

# Siembra Microbiana



**Nombre del alumno:** Aimer Leandro Aguilar García **Fecha:** 05/04/22

*Docente a Cargo: Ma. De los Ángeles Venegas Castro*

## **Objetivo:**

- Desinfección de materiales y herramientas de laboratorio
- Conocer la preparación de los materiales para una siembra microbiana
- Aprender a trabajar en orden y con disciplina
- Aprender a tomar muestras y su manipulación
- Métodos de cultivo
- conocer el crecimiento microbiano

**INTRODUCCIÓN:** En algunos casos, como sucede en trabajos microbiológicos, el material con el que se trabaja necesita de una asepsia que no se consigue con la aplicación de agentes químicos. Es necesario recurrir al proceso de esterilización. Con esto, se logra matar cualquier espora o microorganismo, que pudiera interferir en nuestro trabajo provocando contaminaciones en los cultivos o infecciones en los organismos. Este proceso de esterilizar el material debe llevarse a cabo con mucha responsabilidad, de forma meticulosa y con disciplina.

Como métodos principales de esterilización se utiliza el calor seco (mayor temperatura en hornos), el calor húmedo (menor temperatura en autoclaves), así como diferentes tipos de radiaciones, entre las cuales la luz ultravioleta que actúa sobre ácidos nucleicos es la más conocida y frecuente. En estos casos, lo primero que debe hacerse es lavar el material, enjuagarlo con agua destilada; una vez seco, se envuelve con papel estroza limpia y resistente a las temperaturas altas. Esto se hace para que al sacar el material de la esterilización se pueda conservar por un tiempo ilimitado en condiciones de asepsia. Y así en el momento de necesitar los materiales desenvolverse.

La técnica más usada en el laboratorio de microbiología es probablemente la transferencia de microbios de un ambiente a otro con el propósito de cultivarlos. Una vez preparado el material y realizado los pasos para aislar y propagar una cepa pura de algún microorganismo, el estudiante no debe disminuir los cuidados para mantenerla libre de contaminantes (microorganismos). La cuestión sería mucho más sencilla si una vez aislada la cepa, ésta se pudiera mantener indefinidamente en el mismo recipiente original; pero los microbios, como por ejemplo la gente, requieren de una provisión de alimentos continua tanto como la eliminación constante de sus productos de desecho. Después de que una población de microorganismos ha estado creciendo por cierto tiempo en la misma caja Petri, debe ser transferida a un medio de cultivo nuevo, de otra manera el crecimiento y la supervivencia no pueden continuar. Por esto, y por otras razones, se han ideado varias técnicas de subcultivo.

En este caso se hará sin tener que cambiarlo de lugar, manteniéndolo en la misma caja petri hasta que llegue el momento de desecharlo.

#### **Materiales:**

- Cristalería que se vaya esterilizar
- Tela de alambre
- Algodón
- Mechero
- Papel Estraza un rollo grande
- Agua
- Cinta masking tape
- Pipeta
- Hisopos largos
- Cuchara desechable
- Gasas
- Solución de cloro
- Cloro comercial 250 ml.
- Caja de material
- Cajas Petri
- Grenetina
- Matraz Erlen Meyer
- Vaso de precipitado
- Tripie

#### **Procedimiento:**

##### ***Preparación del material:***

- 1- Primeramente se esteriliza todo el material de trabajo, comenzando a lavar con abundante agua y jabón para posteriormente secar todo con una toalla (se encuentra en la caja de material).
- 2- Para asegurar el éxito de la esterilización se introduce una tapa de algodón en el caso de una probeta, un matraz o un tobo de ensayo.
- 3- Junto con el algodón y el papel estraza ayudara a que el material este protegido, así que se envuelve todo con papel estraza e individualmente.
- 4- Se lleva al auto clave y se calienta hasta que se encuentra la temperatura indicada
- 5- Se deja enfriar y ya está listo para ser utilizado

##### ***Preparación del medio de cultivo:***

1. Disolver 5 gramos de la grenetina en un recipiente con 100 ml de agua fría mover constantemente hasta diluir.
  2. Se pasa la mezcla a un matraz y se elabora un bonche de algodón para tapar el matraz.
  2. Con el matraz ya tapado se lleva a calentar la grenetina disuelta pero sin que llegue a hervir
  - 3-se dejara enfriar
  - 4- todos los procedimientos a realizar de hacerse cerca del mechero para evitar la contaminación y el fracaso de la práctica.
- Se toma el matraz, se destapa y después se flamea.
- 5- Ahora pasamos a verter la mezcla en la caja Petri (aproximadamente 20 ml), haciendo uso de nuestra mano izquierda se levanta levemente el recipiente y se vierte la mezcla.
  - 6- Se deja reposar hasta que la grenetina se solidifique y se enfríe (alrededor de 30 minutos).

## **Toma de muestra**

Hisopado de amígdalas

1-Colocar al paciente en frente y pedirle que abra la boca diciendo “ahhhhhhhhhh”.

2- Con un hisopo largo frotar la amígdala del paciente y tomar la muestra.

Parte II: Inoculación del medio de cultivo

1-Agarrar el hisopo con la muestra, estriar en tres secciones de la caja petri que contiene la gredetina.

2-incubar el cultivo.

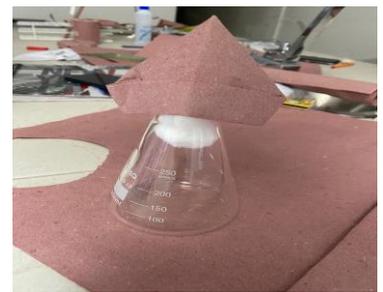
**Observaciones:**



En la imagen se puede observar el bonche de algodón que se usó como tapa.



