

# UNAM

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



## COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE IMPORTANCIA VETERINARIA



### AUTORES

*Rosa Elena Miranda Morales  
Javier Gutiérrez Molotla  
Elvía Lazo García  
Mireya Juárez Ramírez  
Emma Lucia Serrano Sánchez*

ISBN 978-607-30-4822-4



**COORDINADORA**  
Rosa Elena Miranda Morales





# DIRECTORIO

## UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**Dr. Enrique Graue Wiechers**  
Rector

**Dr. Leonardo Lomelí Vanegas**  
Secretario General

**Dr. Alfredo Sánchez Castañeda**  
Abogado General

**Dr. Luis Álvarez-Icaza Longoria**  
Secretario Administrativo

**Dra. Patricia Dolores Dávila Aranda**  
Secretaria de Desarrollo Institucional

**Lic. Raúl Arcenio Aguilar Tamayo**  
Secretario de Prevención, Atención y Seguridad Universitaria

## FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**Dr. Francisco Suárez Güemes**  
Director

**Dr. Jorge Hernández Espinosa**  
Secretario General

**L.C. Enrique López Martínez**  
Secretario Administrativo

**Dr. José Ángel G. Gutiérrez Pabello**  
Secretario de Vinculación y Proyectos Especiales

**Dr. Enrique J. Delgado Suárez**  
Jefe del Departamento de Publicaciones

**Dra. Inda Marcela Figueroa Ochoa**  
Jefa del Departamento de Microbiología e Inmunología Veterinaria

ISBN 978-607-30-4822-4



# COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE IMPORTANCIA VETERINARIA

## RESPONSABLE DEL PROYECTO

**Dra. Rosa Elena Miranda Morales**

*FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA,  
UNAM.*

Departamento de Microbiología e Inmunología

## PARTICIPANTES DEL PROYECTO

**M en C. Javier Gutiérrez Molotla**

*FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA,  
UNAM.*

Director Técnico del CEIPSA

**Mtra. en SIG Elvia Lazo García**

*FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA,  
UNAM.*

Departamento de Microbiología e Inmunología

**Dra. Mireya Juárez Ramírez**

*FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA,  
UNAM.*

Departamento de Patología

## VIDEO Y EDICIÓN DE PUBLICACIÓN DIGITAL

**Jaime Córdova López**

*FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA,  
UNAM.*

Departamento de Patología

**Lic. Emma Lucia Serrano Sánchez**

*FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA,  
UNAM.*

Departamento de Patología



PROYECTO PAPIME PE205219

ISBN 978-607-30-4822-4





**UNAM** La Universidad  
de la Nación

## COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE IMPORTANCIA VETERINARIA.

**PRIMERA EDICIÓN, 9 DE AGOSTO DE 2021.**

**DR© 2021, Universidad Nacional Autónoma de México**

Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.

ISBN Obra Independiente: 978-607-30-4822-4

"Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin la autorización escrita del titular de los derechos patrimoniales"

Hecho en México/Made in México

"El Comité Editorial de la FMVZ reconoce el trabajo que realizó el Dr. Rigoberto Hernández-Castro, Dirección de Investigación, Jefe del Departamento Ecología de Agentes Patógenos, Hospital General "Dr. Manuel Gea González" -- Secretaría de Salud, por la revisión técnica de la obra.

Se agradece a la Dirección General de Asuntos del personal Académico (DGAPA) -UNAM, por el apoyo recibido para la publicación de la presente obra a través del Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) PE205219 " Colección, conservación y envío de muestras para el diagnóstico bacteriológico y micológico de importancia veterinaria".

Diseño editorial y formación electrónica: Lic. Emma L. Serrano Sánchez.

Diseño de portada: Lic. Emma L. Serrano Sánchez.

Ortotipografía: MVZ Laura E. Martínez Alvarez.

Trámites del ISBN y derechos de Autor: MVZ Laura E. Martínez Alvarez.

Webmaster: LCG MarcoAntonio Domínguez Guadarrama.

ISBN: 978-607-30-4822-4



PROYECTO PAPIME PE205219





# CONTENIDO

	<b>PÁGINA</b>
<b>Objetivo</b>	1
<b>Prólogo</b>	2
<b>Bienestar animal</b>	3
<b>Bioseguridad</b>	4
<b>Materiales para residuos</b>	6
<b>Identificación de las muestras</b>	7
<b>Conservación y envío de las muestras</b>	8
<b>Generalidades: colección de las muestras para el análisis bacteriológico</b>	10
<b>Procedimiento para la colección de la muestra de leche</b>	11
<b>Procedimiento para la colección de la muestra de sangre</b>	14
<b>Procedimiento para la colección de la muestra de heces</b>	17
<b>Procedimiento para la colección de la muestra de exudados</b>	18
<b>Procedimiento para la colección de la muestra de orina</b>	20
<b>Procedimiento para la colección de la muestra de órganos</b>	21
<b>Procedimiento para la colección de muestras para el análisis micológico</b>	22
<b>Cantidad de muestra en general para enviar al laboratorio de Bacteriología</b>	23
<b>Procedimientos para el análisis bacteriológico de muestras de leche, órganos, exudados y heces de importancia veterinaria</b>	24
<b>Procedimiento para el análisis bacteriológico de leche</b>	25
<b>Procedimiento para el análisis bacteriológico de exudados</b>	30
<b>Procedimiento para el análisis bacteriológico de órgano</b>	34
<b>Procedimiento para el análisis bacteriológico de heces</b>	38
<b>Susceptibilidad bacteriana a los agentes antimicrobianos</b>	41
<b>Bibliografía</b>	43
<b>Glosario</b>	44

COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE  
MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO  
BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE  
IMPORTANCIA VETERINARIA

---

## OBJETIVO

*Conocer los procesos para la colección, conservación y envío de muestras clínicas de sangre, leche, exudados, orina, órganos, pelo y escamas para el diagnóstico bacteriológico y micológico.*

---

# PRÓLOGO

El objetivo de esta obra es para que el alumno conozca el proceso de selección, recolección, conservación y envío de muestras para el análisis bacteriológico de importancia veterinaria, tiene el propósito de servir como guía de consulta rápida y objetiva para estudiantes que cursan la materia de bacteriología y micología veterinarias del ciclo básico y de la materia temas selectos de bacteriología diagnóstica de los animales domésticos del ciclo profesionalizante.

El alumno obtendrá el conocimiento para seleccionar eficientemente la muestra indicada de la infección que afecta al animal, comprenderá la pertinencia de conservar y enviar la muestra al laboratorio de diagnóstico, para que, junto con toda la información necesaria, el laboratorista realice un diagnóstico de calidad y así poder emitir un resultado confiable con la identificación del agente etiológico involucrado. En este mismo proceso el alumno conocerá el manejo adecuado de los residuos generados, con el fin de implementar prácticas seguras y fomentar el cuidado medio ambiental.

Además de la descripción sobre la selección, recolección y envío de muestras, se incluyen procedimientos generales del diagnóstico bacteriológico de algunas enfermedades bacterianas que afectan a los rumiantes, para lo cual se muestran los procesos de observación, aislamiento e identificación del agente etiológico.

Con este material didáctico el alumno desarrollará las habilidades y las destrezas en la práctica veterinaria, fortalecerá el aprendizaje y propiciará la salud y bienestar animal.

# BIENESTAR ANIMAL

“El bienestar animal es un tema complejo con múltiples dimensiones científicas, éticas, económicas, culturales, sociales, religiosas y políticas. La OIE (Organización Mundial de sanidad animal) elaboró la estrategia mundial de bienestar animal en el 2017 con el objetivo de lograr “un mundo en el que el bienestar de los animales se respete, promueva y avance, de manera que complemente la búsqueda de la sanidad animal, el bienestar humano, el desarrollo socioeconómico y la sostenibilidad del medio ambiente”. Uno de los pilares de la estrategia es el refuerzo de la competencia y la educación en la que respalda la inclusión del bienestar animal en el plan de estudios de veterinarios para profesionales de veterinaria, estudiantes de producción pecuaria y en las escuelas.

El término bienestar animal designa el estado físico y mental de un animal en relación con las condiciones en las que vive y muere. **Art. 7.1.1 OIE 2021.**

Un buen bienestar animal requiere prevenir enfermedades, cuidados veterinarios apropiados, refugio, manejo y nutrición, un entorno estimulante y seguro, una manipulación correcta y el sacrificio o matanza de manera humanitaria. Mientras que el concepto de bienestar animal se refiere al estado del animal, el tratamiento que recibe se designa con otros términos como cuidado de los animales, cría de animales o trato compasivo.

Que las «cinco libertades» mundialmente reconocidas (vivir libre de hambre, de sed y de desnutrición, libre de temor y de angustia, libre de molestias físicas y térmicas, libre de dolor, de lesión y de enfermedad, y libre de manifestar un comportamiento natural) son pautas que deben regir el bienestar de los animales **Art. 7.1.2 OIE 2019.**

En el **art 7.1.5** considera los principios generales para el bienestar de los animales en los sistemas de producción, en el inciso 9 señala que, cuando no se puedan evitar procedimientos dolorosos, el dolor deberá manejarse en la medida en que los métodos disponibles lo permitan y el inciso 10 indica que el manejo de animales deberá promover una relación positiva entre los hombres y los animales y no causar heridas, pánico, miedo durable o estrés evitable, por lo que en el inciso 11 menciona que los propietarios y operarios cuidadores deberán contar con habilidades y conocimientos suficientes para garantizar que los animales se traten de acuerdo con estos principios”.

