

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
LICENCIATURA
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

**UNIDAD DE ENSEÑANZA APRENDIZAJE
PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PROPAGACIÓN MICROBIANA
(336019)**

Comisión de actualización de la carta descriptiva

**Dr. Jorge Ismael Castañeda Sánchez
Dra. Laura Estela Castrillón Rivera
M. en C. Rubén Del Muro Delgado
Dra. Maria Elisa Drago Serrano
M. en C. María Cristina Fresán Orozco
M. en C. Felipe Mendoza Pérez
M. en C. Alejandro Palma Ramos
Dra. Julia Pérez Ramos**

Fecha de conclusión de la actualización 21/09/2016

ÍNDICE

	Pág.
Datos generales	3
Introducción	4
Objeto de transformación	5
Problema eje	5
Objetivo de la UEA	5
Atributos del perfil de egreso que se alcanzarán al final de la UEA:	5
Líneas de investigación	5
Estructura de la UEA	6
Ubicación de la UEA en el plan de estudios	6
Cronograma de actividades	6
Mapa curricular	7
Unidad I. Características estructurales, funcionales y de patogenicidad de los m.o. (bacterias, hongos y virus)	8
Unidad II. Crecimiento microbiano	10
Unidad III. Control de calidad microbiológica	11
Unidad IV. Control de la Infección	13
Unidad V. Relación Hospedero-Parásito	14
Sesiones experimentales	16
Bibliografía	32
Modalidades de evaluación	33

DATOS GENERALES

Nombre de la UEA:	PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PROPAGACIÓN MICROBIANA
Clave de la UEA:	336019
Trimestre de impartición:	Trayectoria A, X; Trayectoria B, VIII y Trayectoria C, VII
Créditos:	45
UEA precedente:	Trayectoria A, Evaluación de la calidad de los medicamentos; Trayectoria B, Los fármacos como modificadores de la funciones biológicas y Trayectoria C, Evaluación de materias primas para la producción de medicamentos
UEA subsiguiente:	Obtención de metabolitos de interés industrial para la salud
No. Hrs./teoría/semana:	15
No. Hrs./prácticas/semana:	15
No. Hrs./ totales por trimestre:	330
No. unidades	Cinco
Fecha de elaboración:	Julio 2015
Comisión de rediseño de la UEA	Dr. Jorge Ismael Castañeda Sánchez, Dra. Laura E. Castrillón Rivera, M. en C. Rubén del Muro Delgado, M. en C. María Cristina Fresán Orozco, M. en C. Felipe Mendoza Pérez, M. en C. Alejandro Palma Ramos, Dra. Julia Pérez Ramos y Dra. Teresita del Rosario Sainz Espuñes
Fecha de actualización:	octubre 2015
Comisión de actualización de la carta descriptiva	Dr. Jorge Ismael Castañeda Sánchez. Dra. Laura Estela Castrillón Rivera. Dra. María Elisa Drago Serrano, M. en C. Rubén del Muro Delgado, M. en C. María Cristina Fresán Orozco, M. en C. Felipe Mendoza Pérez, M. en C. Alejandro Palma Ramos. Dra. Julia Pérez Ramos. (2015)
Responsable de la actualización	M. en C. María Cristina Fresán Orozco
Perfil idóneo del profesor de esta UEA	ACTIVIDADES A REALIZAR: Los profesores asignados a la UEA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PROPAGACIÓN MICROBIANA realizarán, auxiliarán y apoyarán trabajos específicos de docencia, investigación y difusión de la cultura; deberán planear, desarrollar dirigir, coordinar y evaluar proyectos académicos responsabilizándose de los mismos. Las labores académicas de los profesores estarán relacionadas con: i) Fomentar en el alumno el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura, en el desarrollo, control biológico y microbiológico y en los procesos de producción y evaluación productos biológicos y reactivos de diagnóstico. ii) Formular, a partir del estudio de las características de la interacción entre el hombre y los microorganismos patógenos, estrategias de solución a problemas de salud relevantes en el campo del diagnóstico, el control microbiológico y el diseño de modelos terapéuticos e inmunoprolácticos eficaces y seguros. iii) Realizar las actividades contenidas en el artículo 7 del RIPPPA y demás normas aplicables. ÁREA DE CONOCIMIENTO: Ciencias Biológicas DISCIPLINA: Microbiología REQUISITOS ACADÉMICOS: Licenciatura en QFB o QBP y Maestría en Ciencias Farmacéuticas o en Ciencias Biológicas TEMAS DE LOS PROGRAMAS: Los microorganismos en la infección y en la contaminación. Control del crecimiento microbiano. Virus que infectan animales, parásitos y hongos de importancia para la salud. Los actores en la relación huésped parásito: mecanismos de patogenicidad y factores de virulencia del parásito y respuesta inmune del hospedero. Los microorganismos como fuente de obtención de biológicos

INTRODUCCIÓN

El estudio de las relaciones hospedero-parásito implica la interacción del hombre con una diversidad de organismos. Del equilibrio que se establece en la relación entre los mecanismos de patogenicidad de los agentes infecciosos y las defensas del hospedero depende la salud del hospedero. Si las defensas del hospedero se fortalecen e incrementan, el agente infeccioso será eliminado. En tanto si tales defensas se disminuyen o la virulencia del microorganismo se incrementa, el hospedero resultará dañado.

El conocimiento de los organismos capaces de causar enfermedad en el hombre o en los animales es esencial en el campo de la farmacia. En este ámbito, los microorganismos infecciosos causan enfermedades transmisibles con impacto clínico y epidemiológico cuya atención clínica demanda la disponibilidad de agentes para su tratamiento, diagnóstico y prevención. La aparición de resistencia a los antimicrobianos ha sido uno de los grandes problemas derivados del uso irracional de medicamentos y una las principales motivaciones para el desarrollo de nuevos medicamentos. Los microorganismos son contaminantes en los procesos de producción de fármacos, medicamentos y productos biológicos que causan grandes pérdidas a la industria y riesgos potenciales para la salud de los consumidores. El conocimiento de los microorganismos de sus mecanismos de diseminación, de su interacción con diferentes hospederos y de su susceptibilidad a distintos agentes, físicos, químicos y biológicos es esencial para formular estrategias de solución a problemas contaminación en el ambiente de la producción.

En el tratamiento de las enfermedades causadas por los agentes patógenos, la terapéutica aprovecha las diferencias fundamentales entre las células del microorganismo y las del hospedero. El concepto de toxicidad diferencial se basa en las propiedades físicas o químicas que posee uno solo de los miembros de la relación hospedero-parásito. Para matar al agente infeccioso sin causar daño o la muerte al hospedero es necesario interferir con la maquinaria celular del microorganismo sin afectar los procesos metabólicos del hospedero. El conocimiento de las diferencias estructurales y metabólicas entre las células procarióticas y eucaróticas es, por tanto, esencial para la selección adecuada de sustancias efectivas en el manejo de los procesos infecciosos salvaguardando la integridad de las células del hospedero y obviamente para el diseño de alternativas terapéuticas o profilácticas eficaces y seguras.

El objetivo general de la UEA “Prevención y control de la propagación microbiana” es: diseñar y aplicar estrategias microbiológicas para el control de procesos infecciosos y la contaminación en productos farmacéuticos y ambientales.

Este propósito implica que el alumno, a lo largo de la UEA, adquirirá los conocimientos teóricos, metodológicos y formativos para el manejo adecuado de los microorganismos en la industria farmacéutica, para lo cual será necesario que comprenda la importancia que tienen los microorganismos para el hombre como fuente de productos para la vida y la salud y como posibles patógenos y contaminantes de los procesos de producción de bienes para la salud.

Asimismo, deberá construir un aparato teórico metodológico que le permita experimentar con los mecanismos involucrados en la patogenicidad de los microorganismos para el ser humano y los animales así como con la resistencia del hospedero a las infecciones. También, deberá dominar las técnicas básicas para el aislamiento, la identificación, la cuantificación y el control de poblaciones microbianas en el ambiente y en los procesos de producción en la industria química farmacéutica.

OBJETO DE TRANSFORMACIÓN: Prevención y control de la propagación microbiana

El objeto de transformación de esta UEA es la prevención y control de propagación microbiana. Este objeto de transformación entraña un enfoque multidisciplinario que incluye, por un lado, el reconocimiento de la participación de los microorganismos de la microbiota como una auténtica barrera de defensa al establecimiento de patógenos en el cuerpo humano o animal; pero supone también el estudio de los efectos deletéreos de los microorganismos patógenos en la salud del hombre y de las secuelas de riesgo para la salud de los trabajadores y consumidores cuando se encuentran como contaminantes de los procesos de producción de bienes para la salud. Por ende, resulta importante la utilización de microorganismos como fuente de una gran variedad de reactivos útiles en el diagnóstico, la inmuno profilaxis y la terapéutica.

PROBLEMA EJE: Prevención y control de la infección y la contaminación microbiana y sus implicaciones en el ámbito de la farmacia

Se eligió como problema eje de la UEA a los microorganismos como agentes infecciosos en virtud de que permitirá a los alumnos, comprender el papel de los microorganismos en la infección y en la contaminación y desarrollar la capacidad de proponer soluciones en el campo del control y la prevención de la infección y la contaminación microbiana tanto en el ser humano como en el ámbito de la farmacia.

OBJETIVO GENERAL DE LA UEA

Que al final de la UEA el alumno sea capaz de: Diseñar y aplicar estrategias microbiológicas para el control de procesos infecciosos y la contaminación en productos farmacéuticos y ambientales.

