. Esterilizar el asa bacteriológica colocándola en un ángulo de 45° en la periferia de la flama del mechero hasta que tome un color rojo vivo en las tres cuartas partes del filamento del asa.



2. Tomar el tubo de la cepa con la mano izquierda y retirar el tapón con los dedos anular y meñique de la mano derecha sin que estos toquen la parte del tapón que va dentro del tubo.
3. Flamear la boquilla del tubo.
4. Introducir el asa tocando las paredes del tubo para enfriarla o tocar un extremo del agar donde no haya crecimiento.
5. Tocar con el asa el crecimiento (no debe ser muy denso el inóculo). Retirar el asa, flamear el tubo y tapar.

Siembra en placa de agar.

Técnica de aislamiento por cuadrantes (3 cuadrantes) o agotamiento del inóculo

1. Tomar la placa Petri con la mano izquierda por la base con los dedos medio a meñique y la tapa con los dedos pulgar e índice. Abrir la placa cerca del mechero.
2. Descargar en un primer cuadrante masivamente, hasta la mitad de la placa. Tapar la caja.
3. Girar la placa 90°.
4. Esterilizar el asa. Enfriar tocando una parte de la periferia del agar (alejada de la parte donde se hizo la descarga).
5. Tocar con el asa el primer cuadrante tres veces y estriar el segundo cuadrante hasta la mitad de la caja. (2º cuadrante)
6. Nuevamente esterilizar el asa como se procedió anteriormente y realizar un 3er. Cuadrante (la estría es más abierta de manera que se obtengan colonias aisladas)

Siembra en tubos

Líquidos (caldos)

1. Difusión (Punto de contacto): Inclinar el tubo en un ángulo de 30°, colocar el inóculo tocando la superficie interna del vidrio por encima del punto donde el medio forma un ángulo agudo. Colocar en posición vertical. El inóculo queda cubierto por el medio difundiendo el crecimiento.
2. Dispersión: Colocar el inóculo rotando el asa dentro del medio de cultivo.

Medio semisólido

- Usar Asa recta para tomar el inóculo.
- Sembrar el medio por punción hasta las tres cuartas partes del tubo y retirar el asa.(tratar de hacerlo por la misma vía de punción)

Medios sólidos (agares)



Fondo profundo. Usar asa recta. Punción y estría en pico de flauta

Pico de flauta. Estriar la superficie del agar en forma de zigzag. Puede usar asa recta o en arillo.

Reporte de resultados

Siembra en placa

- Se espera obtener colonias aisladas que se reportaran como se indica en la práctica 6

Siembra en tubo

- Se reporta de acuerdo a las indicaciones de la practica 6

Cuestionario

1. Describa detalladamente las condiciones necesarias para el manejo adecuado de los tubos de ensayo para una siembra.
2. Describa la forma correcta de manipular una caja de Petri para realizar una siembra.
3. ¿Qué importancia tiene la siembra correcta de microorganismos?
4. Mencione las posibles formas de siembra en los medios de cultivo:
 - a. Líquido
 - b. Semisólido
 - c. Sólido en tubo de ensayo
 - d. Sólido en caja de Petri
5. Describa que es un cultivo
6. ¿Cómo cultiva a un microorganismo anaerobio?
7. ¿De qué manera siembra dos cepas de microorganismos diferentes, en un medio de cultivo en una sola caja de Petri, si desea obtener colonias aisladas de ambos?
8. Qué tipo de utensilio se usa para transferir la muestra o cultivo al medio que se desea inocular.
9. Describa la técnica de vaciado en placa.
10. Mencione tres métodos para obtener cultivos puros.

Bibliografía

S, Biagi F., Flisser A., Pérez-T m y R, (2006) "Aprendizaje de la parasitología basado en problemas" México Editores de textos mexicanos.

Bonifaz, A (2012) "Micología Médica básica". España. Editorial Mc Graw Hill 4° Edición.