OIE.  
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE  
SANIDAD ANIMAL

PROTEGER A LOS ANIMALES  
PARA PRESERVAR NUESTRO  
FUTURO

[HTTPS://WWW.OIE.INT/ES/](https://www.oie.int/es/)



# BIOSEGURIDAD

Bioseguridad se define como el conjunto de lineamientos, medidas y acciones de prevención, control, mitigación y erradicación de impactos y repercusiones adversas para la salud y el ambiente, asociadas a factores biológicos que se derivan de actividades o productos de la biotecnología, docencia, diagnóstico, servicios hospitalarios (medicina humana y veterinaria), industria farmacéutica, producción de biológicos, así como de explotaciones pecuarias, con la finalidad de proteger tanto la salud humana y animal como el medioambiente, de agentes que son potencialmente nocivos mediante la higiene, la desinfección, la inmunización, el empleo de equipo de protección personal, el control de plagas, el uso adecuado del equipo de trabajo y el manejo de residuos peligrosos, entre otros.

Para la recolección de material biológico, las personas que tomen las muestras deben de protegerse con botas, overol, guantes y careta de protección. Durante el manejo considerar el bienestar animal y la integridad de las persona que tomará la muestra. Los residuos que se generen deben de eliminarse en recipientes indicados, tanto por la protección de los animales, como de las personas y del medio ambiente.

COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE  
MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO  
BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE  
IMPORTANCIA VETERINARIA

---

MANEJO  
DE  
RESIDUOS

---

UNAM



Todos los materiales utilizados durante el proceso de colección de muestras en los animales, tendrán un manejo especial para su posterior eliminación y así evitar la contaminación del medio ambiente.

## MATERIAL PUNZOCORTANTE

Las agujas, hojas de bisturí, tubos de vidrio rotos, se depositarán en contenedores rígidos especiales para este tipo de material.



## MATERIALES



Como las jeringas desechables, guantes, cofia, cubrebocas, delantal u overol desechables; gasas, algodón potencialmente infecciosos se desechan en bolsas rojas, sin sobrepasar las tres cuartas partes, como residuos infecciosos.

Los contenedores que almacenan los residuos potencialmente infecciosos, deben estar adecuadamente identificados para su desecho como Residuos Peligrosos Biológicos Infecciosos (RPBI), respetando las normas nacionales e internacionales orientadas a minimizar los riesgos ambientales, sanitarios y ocupacionales.

Se tendrá cuidado de desinfectar con sustancias químicas todo el equipo de contención utilizado incluidos, instrumentos, vestimenta y botas, respetando tiempos según el desinfectante utilizado. El overol se debe de guardar en una bolsa de plástico para su desinfección y lavado; estas recomendaciones se deben realizar antes de salir de la instalación pecuaria.



## IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

El registro de la muestra inicia primordialmente con la identificación del animal. Este punto es muy importante para garantizar la rastreabilidad al final del proceso. Los datos del animal se deben anotar en el rótulo del frasco o bolsa hermética o tubo con medio de transporte, según el caso. Es importante que los datos de identificación de la muestra coincidan con la información de la solicitud de servicio de diagnóstico, para un mejor control de la muestra en el laboratorio.

### LOS SIGUIENTES PUNTOS A CONSIDERAR SON:



#### Información general

- Nombre, dirección, teléfono y correo electrónico del propietario.
- Nombre, dirección, teléfono y correo electrónico del Médico Veterinario.
- Nombre, ubicación y dirección de la instalación pecuaria.



#### Información del paciente

- Especie.
- Raza.
- Sexo.
- Identificación.
- Número de animales en la granja o sistema de producción pecuario.



#### Información de la muestra

- Tipo de muestra.
- Fecha.
- Hora.
- Método de conservación.
- Diagnóstico presuntivo.

La muestra debe incluir: historia clínica, signos y síntomas, fecha de inicio de la enfermedad, tratamiento realizado con antimicrobianos, vacunas aplicadas, morbilidad y mortalidad. Si el animal murió, señalar las lesiones macroscópicas encontradas en el estudio post mortem.

### ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN

Identificación del animal.  
Propietario.  
Instalación pecuaria.  
Dirección, teléfono, correo electrónico.



## CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE LAS MUESTRAS

El procedimiento para el embalaje y envío terrestre está regulado por las normas nacionales e internacionales. Se debe tener sumo cuidado en el empaquetado de la muestra, ésta debe estar en recipientes herméticos que no sean susceptibles de romperse o mojarse, con el fin de evitar riesgos de contaminación del exterior por un derrame del producto, lo que ocasionaría un riesgo biológico.

El material biológico debe de enviarse en contenedores resistentes y con suficientes congelantes para la viabilidad de la muestra, por lo que se debe considerar el tiempo de traslado para mantener la muestra refrigerada 4-8 °C y en buenas condiciones.

### **Material biológico para el diagnóstico bacteriológico deben estar perfectamente bien identificado:**



- Especie.
- Raza.
- Sexo.
- Identificación.
- Número de animales.
  
- Tipo de muestra.
- Fecha.
- Hora.
- Método de conservación.
- Diagnóstico presuntivo.

COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE  
MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO  
BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE  
IMPORTANCIA VETERINARIA

—  
PARA LA  
COLECCIÓN DE  
MUESTRAS  
—

UNAM



## GENERALIDADES COLECCIÓN DE MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO



La selección, recolección y envío de la muestra, deberá ser tomada por un profesional de la salud, considerando siempre la pertinencia del estudio para el diagnóstico del microorganismo sospechoso.

En la recolección de la muestra, evitar en lo medida de lo posible que exista contaminación de bacterias medio ambientales o de la microbiota del animal. El obtener una muestra de calidad, permite al laboratorista realizar un diagnóstico bacteriano eficiente para la emisión del resultado del agente etiológico. Es importante que el paciente no esté en tratamiento de antimicrobianos, porque le agrega valor óptimo a la muestra y al diagnóstico.



Para que el diagnóstico sea confiable, los órganos se deben de obtener de animales que presentaron sintomatología y fueron sacrificados por el médico veterinario; o de animales muertos, y que no hayan transcurrido más de tres horas de su deceso. Todos los órganos y fluidos recolectados deben de enviarse en refrigeración.



## MUESTRA DE LECHE

La mastitis es una infección de la glándula mamaria, y clínicamente se observa inflamación y baja producción láctea; la forma subclínica muestra elevado número de células somáticas y no presenta signos clínicos. Los agentes etiológicos patógenos primarios asociados en la mastitis bovina son: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma* spp. Algunos de los agentes medio ambientales que podemos encontrar son: Coliformes, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*.

En las cabras los agentes son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* cogulasa negativos, *Mycoplasma* spp, *Nocardia asteroides*, *Pseudomonas* spp, coliformes y levaduras, entre otros.

En los ovinos algunas de las bacterias asociadas son *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma* spp, etc.

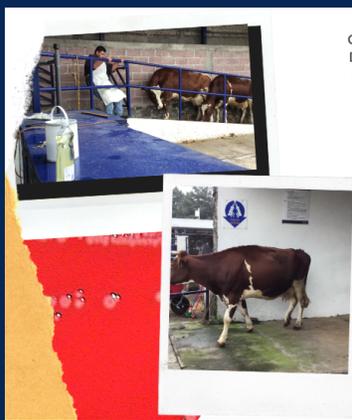


Para la toma de muestra de leche es fundamental la contención del animal, de forma apropiada para evitar ocasionarle estrés al animal y prevenir daño en el manejador.

El uso de guantes es **indispensable** para coleccionar la muestra de leche, para la protección del estudiante, del médico veterinario y del trabajador, evitando una posible infección causada por un microorganismo.

## VIDEO

[https://www.youtube.com/watch?v=\\_qom00gFqc8](https://www.youtube.com/watch?v=_qom00gFqc8)



COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE IMPORTANCIA VETERINARIA

UnAm La Universidad de la Nación

**Toma de muestra de leche**

PROYECTO PAPIME PE205219

DRA ROSA ELENA MIRANDA MORALES

**CEPIPSA**

# Procedimiento

El primer paso es lavar el pezón con agua limpia, enseguida sumergir el pezón en el recipiente que contiene un antiséptico compuesto de ácido láctico en espuma, después de 10 segundos, limpiar perfectamente con una toalla de papel, para eliminar bacterias presentes en la piel y evitar una posible contaminación.

Para la toma de la muestra se desinfecta el pezón con un algodón impregnado con alcohol al 70% partiendo del esfínter hacia arriba, limpiar el pezón utilizando las diferentes caras del algodón.

Antes de recoger la muestra, se desechan los primeros dos o tres chorros de leche, con los dedos pulgar e índice cerrar la base del pezón y de manera simultánea apretar con el resto de los dedos la cisterna del pezón lo cual provocará la salida de la leche, dejar de presionar para permitir el llenado y posteriormente presionar nuevamente para dejar salir la leche. Depositar los chorros de leche en el tazón de fondo oscuro para observar la presencia de grumos o tolondrones.

Posteriormente, abrir el recipiente estéril, impedir que se contamine con polvo, y evitar introducir por error los dedos en el vaso colector; ordeñar el pezón y depositar la leche en el envase y evitar el contacto del pezón con el interior; cerrar con tapa hermética para evitar derrames. Tomar la cantidad indicada 10 ml (bovino), 5 ml (caprinos y ovinos).

## Sellar

Poner el sellador en el pezón, sumergiendo el pezón para permitir que la solución entre al esfínter, con ello se evita el ingreso de bacterias presentes de la piel y del medio ambiente.

## Identificar

La muestra de leche se debe identificar con el número del animal en el arete, indicar la posición del pezón en la glándula mamaria, anterior o posterior, derecho o izquierdo, para bovinos y pequeños rumiantes. Poner el nombre del propietario, dirección, teléfono y correo electrónico. La muestra de leche se debe conservar en refrigeración de 4 – 8 °C, para ello se debe guardar en un contenedor con refrigerantes hasta llegar al laboratorio.