ATRIBUTOS DEL PERFIL DE EGRESO QUE SE ALCANZARÁN AL FINAL DE LA UEA:

- Profesional caracterizado por un comportamiento ético y responsable en el ejercicio de la profesión farmacéutica
- Con actitud crítica ante los determinantes de tipo económico, político y social de los problemas de salud en México
- Con capacidad de adoptar una perspectiva sustentable en la planeación de la producción de medicamentos y otros insumos para la salud
- Con una sólida formación básica que le permitirá acceder y desenvolverse exitosamente en el campo profesional, en los estudios de posgrado y la investigación
- Manejar y eliminar los desechos de los procesos de producción de la IQF con apego a las normas de seguridad, tratando de reducir al mínimo los riesgos personales y ecológicos
- Buscar, manejar e integrar la información y utilizar de manera apropiada los lenguajes formales propios de su campo de acción
- Manejar las herramientas estadísticas necesarias en el diseño y evaluación de procesos en la práctica profesional en la IQF
- Participar en el desarrollo, control físico, químico, biológico y microbiológico y en los procesos de producción y evaluación de medicamentos de origen natural o sintético, productos biológicos y reactivos de diagnóstico.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Para el desarrollo del proyecto de investigación correspondiente a la UEA “**Prevención y control de la propagación microbiana**” se proponen las siguientes líneas de investigación que ofrecen posibilidades de formación muy completa en los aspectos relacionados con el manejo de los microorganismos en la industria químico-farmacéutica.

1. Valoración de la calidad microbiológica de productos farmacéuticos no estériles.

PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PROPAGACIÓN MICROBIANA

2. Identificación de microorganismos objetables en medicamentos no estériles.
3. Efecto antimicrobiano de algunas sustancias de origen vegetal.
4. Obtención de inmunógenos de origen microbiano para inmuno profilaxis o diagnóstico

ESTRUCTURA DE LA UEA

Para cumplir el objetivo general planteado para la presente UEA se diseñaron cinco unidades. Las unidades y sus correspondientes objetivos son:

- I. Características estructurales, funcionales y de patogenicidad de los microorganismos (bacterias, hongos y virus). Objetivo: Identificar características estructurales, funcionales y mecanismos de patogenicidad de los principales agentes microbianos, contaminantes de ambientes y productos farmacéuticos
- II. Crecimiento microbiano. Objetivo: Manejar técnicas de muestreo, aislamiento, crecimiento e identificación de microorganismos.
- III. Control de Calidad Microbiológica. Objetivo: Conocer y aplicar pruebas microbiológicas para el control de calidad de ambientes y productos farmacéuticos
- IV. Control de la Infección. Objetivo: Diferenciar los mecanismos de acción de los antimicrobianos así como las estrategias de resistencia a los mismos desarrolladas por los microorganismos
- V. Relación hospedero-parásito. Objetivos: Determinar las bases de la resistencia del hospedero ante los microorganismos. Determinar las características de los productos biológicos y su utilidad en el diagnóstico, la profilaxis y la terapéutica

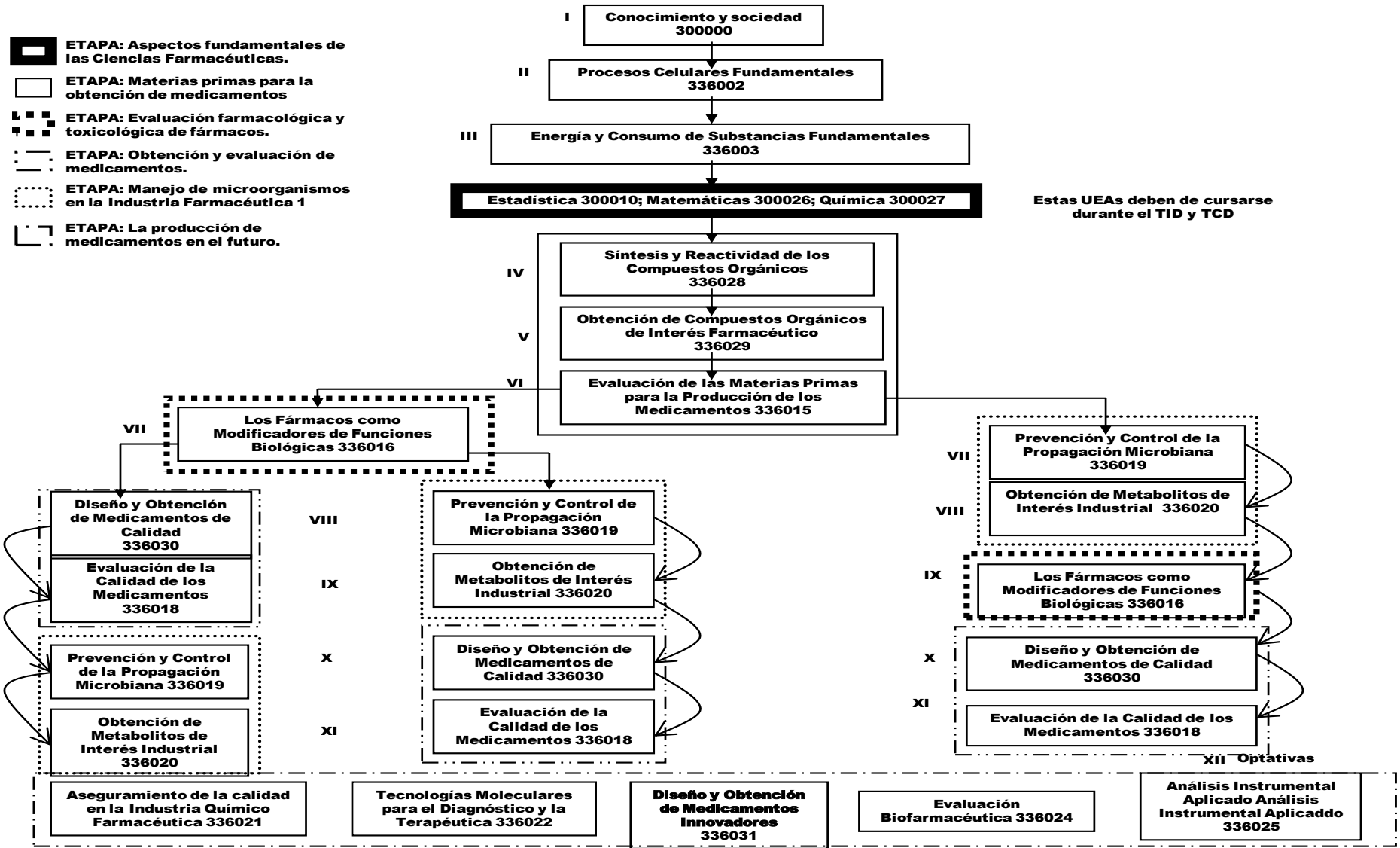
UBICACIÓN DE LA UEA EN EL PLAN DE ESTUDIOS

La UEA Prevención y control de la Propagación microbiana es considerado importante para que el alumno sea capaz de participar en el control de la infección y la contaminación microbiana en el ámbito de la farmacia y formular, estrategias de solución a problemas de salud relevantes en el campo del diagnóstico, el control microbiológico, por lo que su ubicación requiere bases sólidas de Química General, Química Orgánica, Química Analítica, y Bioquímica por lo que no se imparte antes del tercer año. A partir de este momento puede ubicarse como el 7°, en la trayectoria C, 8° en la B y 10° trimestre en la A, siendo precedidos por: Evaluación de materias primas para la producción de medicamentos; Los fármacos como modificadores de la funciones biológicas y Evaluación de la calidad de los medicamentos respectivamente . En todos los casos la UEA subsiguiente es Obtención de metabolitos de interés industrial para la salud. (Ver mapa curricular)

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Sesiones teóricas	UNIDAD I		UNIDAD II		UNIDAD III		UNIDAD IV			UNIDAD V		EG
Modelos experimentales		Modelo I		Modelo II			Modelo III		Modelo IV			EG
Investigación	Selección y delimitación del tema		Elaboración del protocolo	Elaboración del marco teórico y Desarrollo experimental				Análisis de resultados y elaboración del informe final		Presentación del informe EG		
Evaluación			EO I		EO II			EO III			EO IV	EG
Semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

MAPA CURRICULAR



UNIDAD I. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES, FUNCIONALES Y DE PATOGENICIDAD DE LOS MICROORGANISMOS (BACTERIAS, HONGOS Y VIRUS).

OBJETIVO: Identificar características estructurales, funcionales y mecanismos de patogenicidad de los principales agentes microbianos, contaminantes de ambientes y productos farmacéuticos.

Contenido	Objetivos de proceso	Actividades	Duración en sesiones	Bibliografía
<p>1.1 Bacterias.</p> <p>1.1.1 Generalidades de las bacterias: nutrición, estructura celular, morfología, clasificación y reproducción.</p> <p>1.1.2 Factores de virulencia.</p> <p>1.1.3 Aislamiento e identificación: medios de cultivo, tinciones diferenciales, diagnóstico molecular e inmunodiagnóstico.</p>	<p>Integrar un proceso de reflexión sobre la importancia de los microorganismos en la supervivencia de la especie humana</p> <p>Ubicar taxonómicamente a los microorganismos que actúan como agentes infecciosos o contaminantes</p> <p>Diferenciar las características de las células procarióticas y eucarióticas.</p> <p>Analizar el papel de las endotoxinas y exotoxinas, así como de otros factores en la virulencia de los microorganismos</p> <p>Relacionar los requerimientos nutricionales con la capacidad biosintética de los microorganismos.</p> <p>Conocer los distintos medios de cultivo de bacterias: químicamente definidos, complejos, diferenciales y selectivos.</p> <p>Analizar los ciclos esenciales del metabolismo primario de los microorganismos</p> <p>Conocer las reacciones metabólicas que fundamentan las pruebas diagnósticas de los gérmenes de importancia para la salud</p> <p>Aplicar los conocimientos sobre metabolismo microbiano en la identificación de microorganismos (pruebas bioquímicas)</p>	<p>Seminarios y discusión grupal</p>	<p>5</p>	<p>1, 2, 3 y 4</p>
<p>1.2. Hongos.</p> <p>1.2.1 Generalidades de los hongos: nutrición, estructura celular,</p>	<p>Comprender las características generales de los hongos parásitos y la forma en la que éstas determinan los tipos de ciclos</p>	<p>Seminarios y discusión grupal</p>	<p>5</p>	<p>7, 13, 15 y 16</p>

PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PROPAGACIÓN MICROBIANA

<p>morfología, clasificación y reproducción.</p> <p>1.2.2 Factores de virulencia.</p> <p>1.2.3 Aislamiento e identificación: medios de cultivo, tinciones diferenciales, inmunodiagnóstico, y diagnóstico molecular.</p>	<p>biológicos, los factores de virulencia y las enfermedades que tales organismos producen en el hombre y en los animales</p> <p>Manejar las técnicas básicas para la identificación de hongos</p>			
<p>1.3 Virus</p> <p>1.3.1 Generalidades de los virus: estructura, morfología, clasificación de Baltimore.</p> <p>1.3.2 Factores de virulencia.</p> <p>1.3.3 Aislamiento e identificación: inmunodiagnóstico, y diagnóstico molecular.</p>	<p>Comprender a los virus como entidades ubicadas en la frontera de lo vivo y lo no vivo.</p> <p>Diferenciar las características de las familias de los virus (DNA y RNA) y sus implicaciones en los patrones de replicación.</p> <p>Comprender las diferentes fases de la infección y multiplicación viral así como los mecanismos por los cuales los virus producen daño en las células hospederas para favorecer el diseño de estrategias útiles en la prevención y el control de las enfermedades virales.</p> <p>Comprender la utilidad de los bacteriófagos como vectores para la transferencia de información genética dada su capacidad de transportar fragmentos grandes de DNA recombinante.</p> <p>Manejar las técnicas básicas para la identificación de virus</p>	<p>Seminarios y discusión grupal</p>	<p style="text-align: center;">5</p>	<p style="text-align: center;">8, 30, 31, 32 y 35</p>

UNIDAD II. CRECIMIENTO MICROBIANO

OBJETIVO: Manejar técnicas de muestreo, aislamiento, crecimiento e identificación de microorganismos

Contenido	Objetivos de proceso	Actividades	Duración en sesiones	Bibliografía
<p>2.1 Crecimiento bacteriano:</p> <p>2.1.1. Crecimiento de células, de poblaciones y medición del crecimiento microbiano. Curva de crecimiento microbiano. Métodos de medición del crecimiento microbiano (cuenta viable, turbidez, peso seco, peso húmedo).</p> <p>2.1.2. Efecto de factores ambientales sobre el crecimiento: Temperatura, pH, disponibilidad de agua, oxígeno</p> <p>2.1.3. Nutrición microbiana: Fuentes de carbono y nitrógeno, macro y micro nutrientes</p> <p>2.1.4 Factores de crecimiento.</p>	<p>Diferenciar los conceptos de velocidad de crecimiento y tiempo de generación.</p> <p>Diferenciar las fases de la curva de crecimiento de un cultivo microbiano y calcular el tiempo de generación.</p> <p>Describir y aplicar los métodos de medición del crecimiento microbiano</p> <p>Comprender el fundamento del cultivo continuo de microorganismos</p> <p>Analizar el efecto de factores físicos y químicos sobre el crecimiento de los microorganismos</p> <p>Identificar la variedad de nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>3</p>	<p>1, 2, 3 y4</p>
<p>2.2 Crecimiento de Hongos.</p> <p>2.2.1. Mohos; peso seco y peso húmedo</p> <p>2.2.2. Levaduras; cuenta viable y turbidez.</p>	<p>Analizar el efecto de factores físicos y químicos sobre el crecimiento de los hongos</p> <p>Identificar la variedad de nutrientes necesarios para el crecimiento de los hongos</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>2</p>	<p>7, 20, 21, 23. 24</p>
<p>2.3 Replicación viral.</p> <p>2.3.1. Replicación de bacteriófagos en placa.</p> <p>2.3.2. Cultivo de tejidos y utilización del embrión de pollo.</p> <p>2.3.3. Técnicas moleculares.</p>	<p>Conocer las diferentes células utilizadas para la replicación de virus animales vegetales y bacteriófagos</p> <p>Conocer los principios básicos de la aplicación de técnicas moleculares para el diagnóstico de infecciones virales.</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>5</p>	<p>1, 3</p>

UNIDAD III. CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA

OBJETIVO: Conocer y aplicar pruebas microbiológicas para el control de calidad de ambientes y productos farmacéuticos

Contenido	Objetivos de proceso	Actividades	Duración en sesiones	Bibliografía
<p>3. Control Sanitario</p> <p>3.1. Desinfección, concepto, mecanismo de acción de los desinfectantes y antisépticos (Agentes físicos y químicos), cinética de los procesos de desinfección, evaluación de desinfectantes, inactivación de desinfectantes, uso adecuado de desinfectantes, riesgos.</p>	<p>Diferenciar las principales estrategias para frenar el crecimiento bacteriano de los agentes infecciosos y contaminantes.</p> <p>Conocer la cinética de los procesos de desinfección, evaluación de desinfectantes, inactivación de desinfectantes, uso adecuado de desinfectantes, rol de sanitizantes, riesgos</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>1</p>	<p>10</p>
<p>3.2. Esterilización, concepto, agentes esterilizantes, calor seco, calor húmedo, esterilización por gas y radiaciones, esterilización por filtración, filtración de fluidos y aire, control de la esterilización.</p>	<p>Comprender los fundamentos de los mecanismos de acción de los diferentes agentes desinfectantes y esterilizantes así como sus posibles aplicaciones a partir de las características de los materiales y de las características de seguridad establecidas en las normas relativas al uso de los productos estériles.</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>1</p>	<p>17</p>
<p>3.3. Contaminación bacteriana en el ambiente de la producción farmacéutica, Técnicas para el análisis microbiológico del aire y del agua, áreas asépticas y estériles, legislación sanitaria, Normatividad aplicable por área de trabajo, estándares microbiológicos oficiales, garantía de esterilidad.</p>	<p>Conceptualizar el control microbiológico dentro de la producción farmacéutica como un proceso integral y riguroso cuya finalidad es la garantía de la calidad microbiológica del producto, que a su vez, se traducirá en la preservación de la salud de los consumidores.</p> <p>Observar las normas que rigen el trabajo en áreas estériles y aplicar los fundamentos de las técnicas de control microbiológico a la planeación de programas de control ambiental en las áreas de la producción farmacéutica y de otros productos</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>1</p>	<p>22</p>

PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PROPAGACIÓN MICROBIANA

	relacionados con la salud. Plantear alternativas para el manejo de residuos contaminantes por medio de procesos microbianos				
3.4.	Análisis microbiológico de medicamentos, pruebas oficiales para productos no estériles y estériles, técnicas microbiológicas de rutina, prueba de esterilidad por siembra directa, prueba de esterilidad por membrana, pruebas oficiales para detección de pirógenos, validación de las pruebas de control microbiológico.	Diferenciar las características, limitaciones, alcances, y riesgos de la esterilización y la desinfección y sus principales aplicaciones y mecanismos de control y validación Realizar el control microbiológico en los distintos pasos de la producción de un medicamento así como en la validación de equipos y procedimientos a fin de alcanzar los más altos indicadores requeridos por la normatividad vigente Evaluar la presencia LPS y el uso de Limulus en el análisis de inyectables	Seminario y discusión grupal	1	29
3.5.	Uso de microorganismos para valoración de la actividad de fármacos y medicamentos, técnica de AMES (potencia de antibióticos).	Aprovechar la potencialidad de la utilización de microorganismos para detectar los fenómenos mutagénicos o cancerígenos desencadenados por algunos fármacos	Seminario y discusión grupal	1	22

UNIDAD IV. CONTROL DE LA INFECCIÓN

OBJETIVO: Diferenciar los mecanismos de acción de los antimicrobianos así como las estrategias de resistencia a los mismos desarrolladas por los microorganismos

Contenido	Objetivos de proceso	Actividades	Duración en sesiones	Bibliografía
<p>Agentes antimicrobianos. Agentes antibacterianos estructura química y mecanismos de acción. Agentes antimicóticos, estructura química y mecanismos de acción. Agentes antivirales, estructura química y mecanismos de acción.</p>	<p>Diferenciar los principales mecanismos de acción de los antimicrobianos así como las estructuras y los procesos metabólicos que pueden actuar como blanco de los mismos. Utilizar la susceptibilidad de los microorganismos a la acción de los fármacos para determinar la potencia de los mismos.</p> <p>Analizar los distintos mecanismos de resistencia de que disponen los gérmenes para evadir el efecto de los antimicrobianos para diseñar esquemas de uso racional</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>3</p>	<p>1, 3 y 13</p>

UNIDAD V. RELACIÓN HOSPEDERO-PARÁSITO

OBJETIVO: Determinar las bases de la resistencia del hospedero ante los microorganismos. Determinar las características de los productos biológicos y su utilidad en el diagnóstico, la profilaxis y la terapéutica.

Contenido	Objetivos de proceso	Actividades	Duración en sesiones	Bibliografía
<p>5.1 Conceptos básicos de comensalismo, colonización, infección y enfermedad.</p>	<p>Identificar los conceptos fundamentales relacionados con la interacción de los microorganismos patógenos y el hombre. Diferenciar los mecanismos de patogenicidad de los microorganismos para comprender los aspectos relevantes que se establecen durante la colonización de los diversos huéspedes como la respuesta de los hospederos a la misma</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>1</p>	<p>12, 19, 25, 26, 27, 28</p>
<p>5.2 Primera línea de defensa contra la infección. Inmunidad innata.</p> <p>5.2.1 Barreras.</p> <p>5.2.2 Receptores de inmunidad innata (Toll, MR, CR).</p> <p>5.2.3 Concepto de inflamación (fases).</p> <p>5.2.4 Fagocitosis.</p> <p>5.2.5 Complemento.</p> <p>5.2.6 Citocinas efectoras de la inmunidad innata.</p>	<p>Conocer la importancia de los mecanismos de resistencia inespecífica del huésped a la infección.</p> <p>Conocer las diferencias entre inmunidad natural y adaptativa.</p> <p>Comprender las características y los mecanismos involucrados en la respuesta inmune para diseñar agentes inmuno profilácticos eficaces.</p> <p>Comprender los mecanismos involucrados en la respuesta inflamatoria producida por la infección microbiana</p> <p>Comprender el concepto de redes de citocinas.</p> <p>Analizar la participación de las distintas moléculas efectoras de la respuesta inmune, NO, ROS, péptidos antimicrobianos en los mecanismos involucrados en la resistencia inespecífica a los agentes externos y en el fenómenos inflamatorio</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>7</p>	<p>5, 6, 18, 19</p>

