

Microbiología.

Preparación de métodos de cultivo.

Elisa Aurora Lopez Santiago. 05/04/22

➤ Objetivo.

- Conocera las técnicas de preparación y usos del material.
- El alumno aprendera a preparar el material a esterilizar.
- Aprendera a manejar adecuadamente el material de muestra.
- Aplicara la técnica de siembra correcta, dependiendo de la consistencia del material de siembra.

➤ Introducción.

Dentro del laboratorio de microbiología es importante recalcar que todo aquello a usar deberá estar limpio, esterilizado, el uso adecuado de los materiales garantiza la seguridad de aquel que lo esta manipulando. Es importante que al manipular la muestra sea todo con suma precaución para evitar contaminarla, se deberá estar cerca del mechero de bunsen para tratar de garantizar

Para demostrar la presencia de una bacteria patógena y lograr su completa identificación es necesario en primer lugar obtener una muestra del paciente, del área o medio contaminado. Sin embargo, en pocos casos se obtendrá cultivos bacterianos puros, ya que regularmente las bacterias existen en poblaciones mixtas. El material a usar deberá estar previamente esterilizado, envuelto en papel estresa, para llevar a cabo una esterilización adecuado es necesario seguir los siguientes pasos:

1. Esterilización previa: Será necesaria cuando el material y/ o equipos hayan sido utilizados con material infeccioso o presunto infeccioso, por ejemplo, placas de Petri inoculadas, tubos conteniendo cultivos de microorganismos, etc. Serán esterilizados en autoclave a 1 atm. de presión durante 15 - 30 minutos. Para las pipetas, micropipetas y tubos de hemólisis puede emplearse este método o sumergirlas inmediatamente después de ser utilizadas en solución desinfectante de formol al 10 % durante una hora.

2. Limpieza previa: Se realizará para eliminar las partes gruesas de suciedad o residuos no infecciosos (gratitud, resto de pegamento, cinta adhesiva, carbono, tinta de rotulado, etc.). Se empleará el raspado con espátulas, cepillo, esponjas metálicas, paños, etc. Se enjuagará repetidas veces bajo el chorro de agua corriente a presión (conectando a la canilla un tapón perforado o tapando

parcialmente con un dedo). Se aconseja un último enjuague con agua destilada. Se dejará secar en canasto o rejilla de alambre boca abajo a temperatura ambiente o estufa a 60 - 80 °C. El material de vidrio que luego de este tratamiento aún quedase manchado será sumergido en una solución sulfocrómica durante 24 hs (Este procedimiento lo realiza personal especializado del Droguero).

3. Preparación del material de vidrio: este acondicionamiento debe realizarse de manera tal de asegurar la perfecta esterilización de este en todos sus puntos y evitar la posterior contaminación.

a. Placas de Petri: se envuelven en papel madera según la técnica indicada por el instructor (se esterilizan en estufa a 160- 180°C durante dos o una hora respectivamente).

b. Tubos de ensayos, tubos de hemólisis y tubos de Khan: se confecciona en tapón de algodón y se cubre con un capuchón de papel aluminio. (Se esterilizan en estufa).

c. Pipetas: se obtura el extremo superior con un filtro de algodón y luego se envuelven con tiras de 4 a 5 cm. de ancho de papel madera comenzando por la punta de la misma.

Debe rotularse cada una con la capacidad y graduación correspondiente (se esterilizan en estufa).

➤ **Material.**

- Cajas Petri
- Matraz Erlen Meyer
- Vaso de precipitado
- Tripie
- Tela de alambre
- Mechero
- Agua
- Pipeta
- Cuchara desechable
- Solución de cloro
- Caja de material
- Grenetina
- Papel estrasa
- Rotulador
- Algodón.

➤ Procedimiento.