## Residuos

Quitarse los guantes y depositarlos en un contenedor o bolsa para residuos, depositar ahí mismo el algodón y las toallas de papel utilizados para la limpieza del pezón, con el fin de evitar la contaminación del medio ambiente.

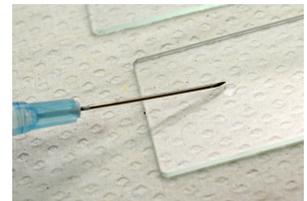




# LECHE

Material de ordeño necesario para la toma de la muestra de leche.

- Guantes.
- Antiséptico ácido láctico en espuma.
- Servilleta de papel.
- Tazón de fondo oscuro.
- Torundas de algodón impregnadas con alcohol 70%.
- Recipiente estéril con tapa de rosca.
- Etiqueta de identificación de la muestra.
- Hielera con refrigerante.
- Sellador.
- Contenedor o bolsa roja para eliminar residuos.





# MUESTRA DE SANGRE

Cuando se sospecha de una infección sistémica, es importante realizar la toma de muestra de sangre para diagnosticar el agente etiológico involucrado por medio de un cultivo bacteriológico; para ello es necesario obtener la sangre utilizando el sistema vacutainer con anticoagulante EDTA (etilén diamino tetra-acético), citrato de sodio o heparina.

La muestra de sangre es útil también para realizar pruebas serológicas, es necesario separar el suero para determinar la presencia de anticuerpos y conocer el status de salud de los animales. Se requiere el sistema vacutainer sin anticoagulante.

Las bacterias más frecuentemente asociadas a problemas sistémicos son *Listeria spp*, *Salmonella spp*, *Mycoplasma spp*, *Brucella spp*, entre otras.

La muestra de sangre se obtiene mediante venopunción de la manera más aséptica posible. Por lo que es importante considerar la bioseguridad, el bienestar animal y la seguridad de la persona para la colección de la sangre.



**Bioseguridad.** Es importante usar guantes para evitar contaminar la muestra y para la protección del estudiante, del MVZ y del trabajador con el fin de no infectarse.

Selección del vaso sanguíneo según la especie animal: yugular, coccígea o caudal, mamaria, radial, etc.

En los rumiantes se utiliza frecuentemente la vena yugular, inicialmente se debe localizar el vaso sanguíneo en el cuello, señalando con los dedos su ubicación. Presionar con los dedos el vaso para permitir el llenado y vaciado, realizarlo por lo menos en dos ocasiones.

## VIDEO

<https://www.youtube.com/watch?v=JUuRv5gqKyM>

## VIDEO

<https://www.youtube.com/watch?v=wwEJqfGblco>



# Procedimiento

## Desinfección

Desinfectar con un algodón impregnado con alcohol al 70% la zona donde está localizada la vena, girando el algodón para utilizar la otra cara limpia.

Presionar nuevamente la vena para permitir el llenado de sangre, poner la aguja con bisel, con una inclinación de 45° con respecto al vaso, presionar para que cruce la piel y llegue a la vena. Cuando considere estar en la vena realizar presión del tubo vacutainer para permitir que la otra parte de la aguja, que está incluida en el adaptador, perfora el tapón del tubo. Observará que se llena el tubo poco a poco con sangre, permitir el llenado hasta que se lo permita el vacío del tubo.

Retirar el tubo vacutainer, con cuidado sin sacar la aguja de la vena, quizás quiera obtener otro tubo de sangre, posteriormente retirar la aguja del vaso sanguíneo, realizar presión del vaso con los dedos pulgar e índice para la hemostasis y observar que no haya sangrado. Limpiar la zona con otro algodón limpio si considera necesario.

Cuando la sangre se obtiene con anticoagulante se debe mezclar bien y con mucho cuidado moviendo el tubo suavemente por agitación. El tubo de sangre sin anticoagulante se debe inclinar un poco, permitir la coagulación a temperatura ambiente y la separación del suero, después de que se contraiga el coágulo eliminarlo con una varilla estéril y decantar el suero en un tubo estéril, puede centrifugar a 1000 g durante 10-15 minutos para que quede más limpio el suero.

## Identificar

La muestra de sangre se debe identificar con el número del animal indicado en el arete, señalar si la sangre es completa o es para obtener el suero. Anotar el nombre del propietario, dirección, teléfono/correo electrónico. Conservar en refrigeración de 4 – 8 °C, y guardar en una nevera con refrigerantes hasta llegar al laboratorio.

Eliminar la aguja en un contenedor de residuos punzocortantes, el algodón y los guantes depositarlos en un contenedor o bolsa para residuos peligrosos.

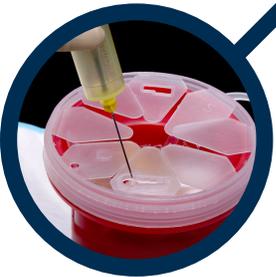
## Observaciones

El problema más frecuente que se presenta en este muestreo es la hemólisis que se produce por la ruptura de los glóbulos rojos, esto sucede por el uso de tubos o agujas húmedas, envases no apropiados, presencia de residuos de detergentes, exposición directa a los rayos solares, almacenamiento a temperaturas no adecuadas. No se debe congelar los sueros con coágulo, solo se congela el suero cuando está limpio sin coágulo.



# SANGRE

Material necesario para la toma de la muestra de sangre.



- Algodón impregnado con alcohol al 70% para eliminar contaminantes en la piel.
- Alcohol al 70% servirá para desinfectar los guantes.
- Toallas de papel.
- Aguja, de diferente calibre según la especie que se le realizará la sangría (ovinos, caprinos y bovinos).
- Tubo de vacutainer con anticoagulante (EDTA, heparina) para realizar análisis bacteriológico.
- Tubo vacutainer sin anticoagulante (tapón rojo) para separar el suero y realizar pruebas serológicas .
- Adaptador (Camisa, Holder).
- Contenedor para depositar los residuos punzocortantes, aliminar agujas y bolsa roja que contiene algodón y guantes, entre otros residuos.
- Hielera con congelantes para conservar la muestra en refrigeración.
- Sistema vacutainer. Contiene un adaptador (camisa, holder), la aguja y el tubo al vacío con o sin anticoagulante. Sistema útil que facilita la venopunción, que por ser un sistema cerrado garantiza una mejor asepsia y la preservación de las muestras.

## VACUTAINER CÓDIGO DE COLORES

COLOR	CONTIENE	UTILIDAD
ROJO	SIN ADITIVO	SEROLOGÍA
AMARILLO	GEL SEPARADOR	DETERMINACIÓN DE SUERO
AZUL	CITRATO DE SODIO	ANÁLISIS DE SANGRE BACTERIOLOGÍA
LILA	EDTA K	ANÁLISIS DE SANGRE BACTERIOLOGÍA
VERDE	HEPARINA DE SODIO	QUÍMICA SANGUÍNEA y BACTERIOLOGÍA
GRIS	EDTA OXALATO DE POTASIO	DETERMINACION GLUCOSA

## MEDIDAS DE AGUJA

COLOR	DESCRIPCIÓN
Amarilla	Para toma múltiple 20 G 35 ml
Verde	Para toma múltiple 21 G 25 ml



## MUESTRA DE HECES

Las muestras fecales deben ser recolectadas directamente del recto, se debe de evitar coleccionar muestras expuestas al medio ambiente debido al alto riesgo de contaminación.

En ruminantes como los bovinos, la colección de heces se realiza con guantes de palpación. Humedecer el guante con agua, levantar la cola tocar con los dedos en el recto, en el momento que el animal relaja el esfínter se desliza la mano hasta el brazo, tomar la muestra y retirar la mano poco a poco y cuando haya salido, voltear el guante de palpación para que las heces queden contenidas en el mismo. En ovinos y caprinos con el guante de palpación humedecido, se introducen el dedo índice para obtener la muestra de heces. Voltear el guante para que las heces queden contenidas.

Un método alternativo y a menudo preferible en animales pequeños, delicados o en aves, el uso de hisopos pequeños para tomar muestras del recto (o cloaca), procurando arrastrar la superficie mucosa con cuidado para evitar lastimarlos; colocar el hisopo en el medio de transporte de Stuart o Cary Blair.

### Identificar las muestras con los datos del animal.

Se envían las muestras contenidas en los guantes de palpación, o en un recipiente hermético o en el medio de transporte de Stuart o Cary Blair. Se conservan y transportan en refrigeración a 4 - 8 °C.



## HECES

Material necesario para la toma de la muestra de heces.

- Guante de palpación.
- Recipiente con tapa de rosca estéril.
- Hisopo estéril.
- Medio de transporte de Stuart o Cary Blair.
- Agua.
- Contenedor con refrigerante.