Contenido	Objetivos de proceso	Actividades	Duración en sesiones	Bibliografía
<p>5.3 Inmunidad adaptativa (celular)</p> <p>5.3.1 Moléculas del complejo principal de histocompatibilidad.</p> <p>5.3.2 Presentación antigénica.</p> <p>5.3.3 Citocinas asociadas con la inmunidad adaptativa.</p>	<p>Comprender los conceptos de antígenos, inmunógenos y haptenos.</p> <p>Comprender los mecanismos involucrados en la inducción de la respuesta inmune</p> <p>Identificar las interacciones moleculares que ocurren entre las células presentadoras de antígeno, los receptores al antígeno y las moléculas del CPH</p> <p>Diferenciar las características y funciones de las moléculas del Sistema Mayor de Histocompatibilidad</p> <p>Diferenciar las respuestas inmunológicas que llevan a la activación de subpoblaciones celulares dependientes de antígenos clase I y clase II</p> <p>Conocer las moléculas producidas por los linfocitos T y las células presentadoras del antígeno como las responsables de las principales acciones inmunológicas</p> <p>Diferenciar las actividades biológicas de los linfocitos TH1 y TH2</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>7</p>	<p>5, 6, 18, 19</p>
<p>5.4 Inmunidad adaptativa (Humoral)</p> <p>5.4.1 Anticuerpos</p> <p>5.4.2 Moléculas efectoras de la inmunidad humoral. Estructura y funciones. Anticuerpos monoclonales.</p>	<p>Comprender la estructura y funciones biológicas de las inmunoglobulinas.</p> <p>Comprender los fundamentos de las reacciones antígeno-anticuerpo más utilizadas en el diagnóstico de enfermedades y en la identificación de microorganismos objetables dentro de la industria químico-farmacéutica.</p> <p>Conocer las diferentes aplicaciones e innovaciones a las técnicas inmunológicas básicas</p>	<p>Seminario y discusión grupal</p>	<p>3</p>	<p>5, 6, 18, 19</p>
<p>5.5 Uso de inmunomoduladores como productos biofarmacéuticos.</p>	<p>Comprender la metodología para la producción de anticuerpos monoclonales y sus posibles usos</p>		<p>1</p>	<p>5, 6, 18, 19</p>

SESIONES EXPERIMENTALES

A lo largo de la UEA y en forma paralela a la discusión teórica y al trabajo de investigación, los alumnos desarrollarán cinco modelos experimentales que les permitirán comprender y familiarizarse con la metodología básica para el manejo de los microorganismos en la industria farmacéutica. Los modelos elegidos por su pertinencia con las distintas formas de la práctica profesional identificadas por el taller de rediseño son los siguientes:

- I. ***Aislamiento e identificación de microorganismos objetables (Cocos Gram +)***. El desarrollo de este modelo permitirá que los alumnos se habiliten en la preparación de medios de cultivo y aislamiento de microorganismos, así como en las principales técnicas microbiológicas de rutina (análisis de la morfología colonial, preparación de los microorganismos para la observación microscópica) para su adecuada identificación.
- II. ***Identificación de microorganismos objetables (bacterias Gram - y hongos)***. Este modelo experimental favorecerá la formación del alumno en los fundamentos y la metodología para el diagnóstico microbiológico tales como la elección de medios de cultivo selectivos y diferenciales para el aislamiento de microorganismos así como la ejecución e interpretación de pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias con base en el conocimiento de los procesos metabólicos característicos de las diferentes especies de microorganismos.
- III. ***Tipificación de grupos sanguíneos***. Este modelo experimental favorecerá la formación del alumno en los fundamentos y la metodología para el diagnóstico de reacciones antígeno anticuerpo, cuando se utilizan antígenos particulados.
- IV ***Cuantificación de proteínas***. Este modelo experimental permitirá al alumno familiarizarse con las técnicas básicas de cuantificación de proteínas (Determinación de proteínas por el método de Lowry)
- V. ***Técnica de PCR***. Este modelo experimental permitirá al alumno familiarizarse con los fundamentos y la metodología para el diagnóstico microbiológico, por técnica moleculares actuales

SESIÓN EXPERIMENTAL I

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS OBJETABLES (GRAM POSITIVOS)

Introducción

Hasta hace poco más de una década, se consideraba que, dentro del género *Staphylococcus*, la única especie patógena era el *S. aureus*, de hecho a los estafilococos coagulasa negativa o ECN se les consideraba como saprófitos o de baja patogenicidad para los humanos, e inclusive, a algunas especies de este grupo se les incluía dentro de una sola. *S. epidermidis*, cuya mención en los reportes de laboratorio clínicos se interpretaba como contaminación de las muestras con miembros de la flora de piel y/o mucosas. Sin embargo, en los años recientes, todo el planteamiento antes señalado se ha modificado radicalmente, ya que aún cuando se continúa reconociendo a *S. aureus* como la especie mas virulenta, lo cierto es que ciertas especies de ECN han mostrado un marcado incremento en padecimientos infecciosos, en especial cuando el paciente analizado se encuentra sometido a padecimientos médicos invasivos o es tratado con cuerpos extraños residentes, tales como sondas, catéteres y sus equivalentes.

Por lo que se refiere a los laboratorios farmacéuticos, la especie de *S. aureus* continúa siendo muy importante, en virtud de que se trata de uno de los 5 microorganismos objetables en productos farmacéuticos no estériles (PFNE) junto con *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Pseudomonas aeruginosa* y la levadura *Candida albicans*. La presencia de cualquiera de ellos es suficiente para que los productos farmacéuticos no sean liberados para su venta.

Los estafilococos son bacterias esféricas, no poseen flagelos ni esporas y sólo algunas cepas son capsuladas, se tiñen fácilmente reteniendo el colorante de Gram de manera tenaz, aunque esta propiedad varía en los cultivos viejos y en los que se obtienen bajo condiciones adversas como en presencia de antibióticos. Su agrupación característica en cúmulos parecidos a racimos es lo más evidente, pero sólo se aprecia en preparaciones provenientes de muestras biológicas y de cultivos sólidos.

Medios de cultivo: La gelosa sangre permite evidenciar hemolisinas estafilocócicas tales como la α , β presentes con cierta regularidad en los ECP. Se incorporan medios selectivos tales como el S110, manitol sal agar que deben su selectividad al alto contenido de NaCl, así como el Baird Parker y el Vogel Jonson, cuyo agente inhibidor es el telurito de potasio ($K_2T_2O_5$) al 1 %.

Morfología macroscópica

En general las colonias estafilocócicas son redondas con un diámetro de 2-4 mm, convexas de bordes regulares su coloración varía de blanco (gelosa sangre) hasta el negro en las formulaciones que contienen telurito tales como el Baird Parker y el Vogel Jonson. En gelosa sangre el *S. aureus* y Baird Parker las colonias suelen rodearse de un halo transparente debido a la elaboración de hemolisinas en GS y de lecitinasa en el segundo medio.

En manitol sal agar (MSA) las colonias se rodean de halos amarillos, debido a que ocurre fermentación del manitol y su indicador rojo de fenol adquiere esa coloración al disminuir el pH. En S110, tras 24 h. de incubación a temperatura ambiente las colonias manifiestan un color amarillo dorado, al producirse un ambiente lipofílico no hidrosoluble constituido por derivados de xantina.

Pruebas de identificación

Prueba de la catalasa: Para llevar a cabo la prueba se requiere de peróxido de hidrógeno al 30% y un cultivo puro de 18-24 horas, el procedimiento es muy sencillo en un portaobjetos se coloca una asada del microorganismo y se vierten unas o dos gotas del H_2O_2 al 30%. La reacción es tan rápida que bastan unos segundos para que en la solución que se encuentra en contacto con las células, se empiecen a notar la presencia de burbujas ocasionadas por el O_2 que se desprende.

Prueba de la coagulasa: Para llevar a cabo la prueba se adicionan aseptícamente 0.5 ml de plasma de conejo o de humano en un tubo de ensayo estéril y se agregan 0.5 ml de un cultivo líquido y puro de 18-24 horas se mezclan por rotación y se incuban a $37^\circ C$ hasta que se observe la formación de redes de fibrina o de un coágulo. Las cepas fuertemente positivas producen el coágulo en 4 horas y es recomendable leerlo cada 30 minutos ya que el *S. aureus* produce fibrinolisinasa y la

acción de estas puede destruir el coágulo provocando resultados falsos negativos. Otras cepas de *S. aureus* son capaces de producir la coagulasa hasta que transcurren 18 horas, por lo tanto es necesario revisar a las 24 horas.

Objetivo (s)

1. Caracterizar en coagulasa positiva y coagulasa negativa las especies de *Staphylococcus* de importancia en salud pública.
2. Describir las características microscópicas, culturales y bioquímicas que permiten efectuar el aislamiento y la diferenciación entre *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativa.
3. Seleccionar medios de cultivo para llevar a cabo la detección de los estafilococos.
4. Elegir, leer e interpretar las pruebas que permiten identificar a los estafilococos.
5. Describir los fundamentos, técnicas y limitaciones de las metodologías asociadas a la detección de los estafilococos en las muestras clínicas, los productos farmacéuticos y las materias primas.

Materiales, equipo y reactivos

Autoclave	NaOH 0.5 %
Incubadora	H ₂ O ₂ 30%
Microscopios	Plasma humano citratado
Refrigerador	Agar S-110
Asa bacteriológica	Caldo de manitol rojo de fenol
Mecheros	Gelosa sangre
Pipetas Pasteur	Manitol sal agar
Portaobjetos	Vogel Jonson.
Aceite de inmersión	
Equipo tinción de Gram	

Procedimiento experimental

Primera sesión

1. Entrega de las muestras al estudiante
2. Realización del frotis para la tinción de Gram de las muestras y observación al microscopio.
3. Siembra por estría cruzada en gelosa sangre, agar S110, Vogel Jonson y manitol sal agar.
4. Siembra de las 4 placas e incubar 35°C durante 24-48 horas

Segunda sesión.

1. Observación de las características macroscópicas en cada medio sembrado
2. Realización del frotis de Gram de dos colonias observación al microscopio
3. Siembra de una colonia pura en caldo manitol rojo de fenol
4. Incubación de este último a 35°C durante 24 horas.