Jawetz, Melnick y Adelberg. (2011) "Microbiología Médica" México Edición de Mc Graw Hill. 25ª Edición.

Flint S., Enquist L., Krug R (2000) "Principles of Virology" Estados Unidos, ASM Press, 4th Edition.

Madigan M., Martinko J., Parker J. (1999). "Brock Biología de los microorganismos" España. Editorial Prentice Hall, 8ª ed.

Schaefer (2013) "Microbiología y Parasitología Médicas" Editorial Médica Panamericana

Uman (2000) "Microbiología y Parasitología Médica" México Edición de 2ª Edición

Romero-Cabrera (2007) "Microbiología y Parasitología humana" México Edición de Médica Panamericana, 3ª Edición.

Versos (2004) "Micológia Médica". México Méndez Editores, 2ª Edición.



Practica 6: Características macroscópicas de cultivos (morfología colonial)

OBJETIVO:

El alumno identificará y describirá las colonias de microorganismos que se obtuvieron a partir de una siembra de la practica 5.

MATERIAL:

- Cajas de Petri con las muestras
- Algodón y papel absorbente
- Alcohol
- Cerillos
- Cofia, guantes y cubre bocas
- Olla
- Agua
- Bolsa de plástico gruesa de color rojo

MÉTODOS Y TÉCNICAS:

1. Fotografíe la placa, y, describe la distribución del material inoculado.
2. Describe las diferentes colonias aisladas, caracterizándolas respecto al tamaño, bordes, elevación y color. Utiliza los criterios descritos en la página siguiente.
3. Comparar los resultados obtenidos por los diferentes grupos.

LOS CRITERIOS UTILIZADOS

1. TAMAÑO



Grande,
5 mm



Media,
2 a 5 mm



Pequeña
2 mm

2. FORMA



Circular



Irregular



Rizoide
















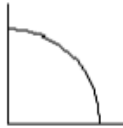


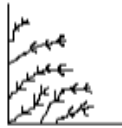
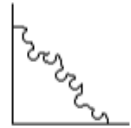




Filamentosa



Puntiforme



LOS CRITERIOS UTILIZADOS

1. TAMAÑO  Grande, 5 mm  Media, 2 a 5 mm  Pequeña, 2 mm
2. FORMA  Circular  Irregular  Rizoide  Filamentosa  Puntiforme
3. ELEVACIÓN  Cóncava  Elevada  Ondulada  Protuberante  Achatada  Convexa
4. BORDES  Lisos  Lacerados  Lobulados  Filamentosos  Ondulados
5. ESTRUCTURA  Lisa  Granulosa  Filamentosa  Rugosa

6. BRILLO: transparente, translúcida, opaca.

7. COLOR: incolora, pigmentada.

8. ASPECTO: viscosa, húmeda, membranosa, gelatinosa, lechosa, etc.



Bibliografía

S, Biagi F., Flisser A., Pérez-T m y R, (2006) "Aprendizaje de la parasitología basado en problemas" México Editores de textos mexicanos.

Bonifaz, A (2012) "Micología Médica básica". España. Editorial Mc Graw Hill 4° Edición.

Jawetz, Melnick y Adelberg. (2011) "Microbiología Médica" Méxi Edi i Mc Graw Hill. 25° Edición.

Flint S., Enquist L., Krug R (2000) "Principles of Virology" Es d s U id s, ASM ss K ip D , H w y (2001) "Virology" Estados Unidos. Lippincott Williams & Wilkins, 4th. Edition.

Madigan M., Martinko J., Parker J. (1999). "Brock Biología de los microorganismos" España. Editorial Prentice Hall, 8ª ed.

s (2013) "Microbiología y Parasitología Médicas" Editorial Médica Panamericana

Um A (2000) "Microbiología y Parasitología Médica" México Ed S v 2° Edición

Romero-C b R (2007) "Microbiología y Parasitología humana" Méxi Edi i Médica Panamericana, 3° Edición.

V s O (2004) "Micología Médica". México Méndez Editores, 2° Edición.