## VIDEO



<https://www.youtube.com/watch?v=0igHiifxSg>

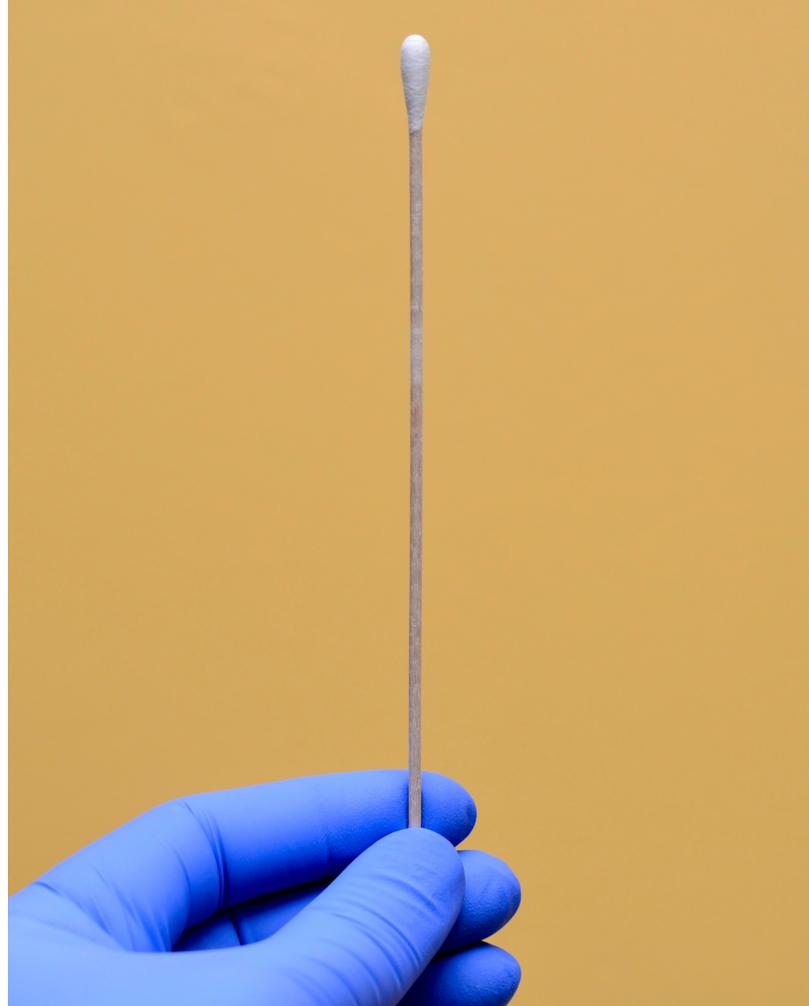




## MUESTRA DE EXUDADOS

La importancia de realizar la toma de muestra de exudado es con el fin aislar el agente etiológico en un cultivo bacteriano, el exudado se puede coleccionar cuando se sospecha de una infección respiratoria, reproductiva o de infecciones locales como ocular, articular, piel, abscesos, etc.. Las bacterias más frecuentemente asociadas a problemas respiratorios: *Pasteurella multocida*, *Manheimia haemolytica*, *Histophilus somni*, problemas vaginales: *Brucella spp*, *Leptospira spp*, *Campylobacter spp*, *Candida albicans*, abscesos: *Corynebacterium spp*, *Staphylococcus spp*, conjuntivitis: *Moraxella spp*, *Mycoplasma spp*, *Chlamydia spp*, artritis: *Mycoplasma spp*, *Corynebacterium spp*, etc.

Para la colección de los exudados se debe utilizar guantes evitando contaminar la muestra y con el fin de proteger a la persona que tomará la muestra.



Según el tipo de infección es como se tomará el exudado. Exudado respiratorio, vaginal, conjuntival, absceso abierto, la muestra se coleccionará con un hisopo estéril girar el hisopo en la mucosa que corresponde para arrastrar células y bacterias presentes, depositar en el medio de transporte de Stuart o Amies para que se conserven las bacterias y evitar la deshidratación. Cortar el aplicador excedente del hisopo y cerrar el tubo herméticamente con la tapa de rosca. Conservar y transportar en refrigeración a 4 - 8 °C.

# EXUDADOS

**Exudados en absceso cerrado con contenido articular:** para coleccionar la muestra se debe realizar una desinfección de la piel con un algodón impregnado con alcohol al 70%.

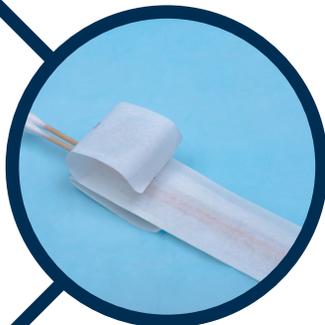
- Con una jeringa estéril, introducir la aguja en el absceso y coleccionar el contenido, permitir el llenado con la cantidad necesaria de la muestra para el análisis bacteriológico.
- Retirar la jeringa, después limpiar la zona con otro algodón limpio.
- La jeringa sirve para conservar y transportar la muestra en refrigeración a 4 - 8°C.

**Lavado endotraqueal, secreción vaginal y semen:** estas muestras se deben coleccionar en un recipiente estéril, conservar y transportar en refrigeración.

- Identificar la muestra con el número del arete del animal.
- Quitarse los guantes y depositarlos junto con el algodón en un contenedor o bolsa para residuos.

## EXUDADOS

Material necesario para la toma de la muestra de exudado.



- Guantes.
- Algodón impregnado con alcohol al 70%.
- Agua para lavar.
- Hisopo estéril.
- Medio de transporte Stuart, Amies o Cary Blair.
- Recipiente estéril.
- Contenedor para eliminar residuos .
- Contenedor con congelantes para refrigerar la muestra.



## MUESTRA DE ORINA

La recolección de la muestra de orina es con el fin de demostrar la presencia del agente etiológico mediante un cultivo bacteriano, cuando se sospecha de una infección urinaria. En la orina se puede observar microscópicamente a la bacteria en la muestra directa. Las bacterias más frecuentemente asociadas a problemas urinarios: *Leptospira* spp, *Corynebacterium renale*, *Corynebacterium* spp, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, etc.

La muestra de orina se puede obtener en el momento de la micción espontánea, de la micción inducida, por punción vesical, o mediante cateterismo uretral en hembras. La muestra por micción se recomienda recolectar el chorro medio de la orina con un recipiente estéril con tapa de rosca. Para coleccionar la muestra en chorro medio, permitir una micción inicial y posteriormente tomar la orina.

Antes de la recolección, es importante utilizar guantes para la protección de la muestra y protección de la persona que interviene en el procedimiento. Higienizar la región de la vulva o prepucio con agua y jabón, enjuagar y secar con una toalla de papel absorbente. Para la punción vesical desinfectar el área con el antiséptico y con una jeringa estéril obtener la muestra de orina.



## ORINA

Material necesario para la toma de la muestra de orina.

- Toalla de papel.
- Agua para lavar la zona externa.
- Jabón para lavar la zona.
- Alcohol al 70% servirá para desinfectar la piel para la toma de muestra.
- Contenedor para eliminar residuos.
- Contenedor con congelantes para conservar la muestra en refrigeración.

# TOMA DE MUESTRA EN ESTUDIO POSMORTEM

La recolección de muestras de un estudio *post mortem* se realizará antes de las tres horas de haber ocurrido el deceso, esto con el fin de realizar un análisis bacteriológico confiable, debido a la migración bacteriana de la microbiota enmascararía el agente etiológico responsable de la enfermedad. Las bacterias que se pueden identificar son: *Pasteurella multocida*, *Manheimia haemolytica*, *Brucella* spp, *Leptospira* spp, *Salmonella* spp, *Mycoplasma* spp, *Mycobacterium* spp, *Listeria monocytogenes*, *Actinobacillus* spp, *Hystophilus* spp, *Avibacterium* spp, *Chlamydia* spp, etc.

**Bioseguridad.** La persona que realizará la necropsia portará una vestimenta apropiada por su propia seguridad (traje de protección lavable, guantes, botas de goma, mascarilla y gafas para protección de los ojos. Para evitar alguna infección de tipo zoonótica.

Realizar la necropsia y extraer los fragmentos con tijera o bisturí y pinza estériles, evitando dañar el tejido al hacerlo. Elegir una porción de 4 x 4 cm del órgano con lesión, y si no hubiera lesión, recolectar aleatoriamente en diferentes sitios del órgano. Seleccionar la porción del intestino delgado con contenido, ligar y cortar. Extraer los linfonodos linfáticos regionales. Depositar los órganos de forma independiente en bolsas de plástico selladas o en recipientes estériles de boca ancha. En el caso de exudados se coleccionarán con hisopo estéril y depositarlos en el medio de transporte de Stuart o Amies. Para la orina se colecta de la vejiga con una jeringa estéril.

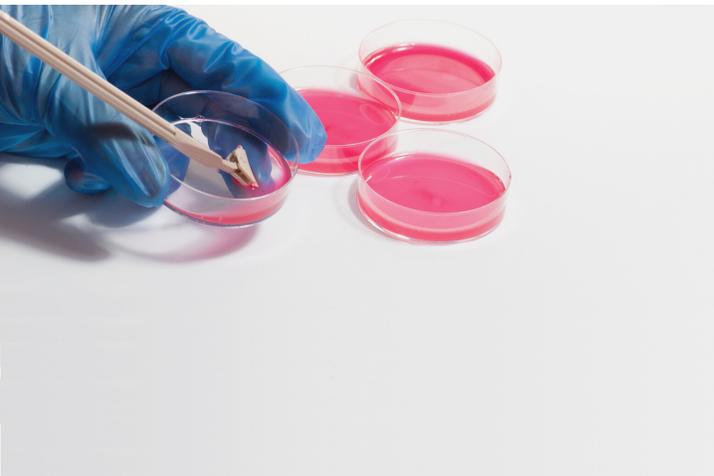


**Identificación.** Los recipientes y bolsas de plástico, jeringas, hisopos con medio de Stuart u otro medio especial, deben etiquetarse perfectamente con la fecha y la identificación del tejido y del animal. Conservar y enviar en refrigeración en un contenedor a 4 -8 °C.