Tercera sesión

1. Observación de las características macroscópicas en el caldo rojo de fenol
2. Realización de un frotis y tinción de Gram
3. Realización y lectura de la prueba de la coagulasa.

Mecanismo de eliminación de residuos: actividades de desecho de materiales: Para la eliminación de residuos peligrosos biológico-infecciosos se deberán observar los lineamientos descritos en el Manual de Procedimientos de la UPEAL Bioterio y la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo

Presentación y discusión de resultados: Elaborar un reporte del trabajo realizado que incluya: el fundamento de las técnicas utilizadas, los procedimientos que se siguieron, los resultados obtenidos y las conclusiones a las que llegaron.

Bibliografía

- Cejudo, U. B. y Garzón, S. L. 2002. Pruebas biológicas y microbiológicas relacionadas con el proceso de medicamentos. UAM-X. Serie Académicos CBS. Núm. 40. México, pp. 7-69.
- Garza V. R. 2000 Bacteriología Manual de Prácticas Facultad de Química UNAM México.
- Koneman, E. W., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P. y Winn, W. 2001. Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas Color. Editorial Panamericana. 5ª. Edición. Buenos Aires. Argentina.
- Mac, F. J. 1993. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Médica Panamericana. 2ª. Reimpresión. México.

SESIÓN EXPERIMENTAL II

IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS OBJETABLES (GRAM NEGATIVOS)

Introducción

Dentro del grupo de bacterias presentes en el tracto digestivo, las especies de mayor relevancia son: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* y *Citrobacter freundii* clasificados como fermentadores de lactosa (Lac+) y *Salmonella Typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boyde*, *Shigella sonnei*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* y *Pseudomona aeruginosa*, consideradas como no fermentadoras de la lactosa (Lac-). Cabe señalar que todas son facultativas y pertenecen a la familia de las Enterobacteriaceae, exceptuando a la última de ellas, la cual es aerobia estricta y se ubica dentro de la familia Pseudomonadaceae.

Por lo que respecta a la industria farmacéutica, 3 de los 5 microorganismos objetables en productos farmacéuticos no estériles (*E. coli*, *Salmonella* sp y *P. aeruginosa*), se encuentran formando parte de este grupo.

Características comunes

Son bacilos Gram negativos, sin agrupación, móviles (excepto *Klebsiella*, *Shigella*) no esporulados y sólo *Enterobacter*, *Klebsiella* y algunas cepas de *E. coli* presentan cápsula. Sus colonias suelen ser blancas o grisáceas en medios sin indicador, no hemolíticas (excepto *P. aeruginosa*), convexas de bordes regulares y aspecto húmedo.

Características particulares

E. coli indol+, citrato- y ureasa-, fermentador rápido de la lactosa, produciendo reflejos verdosos en agar eosina azul de metileno (EMB) y Endo.

K. pneumoniae y *E. aerogenes* forman colonias grandes, mucoides de desarrollo confluyente (encimadas) debido a que sintetizan grandes cápsulas. La diferencia principal entre ambas es la movilidad, que resulta negativa para la primera y positiva para la segunda.

Citrobacter freundii debe su nombre a su capacidad para utilizar citrato como fuente de carbono y es la única enterobacteria Lac+ que produce H₂S.

Salmonella sp es H₂S+ y ureasa-.

Shigella sp suele no desarrollar en agar verde brillante.

S. marcescens produce frecuentemente un pigmento hidrosoluble rosa intenso.

P. mirabilis y *P. vulgaris* son H₂S + y ureasa + formadores de swarming (crecimiento en enjambre). Se diferencian entre si, considerando la producción de indol, que es negativa para la primera y positiva para la segunda.

P. aeruginosa es citocromo oxidasa+ no fermenta carbohidratos, su olor es similar al de las tortillas húmedas y sintetiza dos pigmentos hidrosolubles: la fluoresceína, que sólo puede observarse en el medio cuando se hace inducir la luz ultravioleta sobre él y, la piocianina que es de color azul verdoso.

Para la identificación de los microorganismos lo primero que debe realizarse es clasificar a los microorganismos como Lac+ o Lac-. Con ello se determinará si tras 24 horas de incubación, las colonias generarán acidez o alcalinidad respectivamente.

Identificación bioquímica.

PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PROPAGACIÓN MICROBIANA

El patrón mínimo suficiente para llevar a cabo la diferenciación bioquímica se realiza con medios de cultivo accesibles como el Klieger (fermentación de lactosa, glucosa, producción de gas, producción de H₂S) SIM (producción de indol, H₂S, movilidad) Citrato de Simmons (utilización del citrato como fuente de carbono) Caldo de Sacarosa Urea (fermentación de sacarosa y producción de ureasa) caldo de manitol rojo de fenol (fermentación del manitol).

Pruebas bioquímicas para la identificación de enterobacterias y Pseudomonas

Bacteria	Glu	Lac	Gas	H ₂ S	Indol	Mov	Cit	Sac	Ureasa	Man	VP
<i>E. coli</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
<i>K. pneumoniae</i>	+	d	+	-	-	-	+	d	d	+	+
<i>E. aerogenes</i>	+	+	+	-	-	+	+	d	d	+	+
<i>C. freundii</i>	+	+	d	+	-	+	+	d	-	+	-
<i>S. typhi</i>	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
<i>S. enteritidis</i>	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-
<i>Shigella sp</i>	+	-	-	-	d	-	d	-	-	+	-
<i>S. marcescens</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	d
<i>P. mirabilis</i>	+	-	-	+	-	+	d	-	+	-	-
<i>P. vulgaris</i>	+	-	-	+	+	+	d	-	+	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	d	-	-	-	-	+	d	-	d	-	-

Objetivo (s):

1. Enumerar las principales especies pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae y Pseudomonadaceae, señalando su importancia en salud pública y en los laboratorios farmacéuticos.
2. Familiarizarse con las características microscópicas y las propiedades culturales de este importante grupo bacteriano.
3. Elegir los medios de cultivo involucrados en el aislamiento y la diferenciación presuntiva de estas bacterias, señalando los componentes que los hacen selectivos y diferenciales.
4. Seleccionar los medios de cultivo empleados en la diferenciación bioquímica de los diversos géneros involucrados en este grupo bacteriano.
5. Describir las técnicas y fundamentos relacionados con la detección de estos microorganismos en las muestras clínicas en materia prima y en productos farmacéuticos.

Materiales, equipo y reactivos

Autoclave
 Incubadora
 Microscopio
 Refrigerador
 Asa bacteriológica
 Mecheros
 Portaobjetos
 α -naftol
 Equipo tinción de Gram

KOH 40%
 Reactivo de Ehrlich.
 Agar citrato de Simmons
 Agar EMB
 Agar Endo
 Agar de hierro Klieger
 Agar Hecktoen
 Agar Mac Conkey
 Agar SS

Agar semisólido SIM
Agar Tergitol 7
Agar verde brillante
Agar XLD

Caldo manitol rojo fenol
Caldo RMVP
Caldo sacarosa-urea

Procedimiento experimental

Primera sesión.

1. A partir de una muestra de heces
2. Sembrar por estría cruzada en los medios selectivos y diferenciales (Endo, EMB, Tergitol 7, Mac Conkey, SS, XLD, verde brillante, Hecktoen)
3. Incubar las cajas a 37°C durante 24-48 horas

Segunda sesión

1. Sembrar las colonias Lac+ y Lac- en citrato de Simmons, caldo de manitol rojo de fenol, caldo de sacarosa-urea, caldo RMVP, agar semisólido SIM, y agar Klieger.
2. Incubar los medios a 37°C durante 24 horas
3. Refrigerar las cajas hasta el día siguiente

Tercera sesión

1. Observar características macroscópicas en cada caja y describir la morfología colonial
2. Leer las pruebas bioquímicas
3. Realizar la tinción de Gram y describir la morfología microscópica

Mecanismo de eliminación de residuos: actividades de desecho de materiales: Para la eliminación de residuos peligrosos biológico-infecciosos se deberán observar los lineamientos descritos en el Manual de Procedimientos de la UPEAL Bioterio y la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo

Presentación y discusión de resultados: Elaborar un reporte del trabajo realizado que incluya: el fundamento de las técnicas utilizadas, los procedimientos que se siguieron, los resultados obtenidos y las conclusiones a las que se llegaron.

Bibliografía

- Cejudo, U. B. y Garzón, S. L. 2002. Pruebas biológicas y microbiológicas relacionadas con el proceso de medicamentos. UAM-X. Serie Académicos CBS. Núm. 40. México, pp. 7-69.
- Garza V. R. 2000 Bacteriología Manual de Prácticas Facultad de Química UNAM México.
- Koneman, E. W., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P. y Winn, W. 2001. Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas Color. Editorial Panamericana. 5ª. Edición. Buenos Aires. Argentina.
- Mac, F. J. 1993. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Médica Panamericana. 2ª. Reimpresión. México.

SESIÓN EXPERIMENTAL II-B

IDENTIFICACIÓN DE HONGOS

Introducción

Los hongos son microorganismo eucariotes de mayor tamaño y complejidad que las bacterias. Según su morfología los hongos se pueden dividir en dos grupos: mohos (hongos filamentosos) y levaduras. Las levaduras son unicelulares y generalmente presentan reproducción asexual por gemación.

Los mohos presentan una estructura vegetativa denominada micelio, el cual esta formado por una serie de tubos rígidos ramificados, dentro de los cuales se encuentra el citoplasma multinucleado. Estos tubos reciben el nombre de hifas. De esta forma a partir de una espora en germinación se desarrolla una hifa, esta se ramifica y forma un micelio.

El crecimiento del hongo se prolonga hasta que los nutrientes desaparezcan. Las hifas pueden ser de dos tipos: vegetativas que penetran el sustrato con el fin de absorber nutrientes e hifas aéreas que son las portadoras de las estructuras reproductoras.

La clasificación de los hongos se hace según las características de las hifas, la formación de esporas asexuales, las estructuras que contienen éstas y la capacidad de producir esporas sexuales.

Objetivos

Familiarizarse con las características microscópicas de los principales hongos presentes en el ser humano.

