

MICROBIOLOGÍA

Cultivo microbiano

NOMBRE: Ingrid Anzueto Reyes

FECHA: 05/ 04/ 22

Objetivo:

- Aplicar métodos de esterilización y desinfección en instrumental de laboratorio.
- Conocer las técnicas de preparación y uso de medios de cultivo
- Aprender la técnica de siembra adecuada dependiendo de la consistencia del medio de cultivo y la finalidad de dicha siembra.

Introducción.

Para realizar un cultivo microbiano, es importante tomar en cuenta que necesitamos pasar primero por medio de desinfección y esterilización de materiales de cristalería, el tener los materiales esterilizados evita que algunos microorganismos se involucren en el cultivo ya que si estos materiales ya han sido usados con microorganismos infecciosos pueden haber quedado endoespora y esto afectaría en nuestro resultado de cultivo.

En la preparación de cultivo en cajas Petri es necesario saber los métodos de cultivo, en este caso usaremos el de gelatina, es una preparación sencilla, con una consistencia gelatinosa, este método nos permitirá observar bien los hongos en el cultivo. Tenemos tomar en cuenta también las cajas Petri en la preparación, el tener técnicas de manejo de las cajas para que ningún microorganismo entre e invada en nuestro cultivo, podríamos evitarlo pasando por el fuego del mechero y cerrando rápidamente.

Al aplicar la muestra en nuestro cultivos, debe hacerse con técnicas para evitar el paso de otros microorganismos, el área de trabajo debe estar limpio y desinfectado, luego la muestra de nuestro paciente debe estar en un hisopo largo, esta se coloca en el cultivo, pasado un tiempo tenemos que identificar el tipo de crecimiento de hongos que se obtuvo, estudiar sus características culturales, morfológicas y fisiológicas con lo cual lograr una adecuada identificación.

Material:

- Cristalería que se vaya esterilizar
- Algodón
- Papel Estrasa un rollo grande
- Cinta masking tape
- Isopos largos
- Gasas
- Cloro comercial 250 ml.
- Agua destilada
- Cajas Petri
- Matraz Erlen Meyer
- Vaso de precipitado
- Tripie
- Tela de alambre
- Mechero
- Agua
- Pipeta
- Cuchara desechable
- Solución de cloro
- Caja de material
- Grenetina
- Cajas Petri con medio de cultivo
- Mechero
- Medios de cultivo elaborados en la práctica anterior
- Caja de material
- Hisopos
- Asa bacteriológica

Procedimiento:

Para preparación de material:

1. Limpiar los materiales reutilizables descontaminados.
2. Acondicionar el material limpio para ser esterilizado.
3. Medir el algodón de acuerdo al cuello del matraz, pipeta y tubos de ensayo y crear un tapón para cada uno, en el caso de vasos de precipitado mediremos en el papel estraza una tapa, recortaremos y lo ajustaremos al cuello del vaso con trozos de cinta adhesiva. Y en cajas Petri unimos dos para envolverlas con el papel estraza
4. Mediremos en el papel estraza el cuerpo de cada materia, recortaremos y envolveremos bien de manera que no quede agujeros, y ajustamos con trozos de cinta adhesiva.

Preparación de solución de cloro

La fórmula general para preparar una solución clorada diluida a partir de un preparado comercial cualquiera que sea su concentración es la siguiente: partes de agua totales = $[\% \text{concentrado} / \% \text{diluido}] - 1$. Por ejemplo, para hacer una solución de cloro diluida al 0,5% a partir de una solución de cloro doméstica concentrada al 5% = $[5.0\% / 0.5\%] - 1 = 10 - 1 = 9$ partes de agua; en consecuencia, agréguese una parte de lejía a nueve partes de agua.

Si se está usando el cloro en polvo comercial, siga la fórmula siguiente para calcular la cantidad de polvo (en gramos) requerida para la preparación de una solución de cloro al 0,5%:

Gramos/litro = $[\% \text{diluido} / \% \text{concentrado}] \times 1000$.

Por ejemplo, para hacer una solución de cloro diluida al 0,5% a partir de polvo de hipoclorito de calcio al 35% = $[0.5\% / 35\%] \times 1000 = 14.2$ g. Por lo tanto, agréguese 14,2 g de polvo a 1 litro de agua o 142 g a 10 litros de agua.

Los instrumentos no deben quedar en la lejía durante más de 10 minutos y deben limpiarse en agua hervida inmediatamente después de la descontaminación para prevenir la decoloración y la corrosión del metal.

Para preparación de medios de cultivo:

1. En 100 ml. De agua fría diluye 5 grs. De grenetina, 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

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.

Para cultivo microbiano:

Toma de muestra.

Hisopado de amígdalas.

1. Antes de tomar la muestra, póngase la mascarilla y los guantes.
2. Coloque al paciente sentado frente a usted y pídale que trague fuertemente dos veces.
3. Pida al paciente que vea hacia arriba, con la boca abierta, que saque la lengua y diga AH.
4. Con un abatelenguas, presione fuertemente la lengua hacia abajo y simultáneamente, si es posible, iluminar bien el fondo de la garganta (detrás de la úvula o campanilla), con una lámpara portátil de baterías.
5. Localizar en el fondo de la garganta y en las amígdalas, que se encuentran a los lados, las siguientes lesiones: Inflamación (enrojecimiento). Pus (secreción blanquecina o amarillenta). Ulceras blanquecinas.
6. Con el hisopo estéril frotar firmemente las lesiones, con sumo cuidado de no tocar la lengua, la campanilla, la pared interna de los carrillos (cachetes) o los labios, al momento de retirar el hisopo.