VIDEO 

[https://www.youtube.com/watch?v=m-AWnRxxv7pY&list=PLa2DG4T4DHk-sW\\_U9f8N-NWDsxFMM9kh3](https://www.youtube.com/watch?v=m-AWnRxxv7pY&list=PLa2DG4T4DHk-sW_U9f8N-NWDsxFMM9kh3)





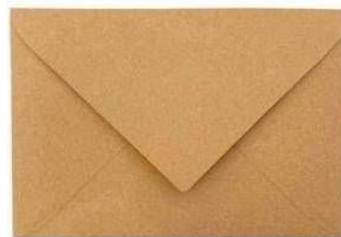
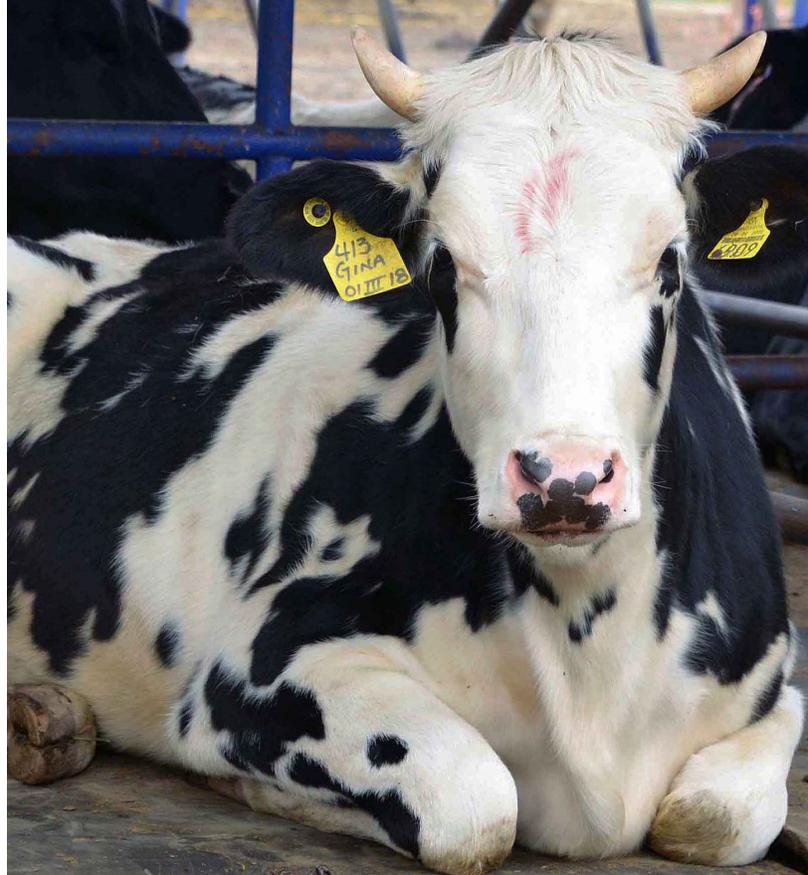
## MUESTRA PARA CULTIVO MICÓTICO

Las muestras para la identificación de infecciones micóticas, se realiza dependiendo del tipo de micosis.

**Micosis sistémica:** Tejidos y órganos (pulmón), conservar en bolsa hermética en refrigeración.

**Micosis superficiales:** Raspados cutáneos del borde de una lesión activa y pelo depilado son las muestras indicadas para aislamiento de dermatofitos. Enviarlo en un sobre de papel o recipiente limpio a temperatura de medio ambiente.

**Observación:** No enviar la muestra en un medio de cultivo porque proliferan los hongos contaminantes.



## CULTIVO MICÓTICO

Material necesario para la toma de la muestra de hongos.

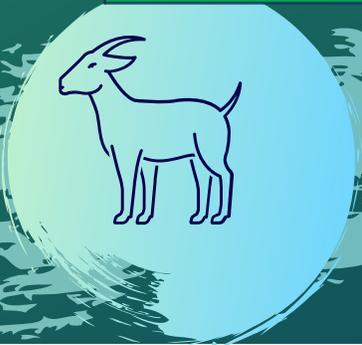
- Guantes.
- Pinzas para depilar.
- Hoja de bisturí.
- Sobre de papel.

**Identificación:** Número del animal, tipo de muestra y nombre del propietario.



## CONDICIONES Y CANTIDADES DE MUESTRA PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO

Muestra	Material	Cantidad	Temperatura
Leche	Recipiente estéril con tapa de rosca	5-10 ml	Refrigeración 4- 8 °C
Heces	Guantes o recipiente estéril	5 gr	Refrigeración 4- 8 °C
Sangre	Sistema vacutainer	5 ml	Temperatura medio ambiente si el coagulo no se ha retirado
Orina	Recipiente estéril, Jeringa estéril	5 ml	Refrigeración 4- 8 °C
Exudado	Hisopo estéril con tubo de Stuart o en recipiente estéril	1 ml	Refrigeración 4- 8 °C
Órganos	Bolsa de plástico estéril o recipiente estéril	4 cm por lado	Refrigeración 4- 8 °C
Raspado de piel y pelos	Raspado de piel y pelos	Sobre de papel	Temperatura medio ambiente



**COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE  
MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO  
BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE  
IMPORTANCIA VETERINARIA**

---

**PROCEDIMIENTOS PARA EL  
ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE  
MUESTRAS DE IMPORTANCIA  
VETERINARIA:  
LECHE, ÓRGANOS, EXUDADOS Y  
HECES**

---

**UNAM**



## PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE LECHE

1. Las muestras refrigeradas deben ser incubadas a 37°C por una hora con el fin de liberar los microorganismos atrapados en la grasa de la leche.
2. Homogenizar la muestra por medio de agitación.
3. Realizar dos frotis fijos, teñir cada uno con Gram y Ziehl-Neelsen respectivamente, observar a 100 x en el microscopio compuesto.
4. Inocular 3 asadas de la muestra de la leche, cada asada de 20 µl en la placa del medio de cultivo de agar sangre y agar MacConkey. A partir del inóculo realizar la estría cruzada para obtener un aislamiento de bacterias en cultivo puro, incubar a 37°C por 24 horas, permitir la incubación por 48 hrs, si no se observa desarrollo bacteriano.
5. De las colonias desarrolladas describe números relativos y morfología macroscópica.
6. Realizar un frotis fijo a partir de las colonias aisladas y teñir con la tinción de Gram, describir forma, agrupación y reacción a la tinción.
7. Realizar las pruebas de identificación necesarias para determinar el género y la especie.
8. Realizar un antibiograma para determinar la sensibilidad y resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas.
9. Emitir el resultado del o los agente (s) involucrados. Si es necesario emitir un comentario y/o recomendación.

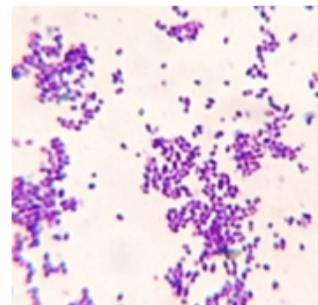


Metodología indicada por  
National Mastitis Council,  
USA.

**Agradecemos el material fotográfico a:  
Vannesa Yetsabe López Félix  
Gabriela Yesenia Zúñiga Osorio**

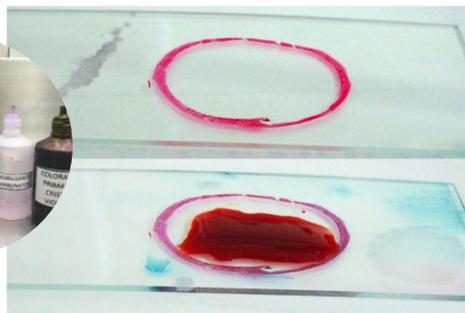
# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE LECHE

## Observación



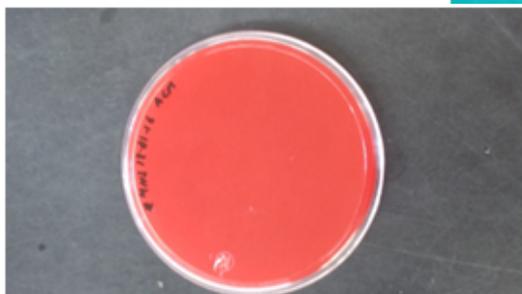
Reacción de la tinción  
Cocos gram positivos

Frotis directo

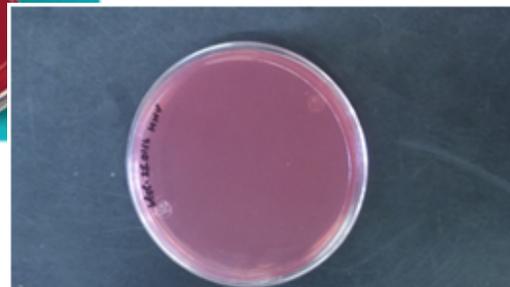


Tinción de Gram

## Aislamiento



Agar Sangre



Agar MacConkey

# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE LECHE

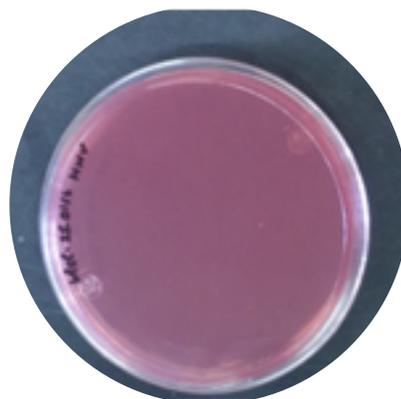


Incubación a 37° C

**Desarrollo de colonias bacterianas.  
Morfología colonial y números relativos**



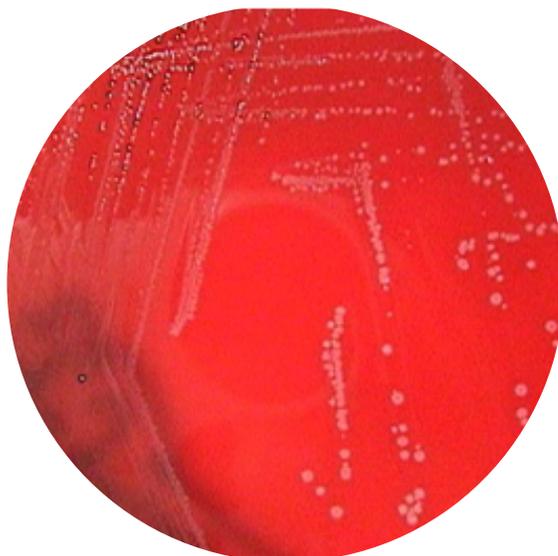
**Agar sangre. Desarrollo abundante, crecieron colonias en las cuatro estrías**