Conocer e identificar algunos aspectos de la morfología microscópica de los hongos filamentosos mediante la técnica de microcultivo y el examen directo de los mismos

Materiales, equipo y reactivos

8 Cajas petri de vidrio
5 varillas de vidrio dobladas en forma triangular
5 portaobjetos
5 cubreobjetos
1 bisturí
1 pinza de disección
3 Pipetas de 10 ml
1 Matraz erlenmeyer de 250ml
Agua, gasa y algodón
1 Microscopio estereoscópico
1 Microscopio óptico

2 mecheros Fisher
Agar Sabouraud
Glicerina
Solución lugol
1 Parrilla
2 Agitadores magnéticos
1 probeta de 100 ml
1 Matraz erlenmeyer de 500 ml
Balanza granataria
Material biológico: muestra de heces

Procedimiento experimental

Primera Sesión

1. Preparación de reactivos y medio de cultivo:

PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PROPAGACIÓN MICROBIANA

a) Solución glicerinada al 5 % (5 ml de glicerina en 100 ml de agua)

b) Agar Sabouraud: Preparar 50 ml medio siguiendo las indicaciones del reactivo.

2. Preparar tantas cajas petri por equipo, como integrantes tenga el mismo, de la siguiente forma: colocar una varilla de vidrio en forma triangular dentro de la caja encima de ésta un portaobjetos y 2 cubreobjetos, cerrar las cajas, colocarlas en un cilindro para esterilizar cajas Petri .
3. Envolver las pipetas, el bisturí y las pinzas en papel de estraza para esterilizar.
4. Esterilizar el medio de cultivo, el agua glicerinada, y el material preparado, en autoclave a 121°C (15 lb/plg²), durante 15 minutos.
5. En condiciones asépticas vaciar el agar a 2 cajas Petri (por equipo) calcular aproximadamente 25 ml por caja, dejar solidificar.

Preparación del microcultivo

1. En condiciones de esterilidad y con ayuda de un bisturí cortar cuadros de 1 cm X 1 cm del agar Sabouraud.
2. Colocar un cuadro de los inmediatamente cortados sobre el portaobjetos de cada una de las cajas Petri con ayuda de las pinzas de disección.
3. Inocular por picadura, con el asa estéril, una muestra de heces en cada uno de los cuadros de agar y colocar con la ayuda de las pinzas de disección estériles el cubreobjetos encima del agar.
4. Adicionar agua glicerinada estéril hasta cubrir dos terceras partes de la varilla de vidrio de cada una de las cajas petri y tapar las cajas.
5. Incubar las cajas a 30°C durante una semana. Verificar diariamente que las cajas conserven un nivel adecuado de agua glicerinada.

Segunda Sesión

Observación de los hongos

- 1.-Observar con el microscopio de disección los hongos desarrollados después de 7 días de incubación.
- 2.-En un portaobjetos colocar una gota de lugol y cubrirla con el cubreobjetos que proviene del microcultivo, observar al microscopio óptico.
- 3.- Observar al microscopio el portaobjetos del microcultivo, retirar el cuadro de agar, agregar una gota de solución de lugol y cubrir con un cubreobjetos limpio.

Mecanismo de eliminación de residuos: actividades de desecho de materiales: Para la eliminación de residuos peligrosos biológico-infecciosos se deberán observar los lineamientos descritos en el Manual de Procedimientos de la UPEAL Bioterio y la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo

Presentación y discusión de resultados: Elaborar un reporte del trabajo realizado que incluya: el fundamento de las técnicas utilizadas, los procedimientos que se siguieron, los resultados obtenidos y las conclusiones a las que se llegaron

SESIÓN EXPERIMENTAL III TIPIFICACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS

Introducción

Las transfusiones son una rutina en la práctica clínica, no obstante, aún en nuestros días ocasionan peligros inmunitarios, estos riesgos pueden evitarse mediante pruebas de la sangre del donador y del receptor antes de la transfusión. Las membranas de los eritrocitos humanos contienen antígenos de grupos sanguíneos, en la actualidad se conocen alrededor de 20 sistemas de grupos sanguíneos diferentes entre los que se encuentran el ABO.

El sistema sanguíneo ABO

Fue reportado inicialmente por Landsteiner en 1901 y se compone por cuatro principales grupos A, B, O y AB. El grupo se determina por la presencia o ausencia de una glicoproteína (antígeno ó aglutinógeno) en la superficie del glóbulo rojo. La segregación de estos antígenos está regida por las leyes de herencia de Mendel. Los antígenos para el gene A y B son dominantes y O recesivo; así cuando uno de los progenitores dona el gene A el otro dona el gene O y el hijo tendrá en su sangre A, su genotipo es AO pero si ambos progenitores le heredan el gene A su genotipo es AA y su fenotipo A

Los eritrocitos pueden aglutinar con un antisuero específico (anticuerpos o aglutininas) de ahí que a sus antígenos se les denomine también aglutinógenos. Así cuando un eritrocito contiene el aglutinógeno A la sangre es del tipo A y presenta aglutininas anti-B, cuando existe el aglutinógeno B la sangre es del tipo B y cuando existen ambos aglutinógenos la sangre es AB y cuando el glóbulo rojo carece de aglutinógenos la sangre es del grupo O y presenta ambas aglutininas (anti A y anti B). Por esta razón el grupo sanguíneo AB es considerado el receptor universal en cambio el grupo O como donador universal.

Grupo sanguíneo	Ag(s) sobre el GR	Ab en el suero	Genotipo(s)
A	Antígeno A	Anti-B	AA o AO
B	Antígeno B	Anti-A	BB o BO
AB	Antígeno A y antígeno B	Ninguno	AB
O	Ninguno	Anti-A y Anti-B	OO

Sistema Rh

Otro antígeno importante en la superficie del glóbulo rojo es el Rh (antígeno D), llamado así porque se determinó en conejos inmunizados con eritrocitos de mono Rhesus. El factor Rh es de naturaleza proteica con propiedades antigénicas que se localizan únicamente en la superficie del eritrocito. Las personas que poseen este antígeno (D) se les denominan Rh+ (positivo) y los que carecen de éste Rh- (negativo).

Este antígeno es responsable de la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) o también llamada eritroblastosis fetal. Es una forma de anemia hemolítica que afecta al feto y al neonato. Aparece cuando los aloanticuerpos maternos frente a antígenos eritrocitarios fetales atraviesan la placenta y causan la hemólisis de los hematíes del feto y también en la determinación de la compatibilidad donador receptor en las transfusiones sanguíneas.

Para evitar reacciones posttransfusionales por incompatibilidad de grupos sanguíneos es necesario conocer el grupo y tipo sanguíneo que presentan los donadores y receptores de sangre (reactividad cruzada). Además es una herramienta útil para la determinación de posibles riesgos de eritroblastosis fetal en embarazos en donde el padre sea Rh+ y la madre Rh-.. Otras aplicaciones útiles de esta técnica sirven para la determinación de posible paternidad y es obligatoria en el caso de la búsqueda de donadores de órganos para transplantes.

Objetivo (s):

Determinar el grupo sanguíneo ABO y tipo Rh de los alumnos del grupo por la técnica de aglutinación directa con el uso de antisueros específicos.

Materiales, equipo y reactivos

Suero tipificador anti-A, Suero tipificador anti-B y Suero tipificador anti-D (Rh), Solución salina 0.85%
Alcohol 96%, Lancetas estériles

Algodón
Placas excavadas de porcelana ó portaobjetos de vidrio
Palillos de madera

Procedimiento experimental

Depositar en la placa excavada de porcelana una gota de solución salina 0.85% a tres pocillos*

Limpiar el dedo índice del paciente, con una torunda con alcohol. Hacer una punción con lanceta estéril y depositar una gota de sangre en cada uno de los tres pocillos. Agregar a cada pocillo en forma separada una gota de los sueros anti A, anti B y anti D

Mezclar la sangre y el suero con ayuda de un palillo de madera, hacer movimientos rotatorios suaves durante 3 minutos para hacer una mezcla uniforme.

Leer las aglutinaciones a simple vista, comparar con la fotografía e identificar a que grupo sanguíneo pertenece la sangre en el sistema ABO y Rh. *Si se desea preparar un testigo negativo se debe colocar en otro pocillo sangre en solución salina sin adicionarle antisueros

Las reacciones de aglutinación se interpretan como positivas cuando se observa un cúmulo de células rojas como se observa en la figura 1, una respuesta negativa se presenta cuando en presencia del antisuero tiene un aspecto semejante a la sangre en solución salina en ausencia de sueros (testigo negativo)

Figura 1



Para la tipificación se debe analizar a los pocillos A y B en donde se aplicaron los sueros tipificadores anti A y anti B y determinar como positivo aquellos en donde se presenta aglutinación, para el tipo ó Rh se debe reportar como positivo aquellos en donde aparece aglutinación en donde se utilizó en antisuero anti D y como negativo en donde no se presentó aglutinación según aparece en la figura 2.

Mecanismo de eliminación de residuos: actividades de desecho de materiales: Para la eliminación de residuos peligrosos biológico-infecciosos se deberán observar los lineamientos descritos en el Manual de Procedimientos de la UPEAL Bioterio y la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo

Presentación y discusión de resultados: Elaborar un reporte del trabajo realizado que incluya: el fundamento de las técnicas utilizadas, los procedimientos que se siguieron, los resultados obtenidos (tipo de sangre) y las conclusiones a las que se llegaron

Bibliografía

Daniels G. (2002) Human Blood Groups, Second Ed. Blackwell Science.USA

Race RR, Sanger R. (1995) Los grupos sanguíneos humanos. Segunda edición. México. La Prensa Médica Mexicana. p. 271-294.

Reid, M. & Lomas-Francis, C. (1997) The Blood Group Antigen Facts Book, Academic Press, California,.

Schenkel-Brunner, H. (2000) Human Blood Groups: Chemical and Biochemical Basis of Antigen Specificity, Springer-Verlag, Wien.

SESIÓN EXPERIMENTAL IV
DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO DE LOWRY

Introducción

Las proteínas como un grupo de moléculas, desempeñan una gran variedad de funciones, algunas participan en la contracción muscular y sirven para dar soporte estructural, otras transportan y almacenan moléculas pequeñas.