Se realiza el mismo procedimiento y se elabora una tapa para el matraz



Después se arma una especie de sombrero para proteger bien al matraz



Se envuelve la caja Petri realizando ciertos dobleces de tal forma que quedo todo cubierto y que sea fácil de tal manera que sea fácil desenvolver a la hora de querer usarlo.



Se vuelve a realizar el mismo procedimiento para el matraz



Ahora se observa en la imagen como se debe cubrir la pipeta, está en particular debe cubrirse con una tira de papel estraza haciendo movimientos en espiral y procurar quede apretada.



Se comienza diluyendo la grenetina en agua fría para posteriormente verter todo en el matraz.



Se tapa muy bien el matraz para evitar que nuestro medio de cultivo se infecte.



Comenzamos a calentar la mezcla hasta llegar al punto de ebullición, dejamos hervir por 5 minutos. Y dejamos



Una vez que la mezcla se enfrió se vierte aproximadamente 20 ml en la caja Petri.



Pasamos a tomar las muestras del paciente, frotando con un hisopo largo, sus amígdalas.



Antes de estriar con la muestra se toma la caja Petri y se flama para eliminar los M.O.

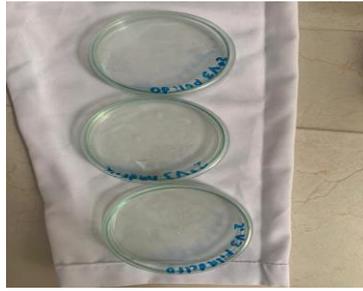
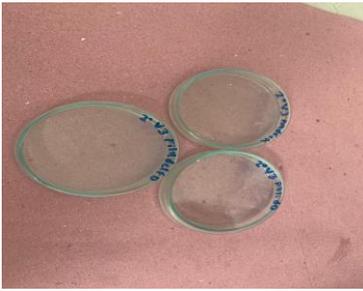


Tomamos la muestra y estriamos encima del medio de cultivo, abriendo levemente la caja. En la foto sé cómo estamos trabajando cerca de la flama.



Finalmente dejamos reposar la muestra y se trasladan a su lugar.

## Resultados:



Al cabo de 5 días revisamos las muestras

Se ve muy poca presencia de microorganismos.

De las tres muestras que se de los pacientes tomaron, nada más una presento crecimiento microbiano y el que las otras no hubiera presencia de las mismas pudo ser por diferentes causas, como por ejemplo:

1-Porque no hicimos bien las tomas.

-Estaban calientes las cajas Petri.

-Mal manejo de los hisopos.

-El hisopo no alcanzo a juntar los microorganismos s requeridos y los pocos que se recolectaron se murieron con la grenetina caliente.

-Hubo contaminación al momento de recolectar y sembrar, lo que impidió el crecimiento de los M.O.

En uno de los recipientes puede verse muy ligeramente la presencia de una pequeña colonia.



Con eso último podemos deducir que el impedimento en el crecimiento de los M.O. fue a causa del mal manejo y procedimiento del equipo.

## Conclusión:

Para concluir con mi reporte de práctica, todo el proceso que conlleva la siembra de microorganismos de cierta forma es complicada ya que se deben llevar estrictas medidas para asegurar un buen producto final, durante todo el proceso mi equipo y yo aprendimos a cómo preparar los materiales de cristalería para esterilizarlos “mediante la autoclave” y saber esterilizar es una práctica muy presente en la carrera de medicina veterinaria, así que fue muy útil aprender hacerlo correctamente. Centrándonos en el tema de los medios de cultivo, es también de gran utilidad saber realizarlo, esto podría servir en múltiples ocasiones en los laboratorios para tomar muestras y aislarlos para que al final se observe que tipo de M.O. crecen. en este caso tuvimos poco éxito con la práctica ya que se vio muy poco crecimiento de los M.O. . Junto con mi equipo llegamos a la conclusión de que el problema fue el no tener el buen manejo de las muestras, lo que provocó que los microorganismos en ella se murieran.

1. ¿Por qué no se debe hablar durante los procedimientos de determinación de presencia de microorganismos? Es para evitar una posible infección por medio de las esporas, ya que la boca es una principal vía por donde las esporas entran al organismo.
  2. ¿Qué son los medios de enriquecimiento? Son las partes donde se puede ver más la presencia de M.O.
  3. Investigue sobre las buenas prácticas en un laboratorio de microbiología. Dependen de varios principios: técnicas asépticas, control de medios, control de cepas de referencia, operación y control de equipos, registro detallado y evaluación de datos, así como capacitación del personal de laboratorio.
- 1.- ¿Qué es un medio sólido en microbiología? Los medios sólidos se utilizan para observar el crecimiento de colonias bacterianas (M.O.), ya que facilita estudiar su morfología, caso contrario de un medio líquido.
- 2.- ¿Qué es flamear? Flamear es cuando queremos eliminar la presencia de M.O. en un objeto, acercamos levemente el objeto a la flama del mechero
- 3.- ¿Cómo se realiza el método de siembra por estría? Primeramente se toma la muestra ,que en este caso fue de un exudado faríngeo, con un hisopo y se abra levemente una esquina de la caja Petri ya con el hisopo cargando la muestra se frota sobre el medio de cultivo haciendo los movimientos de la imagen

## Bibliografía

Castro, M. d. (28 de Marzo de 2022). *UDS\_Plataforma*. Recuperado el 04 de Abril de 2022, de PDF practica de Microbiologia\_apartado de recursos.