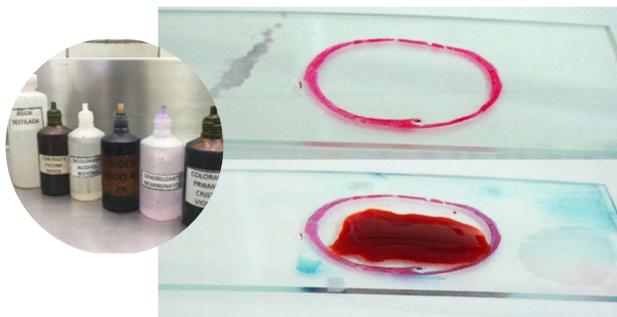
**Agar MacConkey. Sin desarrollo**



## PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE LECHE



**Morfología de colonias. Colonias convexas, brillantes, blanquecinas, hemolíticas, > 1 mm de diámetro, cantidad abundante**



**Tinción de Gram de las colonias bacterianas. Cocos grampositivos**

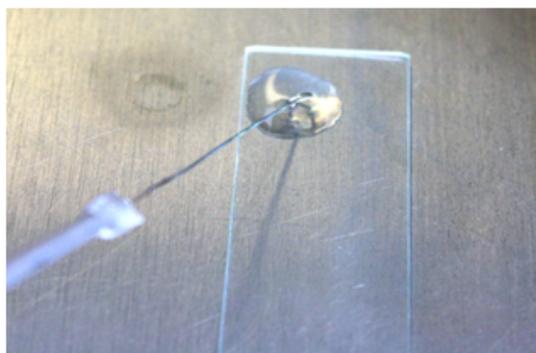
# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE LECHE

## Identificación

### Pruebas bioquímicas

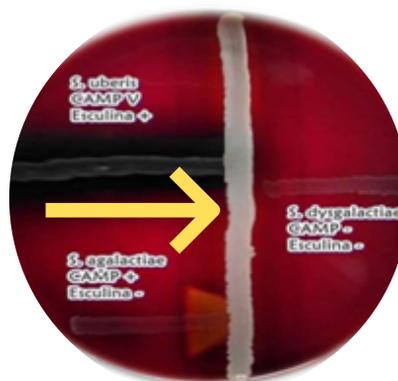
#### Prueba primaria

Catalasa: reacción negativa



#### Prueba secundaria

CAMP - esculina



*Staphylococcus aureus*  
beta hemolítico

Reacción: CAMP +, Esculina -

Género y especie	CAMP	ESCULINA
<i>Streptococcus agalactiae</i>	+	-
<i>Streptococcus uberis</i>	-	+
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	-	-

**Resultado. *Streptococcus agalactiae* en cantidad abundante.**



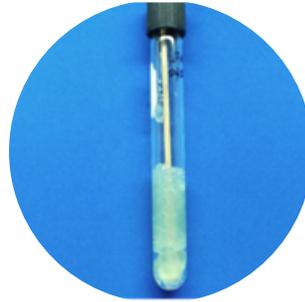
## PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE EXUDADOS

1. Cuando se recolecta la muestra de exudados es recomendable hacerlo con dos hisopos.
2. Con un hisopo inocular una primera estría en los medios de cultivo de agar sangre y de agar MacConkey, además realizar un frotis fijo.
3. Depositar el segundo hisopo en el caldo tioglicolato de manera aséptica, con una pinza estéril.
4. En las placas de agar con el asa estéril realizar la siembra de estría cruzada para obtener colonias aisladas.
5. Teñir el frotis fijo con la tinción de Gram, observar en 100 X la agrupación, reacción a la tinción y números relativos por campo visual.
6. Incubar el agar sangre, agar MacConkey y el caldo tioclicolato a 37°C por 24-48 horas.
7. De las colonias desarrolladas en los medios de cultivo, describir la morfología macroscópica y números relativos.
8. Observar el desarrollo bacteriano en el caldo tioglicolato y determinar el requerimiento de oxígeno.
9. Realizar frotis fijos a partir del caldo tioglicolato y de las colonias desarrolladas en el agar sangre y agar MacConkey, teñir con la tinción de Gram. Describir forma, agrupación y reacción tintorial. Comparando los resultados de ambos frotis.
10. Realizar las pruebas de identificación necesarias para determinar género y especie de las colonias desarrolladas en el agar sangre y en agar MacConkey.
11. Realizar un antibiograma para determinar la sensibilidad y resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas.
12. Emitir el resultado del o los agente (s) etiológico (s) involucrado. Si es necesario emitir un comentario y/o recomendación.

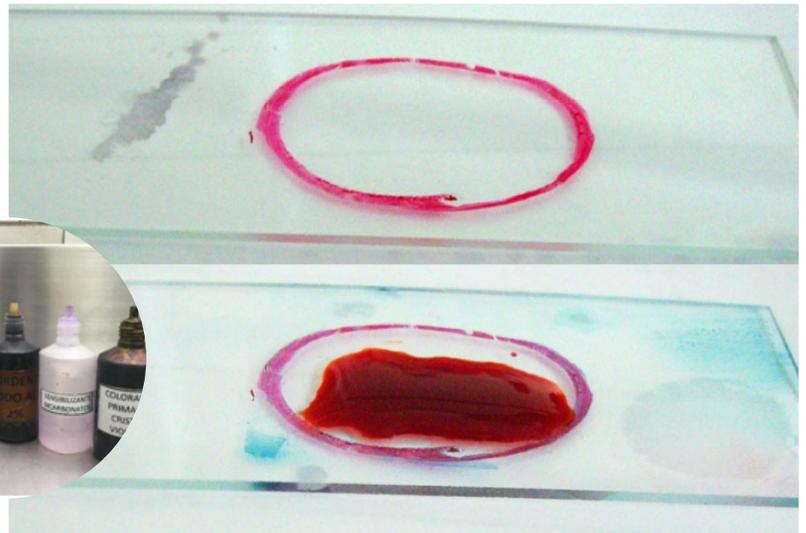
# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE EXUDADOS

## Observación

Muestra de hisopo con exudado



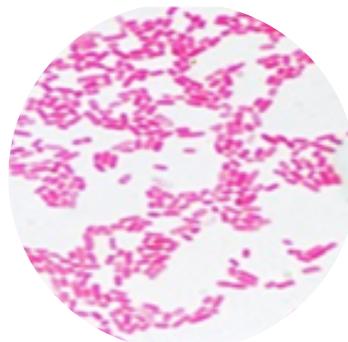
Frotis fijo con la muestra de exudado en el hisopo.



Tinción de Gram



Tinción de Gram: bacilos gramnegativos

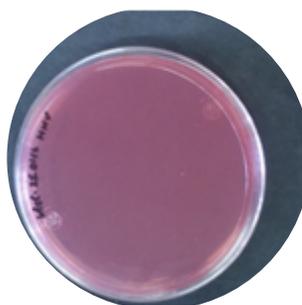


# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE EXUDADOS

## Aislamiento



Agar sangre

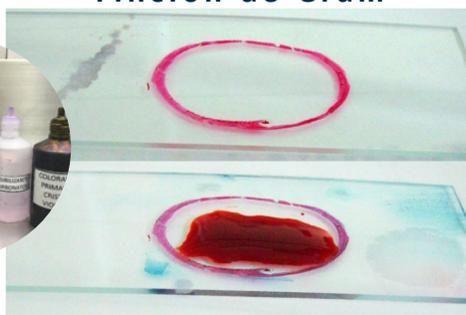


Agar MacConkey



Caldo tioglicolato

## Tinción de Gram



## Incubación a 37°C



## Morfología de colonias

### Desarrollo de colonias

Blancas, planas, > de 1 mm de diámetro, Hemólisis completa, Cantidad abundante.



Agar sangre

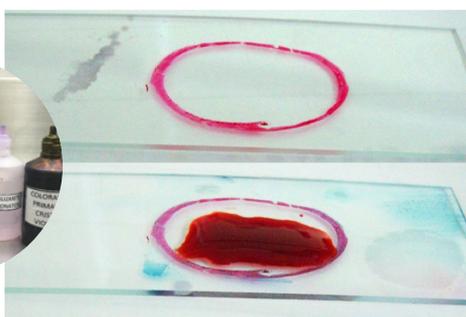


MacConkey  
Fermentadoras de la lactosa



TSA. Planas cremosas

# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE EXUDADOS



Tinción de Gram



Bacilos gram negativos

## Identificación

## Pruebas bioquímicas

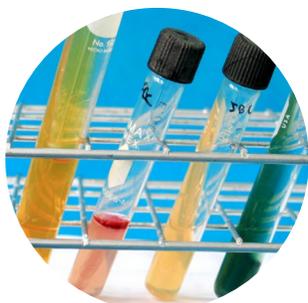


Prueba primaria. Oxidasa.  
Reacción negativa.