Los anticuerpos (moléculas que sirven para como protección inmunológica) son proteínas al igual que las enzimas (catalizadores biológicos) y algunas hormonas. Las proteínas pueden llevar a cabo funciones tan diversas por la enorme posibilidad de combinaciones en la composición y secuencia de aminoácidos.

El método de Lowry (1951) es un método espectrofotométrico de valoración cuantitativa de proteínas. A la disolución de proteínas se le añade un reactivo que forma un complejo coloreado con ellas, siendo la intensidad de color de la disolución resultante proporcional a la concentración de proteínas.

Para poder utilizar la sangre como fuente de hemoderivados, es necesario conocer las técnicas que permiten la valoración de los componentes que la conforman dentro de los cuales destacan las proteínas como son la albúmina, el fibrinógeno y las α , β y γ globulinas.

Objetivo (s):

Determinar la concentración de proteínas totales, presentes en suero sanguíneo proveniente de alumnos del grupo

Materiales, equipo y reactivos

Tubos de ensayo 18 x 150	NaOH, Na ₂ CO ₃ , Tartrato de Sodio y Potasio
Gradillas, Pipetas	Sulfato de cobre
Fotocolorímetro, Celdas para el colorímetro	Reactivo de Folin Cicalteau
Agitadores de tubos	BSA

Preparación de reactivos

Solución A Carbonato de Sodio		Reactivo I	
NaOH (0.1 N)	4 g	Solución A (Carbonato de Sodio)	50.0 ml
Na ₂ CO ₃ (2 %)	20 g	Solución B (Tartrato de Na y Potasio)	0.5 ml
Agua destilada c.b.p.	1000 ml	Solución C (Sulfato de cobre)	0.5 ml
Solución B Tartrato de Na y Potasio		Reactivo II	
2 %		Reactivo de Folin Cicalteau	1 ml
Tartrato de Sodio y Potasio	2 g	Agua destilada	1 ml
Agua destilada c.b.p.	100 ml	Solución estándar de BSA. 1 mg / ml	
Solución C Sulfato de cobre 1 %		Albúmina sérica bovina	10 mg
Sulfato de cobre	1 g	Agua destilada c.b.p.	10 ml
Agua destilada c.b.p.	100 ml		

Procedimiento experimental

Material Biológico: Suero sanguíneo

1. De una solución estándar de BSA. 1 mg / ml hacer una dilución 1:10 (0.3 ml BSA + 2.7 ml de agua destilada) y proceder a preparar la curva tipo de acuerdo con el siguiente protocolo.

Tubo	BSA ml	H ₂ O ml	[µg/ml]	Reactivo I	Reactivo II
1	0.000	1.000	0.00	3.0 ml	0.3 ml
2	0.125	0.875	12.5	3.0 ml	0.3 ml
3	0.250	0.750	25.0	3.0 ml	0.3 ml
4	0.500	0.500	50.0	3.0 ml	0.3 ml
5	0.750	0.250	75.0	3.0 ml	0.3 ml
6	1.000	0.000	100.0	3.0 ml	0.3 ml

2. Preparar 1.0 ml de las diluciones adecuadas de la muestra de suero sanguíneo
3. Adicionar el reactivo I tanto a los tubos de la curva, como a los de las diluciones de la muestra problema Incubar 10 min. a temperatura ambiente
4. Adicionar el reactivo II tanto a los tubos de la curva, como a los de las diluciones de la muestra problema, Incubar a temperatura ambiente 30 min.
5. Leer en un espectrofotómetro a 540 nm

Mecanismo de eliminación de residuos: actividades de desecho de materiales: Al iniciar el trabajo experimental, los usuarios deberán conocer las características del material y reactivos a utilizar a fin de hacer una evaluación de los riesgos y tomar las medidas necesarias para la prevención de accidentes. Deberán consultarse las hojas de seguridad para el manejo de compuestos químicos.

Para la limpieza del material a utilizar se recomienda a los alumnos el empleo de detergentes biodegradables.

Para desechar ácidos y álcalis se deben de neutralizar primero, el resto de los materiales de desecho se deben de almacenar en recipientes debidamente etiquetados para su posterior confinamiento.

Presentación y discusión de resultados: Elaborar un reporte del trabajo realizado que incluya: el fundamento de la técnica, el procedimiento que se siguió; la preparación de las diluciones del suero, la grafica de los datos obtenidos con la concentración de proteínas del suero problema. Comparar el resultado, con el obtenido mediante la aplicación de regresión lineal a los datos. Incorporar conclusiones.

Bibliografía

Harlow E, y Lane D (1999) Using antibodies: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York, USA.

Krupp, Marcus A. (1986) Manual de Diagnóstico Clínico y de Laboratorio. El Manual Moderno. México.

Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, y R. J. Randal Protein measurement with folin phenol reagent. J. Biol. Chem.1951 265-275193.

SESIÓN EXPERIMENTAL V

TÉCNICA DE PCR

Introducción

El término “Reacción en Cadena de la Polimerasa” (PCR por sus siglas en inglés) se aplica al proceso bioquímico “*in vitro*”, mediante el cual las cadenas individuales de DNA blanco son duplicadas por la DNA polimerasa en cada uno de los ciclos (generalmente entre 20 y 30) que integran la reacción, al final de cada uno de estos las nuevas cadenas vuelven a ser duplicadas por la misma enzima, lográndose una producción exponencial de millones de copias del gen o segmento de DNA específico sometido al proceso.

Los componentes requeridos para una PCR son: DNA; iniciadores (oligonucleótidos) específicos que flanquean el gen o segmento que actúa como blanco para la amplificación; mezcla de desoxinucleótidos (dNTP's); cofactor Mg₂, solución amortiguadora de reacción y DNA polimerasa.

Cada uno de los ciclos de la reacción consta de tres pasos determinados por temperaturas y tiempos específicos que son:

- 1)Desnaturalización (92-98°C, 30-90 seg.): En el cual se separan o desnaturalizan las dos cadenas complementarias del DNA blanco.
- 2)Alineamiento (50-60°C, 30-90 seg.): En el que se realiza el apareamiento específico entre los iniciadores (oligonucleótidos) y las cadenas simples del segmento de DNA blanco desnaturalizado.
- 3)Extensión (70-74°C, 30-90 seg.): En el que la DNA polimerasa extiende la longitud de los iniciadores apareados al DNA blanco, al ir polimerizando los desoxinucleótidos libres, resultando en nuevas cadenas complementarias a las dos cadenas sencillas presentes al inicio de la reacción..

El ciclo siguiente contiene ahora el doble de cadenas sencillas de DNA blanco que el anterior y finaliza convirtiendo éstas en cadenas dobles. Con la sucesión de ciclos se logra una síntesis exponencial del segmento de DNA blanco, cuyo tamaño se define desde los primeros ciclos de la reacción. Al finalizar la reacción existen millones de copias del fragmento de interés, por lo que es suficiente con colocar en un gel de agarosa una pequeña parte del volumen total de la reacción, correr la electroforesis y teñir con bromuro de etidio, para poder verificar el éxito de la amplificación.

Objetivos.

- Describir el fundamento, técnica y limitaciones de la técnica de PCR
- Desarrollar la técnica de PCR

Procedimiento experimental de la Técnica de PCR.

Se utilizarán equipos comerciales.

Obtención de DNA Cromosómico de Bacterias. (Promega)

1. En un tubo eppendorf estéril de 1.5 mL, adicionar 1 mL de medio de cultivo caldo Luria.
2. Centrifugar a 13,000-16,000 rpm por 2 minutos hasta formar una pelotilla de células y remover el sobrenadante.
3. Adicionar 600 µl de solución de lisis nucleica. Mezclar para resuspender las células.
4. Incubar a 80 °C por 5 minutos para la lisis celular; una vez transcurrido este tiempo, enfriar a temperatura ambiente.
5. Adicionar 3 µl de solución RNAsa para eliminar el RNA contaminado. Invertir el tubo de 2-5 veces para mezclar.
6. Incubar a 37 °C por un lapso de 15-60 minutos. Transcurrido este tiempo enfriar a temperatura ambiente.

7. Adicionar 200 µl de solución de precipitación de proteínas a las células tratadas con RNAsa. Agitar en Vortex vigorosamente por un lapso de 20 segundos para mezclar la solución precipitadora de proteínas con el lisado celular.
8. Incubar en hielo por 5 minutos.
9. Centrifugar a 13,000-16,000 rpm por 3 minutos.
10. Transferir el sobrenadante que contiene el DNA a un tubo eppendorf estéril de 1.5 mL que contenga 600 µl de isopropanol a temperatura ambiente.
11. Mezclar por inversión hasta que el DNA forme una masa visible.
12. Centrifugar a 13,000-16,000 rpm por 15 minutos.
13. Desechar el sobrenadante y secar el tubo en papel absorbente. Adicionar 600 µl de etanol al 70% a temperatura ambiente y mezclar invirtiendo los tubos para formar una pelotilla de DNA.
14. Centrifugar a 13,000-16,000 rpm por 15 minutos y transcurrido este tiempo desechar el etanol.
15. Colocar el tubo en papel absorbente y dejar secar la pelotilla por 10-15 minutos.
16. Adicionar 100 µl de solución rehidratadora de DNA al tubo y rehidratar el DNA por incubación a 65 °C por 1 hora. Periódicamente mezclar la solución para evitar taponar el tubo.
17. Guardar el DNA a una temperatura de 2-8 °C.

1.1 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para identificar genes de factores de virulencia en *E. coli* (Equipo comercial Qiagen ó Promega)

La amplificación para genes de virulencia se llevó a cabo con una mezcla de reacción que contiene 0.5 µl de Taq DNA polimerasa, 2 µl de dNTP, 20 µl de Solución Q, 10 µl de buffer (kit Qiagen), 51.5 µl de agua estéril, 4 µl de primer 1 (5'-3'; izquierda) y 4 µl de primer 2 (5'-3'; derecha), para tener un total de 92 µl (los cuales se dividen en 4 partes de 23 µl), a los que se les adicionan 2 µl de DNA cromosomal.

Las condiciones de la PCR para los genes se muestran en la tabla 13, la diferencia entre ambas PCR's es en la etapa de anillamiento, teniendo para un factor una temperatura de 52 °C y para el otro factor una temperatura de 57.9 °C.

Tabla 13. Condiciones del termociclador para *pic* y *pap*.