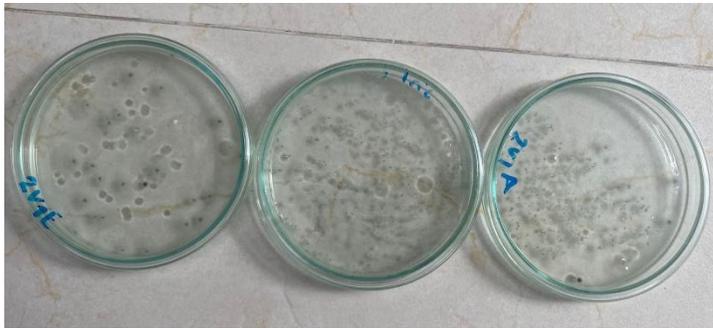
I preparación del medio de cultivo

1. En 100 ml. De agua fría diluye 5 grs. De gredina, una vez diluida y completamente sin grumos, calienta hasta lograr diluir cualquier tipo de partícula sólida, no deberás dejar ebulir
2. Cubrir con papel para evitar que se contamine la solución, hervir con el tapón a fuego lento para eliminar cualquier m.o.o
3. Y dejarla enfriar cerca el mechero
4. En ningún momento se debe apagar el mechero y tampoco se debe separar la solución del mechero

II Vaciado

1. Lavar previo a su uso cualquier material de cristalería, en especial las cajas Petri
2. Desinfectar con solución clorada y colocar en posición invertida, cercana al mechero.
3. **Marcar en la parte lateral la caja Petri previo a ser usada**
4. La caja Petri deberá cerrarse previo al vaciado.
5. Se flameará la boca del matraz antes de hacer el vaciado
6. Se acerca el matraz y la caja a la flama, se vacía una porción del medio de cultivo en la caja Petri en una porción menor a la mitad de la caja, para ello:
7. Tomar una caja con la mano izquierda, colocarla frente al mechero y destaparla parcialmente.
8. Verter aproximadamente 20 ml del medio en la primera caja de Petri con la mano derecha.
9. Tapar inmediatamente la caja de Petri.
10. Trasladar la caja debidamente tapada, a la derecha del mechero con la mano izquierda, evitando agitar el contenido de la caja.(No la aleje más de 50 cm. de distancia de la llama del mechero)
11. Flamear de nuevo la boca del Erlenmeyer.
12. Repetir el mismo procedimiento desde el inciso
13. Con la mano izquierda, destapar parcialmente la caja de Petri, sin soltar la tapa superior.
14. Dejar solidificar el medio por término de 30 minutos.

➤ Observaciones.



Se observa crecimiento bacteriano en las tres cajas Petri, en la primer muestra se localizan al menos 26 colonias de bacterias cabe recalcar que el paciente usado estaba bajo tratamiento médico, por lo cual la cantidad de bacterias fue menor al estimado, ya que se encontraba enfermo de las vías respiratorias, en la segunda muestra se localiza una muestra bacteriana bastante amplia, fue la muestra que capturo mas colonias en pequeñas dimensiones, la ultima muestra las bacterias se encuentran presentes, sin embargo en cantidad menor.

➤ Resultado.

	Presencia de bacterias	Gelatina totalmente liquida	Gelatina parcialmente liquida	Gelatina en pequeñas porciones líquidos.	
Muestra 1	✓			✓	
Muestra 2	✓				
Muestra 3	✓			✓	

➤ Conclusiones.

Podemos concluir que al realizar un buen manejo de las cajas, se pudo obtener un cultivo bastante rico respecto al crecimiento bacteriano, he aquí la importancia de tener un buen manejo mientras se realizan muestras, ya que podrán ser modificadas, o en su defecto podrá no salir nada.

➤ Cuestionario.

- ¿Por qué no se debe hablar durante los procedimientos de determinación de presencia de microorganismos? Por que la muestra no se debe de contaminar con nada.

➤ ¿Qué son los medios de enriquecimiento? Son las bases del cultivo