Urea, TSI, SIM, Citrato  
(sin inocular)

Incubación a 37°C



TSI. Fermentación, gas y no produce ácido sulfídrico  
SIM. ( -/+/- ) Negativo a la producción ácido sulfídric  
Indol positivo  
Motilidad negativa

Urea. Negativa  
Citrato. Negativo

**Resultado. *Klebsiella pneumoniae* en cantidad abundante**



## PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE ÓRGANO

1. Depositar la muestra (pulmón) en la caja de Petri, eliminar carga bacteriana de la superficie del órgano siguiendo cualquiera de los siguientes métodos:

- Tomar el órgano con unas pinzas y sumergirlo en un frasco con alcohol y pasarlo al fuego, permitir que se evapore el alcohol, poner el órgano en una caja de Petri estéril.
- Calentar una espátula hasta el rojo blanco y quemar toda la superficie del órgano.

2. Con instrumental previamente flameado, corta un trozo de la muestra a través de la superficie descontaminada. Con pinzas estériles toma el trozo de tejido por la parte externa y frota con la cara interna el primer cuadrante en la placa de agar sangre y en el agar MacConkey e introduce el trozo de órgano en el caldo tioglicolato (asegurar de que llegue al fondo del tubo con la ayuda del asa estéril o pipeta pasteur estéril).

3. Con otro trozo de órgano realizar un frotis fijo y teñir con la tinción de Gram, observar en el microscopio con el objetivo 100 X, forma, agrupación, reacción tintorial y números relativos de los microorganismos presentes.

4. Incubar los medios de cultivo y el tioglicolato a 37 °C durante 24-48 horas.

5. De las colonias aisladas en el agar sangre y en el agar MacConkey describir morfología macroscópica y números relativos por campo visual.

6. Realizar frotis fijos de las colonias desarrolladas en los medios de cultivo y del tioglicolato, teñir con la tinción de Gram. Describir forma, agrupación y reacción tintorial, compara los resultados de ambos frotis.

7. Según el desarrollo en caldo tioglicolato determinar los requerimientos de oxígeno de las bacterias.

8. Realizar las pruebas de identificación necesarias para determinar género y especie de las colonias que desarrollaron en agar sangre y en agar MacConkey.

9. Realizar un antibiograma para determinar la sensibilidad y resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas.

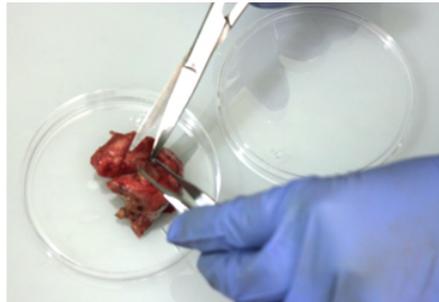
10. Emitir un resultado, si considera necesario escribir comentarios y/o recomendaciones.

# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE ÓRGANO

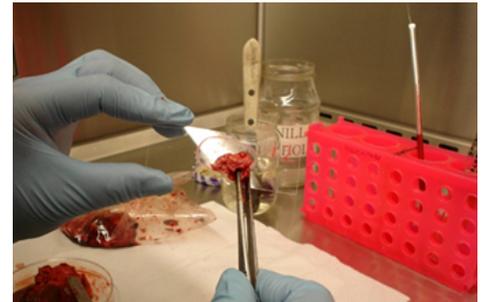
## Observación



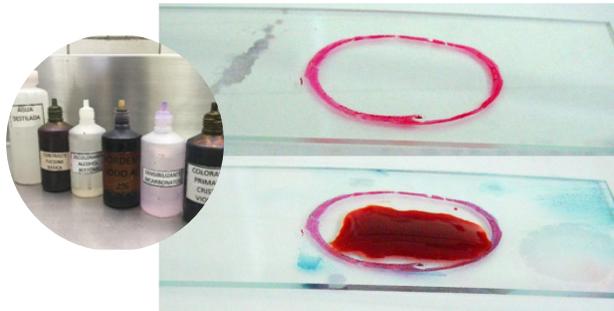
Quemar superficie del órgano



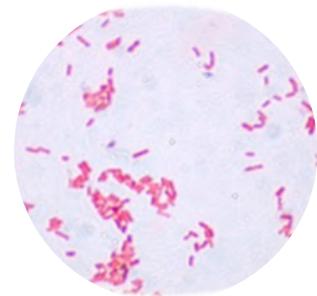
Tomar un trozo de tejido del centro del órgano



Preparación del Frotis fijo de la muestra de pulmón



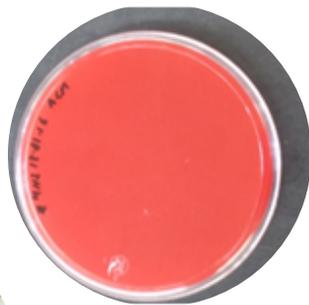
Tinción de Gram



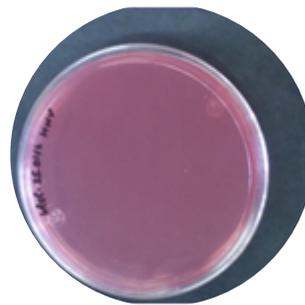
Frotis directo de la muestra. Bacilos cortos gramnegativos

# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE ÓRGANO

## Aislamiento



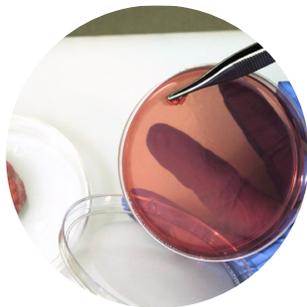
Agar sangre



Agar MacConkey



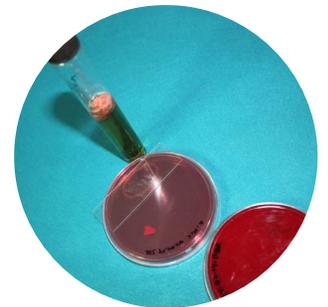
Caldo tioglicolato



Siembra en agar MacConkey



Siembra en agar sangre



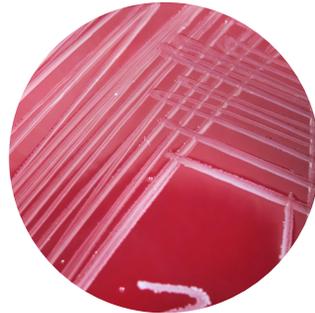
Medios de cultivo inoculados

## Incubación a 37°C

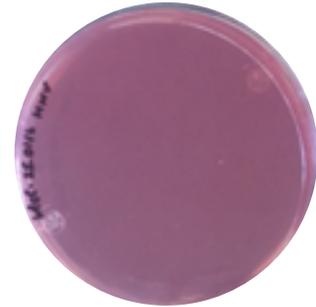


# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE ÓRGANO

## Identificación

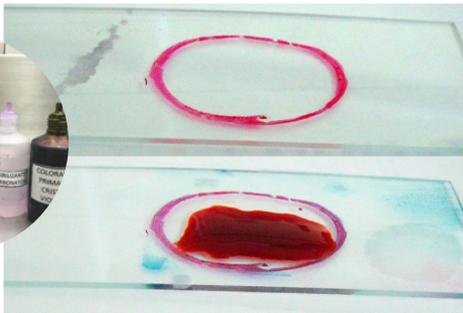


Colonias en agar sangre. Mucoides, lisas, Brillantes, > 1 mm de diámetro

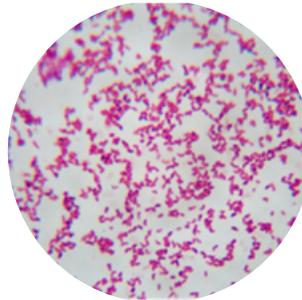


Sin desarrollo en MacConkey

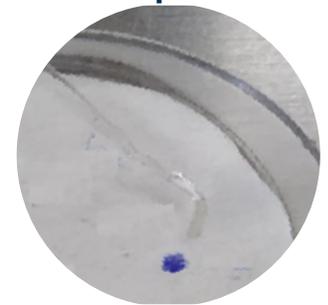
## Prueba primaria



Tinción de Gram



Bacilos cortos gramnegativos

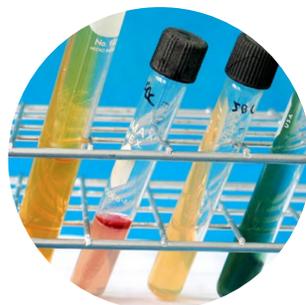


Oxidasa reacción positiva

## Pruebas bioquímicas secundarias



Pruebas bioquímicas sin inocular



TSI. Fermentación, gas y no producción de ácido sulfídrico.  
SIM. ( -/+/- ) Negativo a producción ácido sulfídrico, Indol positivo, Motilidad negativa. Urea y citrato negativo.

**Resultado: *Pasteurella multocida* cantidad abundante**



## PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE HECES

1. Realizar un frotis fijo a partir de la muestra de heces y teñir con la tinción de Gram, observar en el microscopio en el objetivo 100X. Debido a que las heces contienen microbiota el valor diagnóstico en la etapa de observación no es confiable, con ciertas excepciones.

2. Inocular con una asa bacteriológica la muestra en la placa de agar MacConkey y Verde brillante, realizar la técnica de estría cruzada para permitir el aislamiento de colonias bacterianas. Incubar a 37 °C por 24 horas.

3. Inocular un gramo de muestra de heces en el tubo con caldo selenito. Incubar a 37 °C durante 6-18 hrs y subcultivar en el medio de cultivo de verde brillante por estria cruzada. Incubar a 37 °C durante 24 horas.

4. Observar el desarrollo de colonias bacterianas en los medios de verde brillante y MacConkey. Describir la morfología de las colonias aisladas y números relativos.

5. Realizar un frotis fijo de las colonias aisladas y teñir con la tinción de Gram. Describir agrupación y reacción tintorial.