Paso	Etapa	Temperatura °C	Tiempo
1.	Activación	94	5 minutos
2. 29 ciclos	Desnaturalización	94	30 segundos
	Hibridación de los iniciadores	52 (1) y 57.9 (2)	30 segundos
	Elongación	72	1 minuto
3.	Terminación	72	10 minutos

Los oligonucleótidos, iniciadores (primers) utilizados en la PCR se diseñarán de acuerdo al gen de virulencia que se quiera amplificar

Electroforesis en Gel de Agarosa al 1.2%

Preparación de 1 litro de Solución de TBE 10x (Tris, Borato, EDTA)

Pesar 108.0 g de Tris base, 55.0 g de Acido Bórico, 93 g de EDTA y disolver en 500-600 mL de agua desionizada, una vez disueltos aforar a 1 litro con agua desionizada. Hecha la solución, guardar en refrigeración para su posterior uso.

Para 1x diluir 100 mL de TBE 10x en 900 mL de agua desionizada

Preparación del Gel de Agarosa al 1.2% en TBE

- En un matraz Erlenmeyer pesar 0.300 g de agarosa, agregar 25 mL de buffer TBE 1x y registrar el peso.
- Disolver la agarosa en un horno de microondas por 20 seg. (repetir cuantas veces sea necesario).
- Al disolverse por completo volver a pesar y recuperar el peso faltante con agua dejar enfriar un poco.
- Verter en la cámara de electroforesis con el peine de 8 pozos y dejar que solidifique.

Carga de la muestra

- Colocar 2 μ L de buffer de carga.
- Inmediatamente después colocar 5 μ L del amplificado, hacer la mezcla de ambos y cargar en los pozos del gel, procurando no dispersar la muestra.
- Correr el gel de 45 a 60 minutos a un voltaje de 85 V.

Revelado del gel

Para revelar el gel se utilizó una solución red gel y observar en la cámara de luz U.V. (Usar lentes de protección para UV).

Mecanismo de eliminación de residuos: actividades de desecho de materiales: Al iniciar el trabajo experimental, los usuarios deberán conocer las características del material y reactivos a utilizar a fin de hacer una evaluación de los riesgos y tomar las medidas necesarias para la prevención de accidentes. Deberán consultarse las hojas de seguridad para el manejo de compuestos químicos.

Para la limpieza del material a utilizar se recomienda a los alumnos el empleo de detergentes biodegradables.

Para desechar ácidos y álcalis se deben de neutralizar primero, el resto de los materiales de desecho se deben de almacenar en recipientes debidamente etiquetados para su posterior confinamiento.

Presentación y discusión de resultados: Elaborar un reporte del trabajo realizado que incluya: el fundamento de la técnica, el procedimiento que se siguió; la preparación de las diluciones del suero, la grafica de los datos obtenidos con la concentración de proteínas del suero problema. Comparar el resultado

Bibliografía.

Diagnostic Molecular Microbiology. Edited by: David Persing, Thomas Smith, Fred Tenover and Thomas White. American Society for Microbiology. Washington D.C. USA. 1995.

BIBLIOGRAFÍA NECESARIA O RECOMENDABLE

1. Madigan T. M., Martinko, J.M., Dunlap, P.V. Clark, D.P. Brock. Biología de los Microorganismos. 12th. Edición. Pearson Addison Wesley Editores. España. 2009.
2. Koneman E., Stephen A. Koneman diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color. Ed. Médica Panamericana, 2008.
3. Tortora G, Funke B., Case C. 2007, Introducción a la Microbiología, 9a. Edición Editorial Médica Panamericana, Argentina.
4. Jean F. Mac Faddin. Pruebas bioquímicas para identificar bacterias de importancia clínica. Ed. Médica Panamericana. 2003.
5. Abbas K.A., Lichtman H.A., Pillai S. Inmunología Celular y Molecular. 6^a. Ed. Elsevier Pub. 2008.
6. Delves J.P., Martin J.S., Burton R.D., Roitt M.I. Roitt Inmunología Fundamentos. 11a. Ed. Panamericana. 2008.
7. Micología médica ilustrada. Roberto Arenas Guzmán. 3a. Edición. Ed. McGraw Hill, 2008. ISBN 978-970-01-6569.
8. Flint, S. J., Enquist, L. W., Krug, R. M., Racaniello, V. R. and Skalka, A. M. 2000, Principles of virology, Molecular biology, pathogenesis, and control, ASM Press, 1st Edition, Washington, D.C. USA.
9. Salyers A.A., Whitt D.D. and Winkler M.E. Bacterial Pathogenesis A Molecular Approach. Third Edition. ASM Press. USA. 2011.
10. Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology, Stephen P. Denyer Editor. 8th Ed., NJ: Wiley. 2011.

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

1. Pallen M.J., Nelson E.K., Preston G.M. Bacterial Pathogenomics. First Edition. ASM Press. USA. 2007.
2. White A., Mc Dermott. Frontiers in Antimicrobial Resistance. Washington: ASM Press. Eds. 2005.
3. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. Ed. J. Pemán, E. Martín Mazuelos, MC Rubio Calvo. 2a. Ed. Rev. Iberoamericana de Micología Bilbao, 2007. ISBN:978-84-611-8776-8. <http://www.guia.reviberoammicol.com/>.
4. Diagnóstico microbiológico. Bailey & Scott. Ed. Médica Panamericana Madrid, 12a. Edición, 2007. ISBN: 978-950-06-8243-5.
5. Manual de procedimientos y técnicas para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas. <http://www.ins.gov.pe>
6. Actualidades en Micología Médica. López MR, Méndez TLJ, Hernández HF. 1a. Ed. Editorial. Sefirot, 2010. ISBN: 978-607-77-2833-7.
7. Prácticas online de microbiología para farmacéuticos. <http://www.pomif.com/>.
8. Casadevall A, Pirofski LA. Host-pathogen interactions: Redefining the basic concepts of virulence and pathogenicity. Inf Immun. 1999; 67(8):3703-3713.
9. Casadevall A, Pirofski LA. Host-pathogen interactions: Basic concepts of microbial commensalism, colonization, infection and disease. Inf Immun. 2000;68(12):6511-6518.
10. Cantón LE, Martín ME, Espinel IA., Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). Rev Iberoam Micol. ISBN 978-84-611-8776-8.
11. Nafsika HG, Tkacz JS. The fungal cell wall as a drug target. Trends Microbiol. 1995;3 (3):98-104.
12. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. MIC testing Vol. 32(2).
13. Shaphiro RS, Robbins N, Cowen LE. Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance and disease. Microbiol Mol Biol Rev. 2011. Vol. 75(2):213-267.
14. Jiménez-López, C., Lorenz, M. C. (2013). Fungal Immune Evasion in a Model Host-Pathogen Interaction: Candida albicans Versus Macrophages. *PLoS pathogens*, 9(11), e1003741.
15. Amdekar, Y. K. (2013). Fascinating Interaction between Host and Pathogen. *The Indian Journal of Pediatrics*, 1-6.
16. Chantratita, N., Tandhavanant, S., Myers, N. D., Seal, S., Arayawichanont, A., Kliangsa-ad, A. West, T. E. (2013). Survey of Innate Immune Responses to Burkholderia pseudomallei in Human Blood Identifies a Central Role for Lipopolysaccharide. *PLOS ONE*, 8(11), e81617.

17. Zhang, X. X., Ritchie, S. R., Rainey, P. B. (2013). Urocanate as a potential signaling molecule for bacterial recognition of eukaryotic hosts. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 1-7.
18. Bel, Y., Jakubowska, A. K., Costa, J., Herrero, S., Escrache, B. (2013). Comprehensive Analysis of Gene Expression Profiles of the Beet Armyworm *Spodoptera exigua* Larvae Challenged with *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa Toxin. *PLOS ONE*, 8(12), e81927.
19. Dirección General de Normas, 2002, NOM-087-ECOL-SSAI, Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos Clasificación y especificaciones de manejo, SSA, México.
20. Persing David H., Tenover C. Fred, Versalovic J., Tang Wi-Wei, et al. *Molecular Microbiology*. 2004. ASM Press, Washington, D.C. USA
21. Persing David H., Smith Thomas F., Tenover C. Fred, White Thomas J. *Diagnostic Molecular Microbiology. Principles and Applications*. 2003 ASM Press, Washington, D.C. USA
22. Bruijn Frans J. *Molecular Microbial Ecology I*. Wiley-Blackwell Ed. 2011. New Jersey. USA.
23. Sachse K., Frey J. *PCR Detection of Microbial Pathogens. Methods in Molecular Biology*. Vol 216. Humana Press. 2003. USA.
24. Dongyou Liu. *Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens*. CRC Press 2011. USA.
25. Glick B, Pasternack J. *Molecular Biotechnology. Principles and applications of recombinant DNA*. 4th ed. 2010. ASM Press, Washington, DC USA.
26. Pallen M.J., Nelson K. E. and Preston G.M. *Bacterial Pathogenomics*. 2007. ASM Press, Washington, D.C. USA

EVALUACIÓN GLOBAL

Investigación		30%
Elaboración del protocolo de investigación	5	
Desarrollo de la investigación	10	
Presentación escrita	8	
Presentación oral	7	
Evaluaciones escritas		40%
Participación		20%
Modelos experimentales		10%

La calificación final será el promedio de los tres rubros anteriores, siempre y cuando sean aprobatorios. Si alguno de ellos es inferior a 6, la calificación final será NA.

EVALUACIÓN DE RECUPERACIÓN.

El alumno deberá presentar una evaluación escrita de la totalidad de los contenidos de la UEA; una evaluación práctica que permita determinar la habilidad del alumno en el manejo de técnicas, cálculo e interpretación de resultados y una propuesta escrita del diseño experimental referente al tema que se le asigne para la evaluación práctica, los últimos dos puntos podrán acreditarse presentando el trabajo de investigación aprobado.

El derecho de evaluación práctica estará sujeto a la aprobación de la evaluación escrita.

Equivalencias

Evaluación	Desde	Hasta	Significa
MB	8.70	10.00	Muy bien
B	7.40	8.69	Bien
S	6.00	7.39	Suficiente
NA	cero	5.99	No acreditado