7. Trabaje todo el procedimiento frente a la llama del Mechero Bunsen

Inoculación del medio de cultivo

1. Descargue inmediatamente la muestra tomada con el hisopo en la caja de agar.
2. Con el hisopo, estrée en tres secciones la caja.
3. Incubar.

Observaciones:



- El tapón tuvo que estar bien ajustado para que no entraran microorganismos



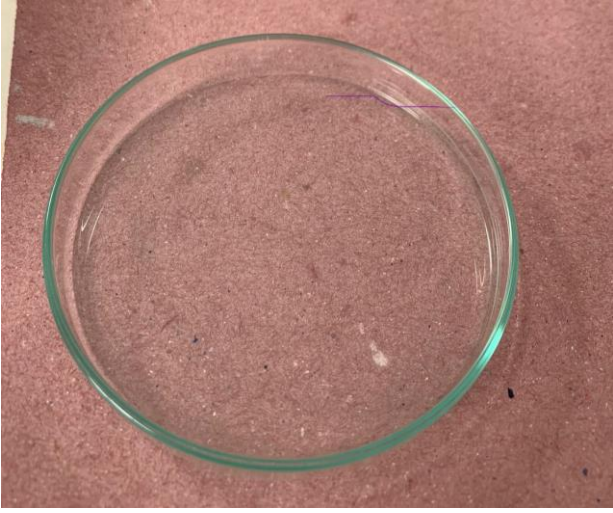
- Tuvimos que usar poca cinta, para después desenvolverlo más rápido



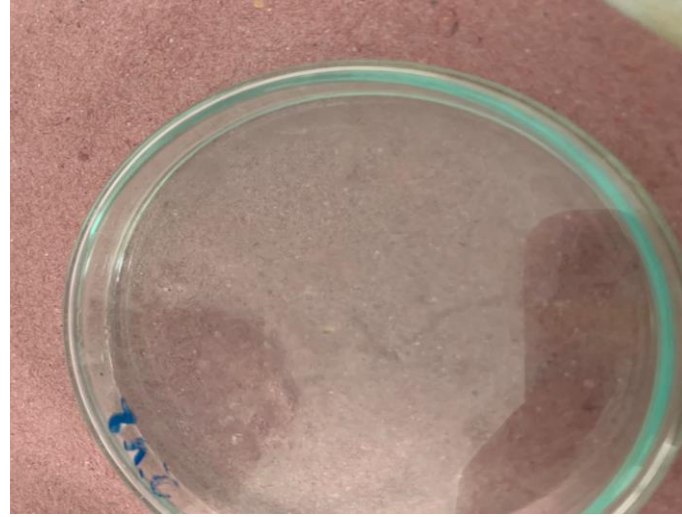
- La gretina no tuvo que quedar con grumos



- La gretina se transparento al momento de diluirlo a fuego.



- La muestra de nuestra paciente número uno, no mostro cultivo de hongos.



- La muestra de nuestro paciente dos, los hongos consumieron las propiedades de la gnetina y esta se derritió



- La muestra de nuestra paciente tres, mostro cultivo de hongos en la orilla de la caja, puesto que no había suficiente gnetina para que se desarrollara.

Resultados:

Como resultado se obtuvo tres cultivos de hongos.

En el primero, los hongos consumieron las propiedades de la gredina, en el cual dicha se derritió.

Así mismo, en el segundo cultivo los hongos tendieron a desarrollarse en las orillas de la caja Petri, debido a que no contenía suficiente gredina.

Finalmente en la tercera muestra no se desarrollaron hongos.

Conclusión

Como conclusión, la práctica de elaboración de cultivos de hongos, es de gran utilidad en el ámbito clínico, debido a que a través de ellos se puede analizar la cantidad de microorganismos presentes en muestras de diferentes exudados de los pacientes.

De igual forma, es de suma importancia observar lo que realmente sucede en su proceso de elaboración, por lo cual es vital su correcta preparación y no omitir ningún paso hasta la culminación, con tal de obtener resultados óptimo.

Cuestionario

1. ¿Por qué no se debe hablar durante los procedimientos de determinación de presencia de microorganismos?
R= No es lo correcto, debido que al hablar salpicamos saliva las cuales contiene microorganismos que pueden contaminar las muestras
2. ¿Qué son los medios de enriquecimiento?
R= Son medios líquidos que favorecen o permiten la multiplicación de las bacterias cuando la muestra obtenida es muy pobre
3. Investigue sobre las buenas prácticas en un laboratorio de microbiología.
R= consisten en actividades que 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.
4. ¿Qué es un medio sólido en microbiología?
R= Son medios compuestos por productos químicos conocidos y se utilizan para realizar estudios metabólicos, por ejemplo: agar blando, caldo nutritivo, agar eosina azul de metileno, etc.
5. ¿Qué es flamear?
R=El flameado consiste en pasar el utensilio que deseemos por la llama del mechero bunsen durante unos segundos y sin dejarlo fijo para que no se nos quemé. Normalmente se utilizan en asas de platino, pipetas pasteur, bocas de tubos y matraces.
6. ¿Cómo se realiza el método de siembra por estría?
R=se toma una pequeña cantidad de muestra con un asa de platino y se reparte sobre la superficie del medio de cultivo. Sobre el medio quedan separadas e inmobilizadas las células bacterianas