6. Realizar las pruebas bioquímicas necesarias para determinar el género y especie del microorganismo aislado.

7. Realizar un antibiograma para determinar la sensibilidad y resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas.

7. Emitir el resultado del diagnóstico realizado, si considera necesario señalar comentarios y/o recomendaciones.

# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE HECES

## Observación

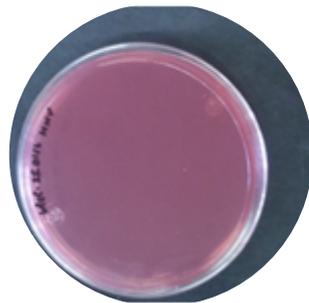


Frotis directo no es muy recomendable por la microbiota presente



Tinción de Gram

## Aislamiento



Agar MacConkey



Verde brillante



Caldo Selenito



Incubación a 37°C



**MacConkey**  
Colonias fermentadora de la lactosa  
Plana, brillante, bordes irregulares,  
> de 1 mm de diámetro,  
cantidad moderada  
(Desarrollo en dos estrías)



**Verde Brillante**  
Colonias: Plana, brillante, bordes  
irregulares,  
> de 1 mm de diámetro,  
cantidad moderada  
(Desarrollo en dos estrías)

# PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE HECES

## Identificación



Tinción de Gram



Bacilos Gram negativos



Pruebas bioquímicas.  
Prueba primaria. Oxidasa.  
Reacción negativa.



UREA, TSI, SIM, Citrato  
(Sin inocular)



Incubación a 37°C



TSI SIM CITRATO UREA

## Reacciones

TSI Fermentación, producción de gas,  
negativo ácido sulfídrico

SIM (-/+ /+) sulfídrico negativo, indol  
positivo, motilidad positiva

Citrato negativo

Urea negativo

**Resultado: *Escherichia coli*, cantidad moderada**

# SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA A LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

Las pruebas de susceptibilidad bacteriana por el método de difusión en agar son pruebas cualitativas en las que se utilizan discos de papel filtro impregnados de los diferentes antimicrobianos a concentraciones conocidas. Estos discos se colocan sobre la superficie de agar Mueller Hinton previamente inoculadas con la cepa problema. Después de la incubación se observan halos de inhibición del desarrollo bacteriano alrededor de los discos con quimioterapéuticos, a los cuales el microorganismo es susceptible. Por el contrario, si la bacteria es resistente hay crecimiento alrededor del disco.

Dentro de las pruebas de difusión en agar se encuentra el método de Bauer et al.\* , en el cual, además de estandarizarse el inóculo con el Nefelómetro de Macfarland al 0.5%, se toma en cuenta el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano para determinar el grado de susceptibilidad del microorganismo (resistente, intermedio o susceptible); por lo tanto, la lectura del diámetro de inhibición del crecimiento en milímetros debe interpretarse de acuerdo con una tabla de referencia.



*\*Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 1966, 45: 493.*

*NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacterial Isolated from Animals; Approved Standard -Second Edition. NCCLS document M31-A2 (ISBN 1-56238-461-9). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2002.*

COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE  
MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO  
BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE  
IMPORTANCIA VETERINARIA

---

# BIBLIOGRAFÍA

---

UNAM

# BIBLIOGRAFÍA

- Animal and Plant Health Inspection Service. Department of Agriculture(2020). ***Procedures for Collection and Submission of Specimens. National Veterinary Services Laboratories.*** Ames, Iowa, USA. *Recuperado de* <http://www.aphis.usda.gov/vs/nvsl/html/shipping.html>
- ***Manual de procedimientos técnicos del área de bacteriología y micología veterinarias.*** (2013). UNAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Subdirección Académica Área bacteriología y micología. *Recuperado de* [http://conevet.org.mx/appvisitas2013/public/uploads/18\\_9\\_11\\_\\_6.pdf](http://conevet.org.mx/appvisitas2013/public/uploads/18_9_11__6.pdf)
- ***Medios de transporte para microbiología.*** (2017). *Recuperado de* <https://mdmcientifica.com/medios-de-transporte-para-microbiologia/>
- Miranda M. (2013). ***Manual de temas selectos de bacteriología diagnóstica de los animales domésticos.*** UNAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (1995). ***Manual para el personal auxiliar de sanidad animal primaria.*** 2020. *Recuperado de* <http://www.fao.org/3/t0690s/t0690s00.htm>
- Organización Mundial de Sanidad Animal (s.f.). ***Manual de recolección, conservación y envío de muestras al laboratorio para diagnóstico de enfermedades comunes de los animales.*** OIE. 2021. *Recuperado de* [https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Animal\\_Health\\_in\\_the\\_World/docs/pdf/Self-declarations/Archives/Anexo\\_4\\_Manual\\_de\\_toma\\_y\\_remision\\_de\\_muestras.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Self-declarations/Archives/Anexo_4_Manual_de_toma_y_remision_de_muestras.pdf)
- Organización Mundial de Sanidad Animal (2020). ***Código Sanitario para los Animales Terrestres.*** *Recuperado de* <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/?id=169&L=2&htmfile=sommaire.htm>
- Prescott L. (1996). ***Microbiology.*** 3 ed. MacGraw Hill. USA.
- Quinn P. J., Carter M. E., Markey B., Carter G. R. (1994). ***Clinical Veterinary Microbiology.*** Wolfe Publishing. London. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1995.tb03032.x>
- Secretaria de Agricultura (2021). ***Manuales para la obtención y envío de muestras para el diagnóstico de las enfermedades programadas en la vigilancia epidemiológica.*** *Recuperado de* <https://www.gob.mx/senasica/documentos/manuales-para-la-obtencion-y-envio-de-muestras-para-el-diagnostico-de-las-enfermedades-programadas-en-la-vigilancia-epidemiologica-2019?state=published>

# Glosario

**Aislamiento:** Es la separación de un determinado microorganismo del resto de microorganismos asociados en una muestra, y se obtienen colonias aisladas en un medio de cultivo sólido.

**Anticoagulante:** Sustancia que inhibe la coagulación de la sangre.

**Bienestar animal:** Según las normas internacionales de la OIE, el bienestar animal designa *“el estado físico y mental de un animal en relación con las condiciones en las que vive y muere”*.

**Bioseguridad:** (seguridad biológica) La bioseguridad según la OMS (Organización Mundial de la Salud) es un conjunto de normas, medidas y protocolos que son aplicados en múltiples procedimientos realizados en investigaciones científicas y trabajos docentes con el objetivo de proteger la salud del personal, pacientes y al medio ambiente frente a riesgos biológicos químicos y físicos.

**Citrato:** Es un anticoagulante utilizado para la toma de plasma para pruebas de coagulación y de plaquetas.

**EDTA:** (ácido etilendiaminotetraacético) es un anticoagulante que conserva las células sanguíneas.

**Exudado:** Líquido extravasado por alteración de la permeabilidad vascular, rico en elementos del plasma sanguíneo. Fondo negro.

**Heparina:** Es un anticoagulante que demora la formación de coágulos de sangre .

**Identificación:** Son las técnicas y procedimientos que se aplican para establecer la identidad de un microorganismo.

**Mastitis:** Inflamación del tejido mamario.

**Muestra:** Es la toma de material de un sitio anatómico en donde se sospecha de una infección puede ser sangre, orina, piel u otra, para detectar bacterias utilizando un medio de cultivo.

**Observación:** La observación de bacterias se realiza con microscopía óptica, mediante la observación directa de microorganismos *“in vivo”* o con tratamiento de colorantes.

**OIE:** Oficina Internacional de Epizootias (Organización Mundial de Sanidad Animal) .

**Residuos peligrosos:** Es aquel residuo o desecho que por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables, infecciosas o radiactivas puede causar riesgo a la salud humana y el ambiente.

**RPBI:** Residuos peligrosos biológico infecciosos. Residuos que contiene bacterias, virus u otros organismos que pueden causar infección o producir toxinas con efectos nocivos a los seres vivos y al medio ambiente.

**Sellador:** Es una solución antiséptica que se aplica a los pezones después del ordeño, con el fin de reducir la propagación de patógenos infecciosos y ambientales en la glándula mamaria.

**Septicemia:** Enfermedad causada por la diseminación de bacterias y sus toxinas en el torrente sanguíneo.

**Serología:** Estudio químico y bioquímico en el suero sanguíneo (permite detectar la presencia de anticuerpos en la sangre).

**Sistema vacutainer:** El sistema consiste de un tubo de vidrio y plástico PET (polietileno ftalato) al vacío con un tapón de plástico blando, se utiliza para extraer sangre intravenosa al vacío.

**Suero:** El suero sanguíneo o suero hemático, es el componente de la sangre resultante después de permitir la coagulación y eliminar el coágulo resultante.

**Tolondrones:** Consiste en la detección de grumos en la leche (tolondrón) durante la preparación de la vaca para la ordeña.



UNAM La Universidad  
de la Nación

COLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE  
MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO  
BACTERIOLÓGICO Y MICOLÓGICO DE  
IMPORTANCIA VETERINARIA.

## Editada por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Se terminó el 20 de octubre de 2021.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
Avenida Universidad 3000, Ciudad Universitaria,  
Coyoacán, 04510, México, Ciudad de México.

Formación y composición tipográfica  
en tipo PT Sans, Ruda Black, Glacial.

Medio electrónico: internet  
Formato: PDF  
Tamaño: 103,452 KB

### Cuidado de le edición:

Dra. Rosa Elena Miranda Morales.  
Lic. Emma Lucía Serrano Sánchez.



PROYECTO PAPIME PE205219





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



UNAM La Universidad de la Nación



26.05.21



UNAM

