Infección de ratones por *Salmonella typhimurium* y *Citrobacter rodentium*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dr. Oscar Medina Contreras | Dr. Oscar Medina Contreras | Dra. Jenny Vilchis Gil |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 2020-04-08 | 2020-04-08 | 2020-05-01 |

1. **Propósito**

Conocer el alance de las infecciones por *Salmonella typhimurium* y *Citrobacter rodentium* en ratones C57BL/6 para los fines que se requieran.

1. **Alcance**

Este procedimiento involucra a todo el personal técnico, científico y estudiantes que necesiten conocer la expresión de un gen o genes de interés en una muestra en la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez.

1. **Políticas de operación, normas y lineamientos**

Es responsabilidad de todo el personal técnico, científico y estudiantes adscritos a la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez conocer y dar seguimiento a este procedimiento.

Los residuos de tipo CRETI (Corrosivas, Reactivas, Explosivas, Toxicas e Inflamables) se deberán eliminar con base en su clasificación y especificaciones de manejo según la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002; así como sus características intrínsecas y su toxicidad al ambiente según la NOM-052-SEMARNAT-2005.

El manejo de los animales de laboratorio se debe de realizar según los lineamientos de la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999, sobre las especificaciones técnicas para el cuidado, uso y disposición final de productos biológicos, excretas y cadáveres. Así como la normal oficial mexicana NOM-087-ECOL-1995, que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos, que se generan en establecimientos que presten atención médica.

1. **Descripción del Protocolo**

* Sembrar las bacterias en Agar LB por 18h a 37°C
* Tomar una colonia aislada y sembrar en caldo LB a 37°C 200 rpm por 6h
* Medir OD600 o concentración de bacterias en el espectrofotómetro
* Realizar los cálculos y diluciones necesarias para obtener 25 UFC de *Salmonella typhimurium* y 108 bacterias de *Citrobacter rodentium.*
* Centrifugar 3000 rpm por 5 min.
* Decantar el medio LB y resuspender el pellet en PBS.estéril
* Contener las bacterias resuspendidas en una jeringa de 1mL y conectar una sonda.
* Administrar las bacterias vía oral a los ratones.

**Notas**:

Asegúrese de que las placas no se encuentren contaminadas después de haber sido sembradas.

Mientras se realiza el procedimiento mantener las bacterias en hielo.

Una vez conectada la sonda a la jeringa asegurarse de que no contenga aire.

1. **Diagrama de Flujo**
2. **Documentos de Referencia**

**Bhinder,** G., Sham, H. P., Chan, J. M., Morampudi, V., Jacobson, K., & Vallance, B. A. (2013). The Citrobacter rodentium mouse model: studying pathogen and host contributions to infectious colitis. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (72), e50222.

**Reactivos y Soluciones**

Placas de agar LB

Caldo LB

PBS