



Nombre del Alumno: Cristian Sebastián Hernández gordillo

Nombre del tema: Unidad 4

Parcial: 4

Nombre de la Materia: Microbiología

Nombre del profesor: María De Los Ángeles Venegas Castro

Nombre de la Licenciatura: MVZ

Cuatrimestre: Segundo

Comitán Chiapas a 5 de abril de 2022

Reporte de practica

Objetivo

- Que se aprenda a realizar bien la esterilización de los materiales de cristalería
- Identificar los métodos necesarios de cultivo de microorganismo
- Identificar el cultivo obtenido

Introducción

Esterilización de material de material de cristalería y preparación de medio de cultivo

Es fundamental que para nuestro laboratorio todo el material este esterilizado para poder desarrollar el cultivo de siembras de microorganismos, es decir libres de toda vida microbiana, nuestro material a usar debe de estar completamente limpio de toda vida microscópicas, proteger el material para que una vez este esterilizado no pueda contaminarse y meterse en el auto clave de vapor a presión, para poder realizar un cultivo de buena manera y en estos casos no es correcto halar durante las practicas

Material

Algodón, Papel estroza , Cinta masking tape , Isopos largos , Gasas , Cloro comercial 250 ml. , Agua destilada

Cajas petri , Matraz erlen mayer , Vaso de precipitado, Tripie , Tela de alambre
Mechero , Agua, Pipeta , Cuchara desechable, solucion de cloro, caja de material, grenetina.

Mechero, Medios de cultivo elaborados en la práctica anterior, Caja de material, Hisopos Asa bacteriológica.

Procedimiento

PROCEDIMIENTO

1. Esterilizar el material usado presuntamente infeccioso en autoclave (descontaminación)
2. Limpiar los materiales reutilizables descontaminados.
3. Acondicionar el material limpio para ser esterilizado.

a) placas de Petri

b) pipetas

c) tubos de ensayos

Autoclave: (Vapor a presión)

Para lograr una esterilidad confiable el método estándar es el vapor saturado, en autoclave, a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos.

En el caso de descontaminación el tiempo puede extenderse a 30 minutos. Esta temperatura se logra por vapor de agua a una atmósfera de presión sobre la presión atmosférica.

Los recipientes a colocar en la autoclave no deben estar totalmente llenos y deben tener tapas flojas o estar tapados con algodón con una sobre tapa para permitir la ebullición libre y la liberación del aire disuelto.

Para grandes volúmenes de líquidos se debe permitir un mayor tiempo de purgado. Este método se utiliza para esterilizar medios de cultivos y soluciones. En el caso de líquidos, éstos no deben formar emulsiones con el agua como Ej.: aceite o vaselina.

También se utiliza para esterilizar ropa de cama o material textil en general, siempre que la autoclave esté provisto de un sistema de secado por vacío.

Flameado

Pasar dos o tres veces por la llama del mechero de Bunsen varillas de vidrio, bocas de tubos, frascos y similares.

Las asas y otros utensilios metálicos se someten a la llama directa hasta calentarse al rojo. Las pinzas se sumergen en alcohol y luego se secan a la llama. Estos métodos son instantáneos y no mantienen la esterilidad en el tiempo.

Estufa de esterilización

El proceso de esterilización requiere mayor temperatura y tiempo que en el caso del vapor saturado, ya que tiene una menor capacidad de tomar, transportar y ceder el calor. La temperatura de esterilización puede variar entre los 160 °C, 2 horas a 180 °C 1 hora. El papel y el algodón no deben esterilizarse a más de 170 °C, ya que se carbonizan.

Normas de uso generales de la estufa

Los materiales no deben colocarse superpuestos ni tocando las paredes, de manera que no obstruya la circulación del aire.

1) Cargar la estufa de forma tal de no impedir la convección del aire y que el material no toque las paredes.

2) Controlar la posición del termómetro: su tubo no debe tocar la carcasa metálica ni la puerta, pues se podrían registrar temperaturas falsas (mayores a las reales).

3) Encender la fuente de energía

4) Cuando se alcanza la temperatura deseada comenzar a contar el tiempo de esterilización.

5) Dejar enfriar antes de retirar el material.

QUÍMICOS:

Desinfectantes: son agentes antimicrobianos capaces de matar los microorganismos patógenos (infecciosos) de un material. Pueden (y en muchos casos suelen) presentar efectos tóxicos sobre tejidos vivos, por lo que se suelen emplear sólo sobre materiales inertes.

Esterilización por gas plasma: Es una de las tecnologías posibles para esterilizar material termo sensible.

Consiste en crear un plasma (estado entre líquido y gas), aplicando una radiofrecuencia a Peróxido de Hidrógeno que ejerce la acción biosida.

El plasma es considerado como el cuarto estado de la materia consistente en un conjunto de iones, electrones y partículas atómicas neutras. Tiene la ventaja de no dejar ningún residuo tóxico ya que se convierte en agua y oxígeno al final del proceso. El material no precisa aireación. El ciclo de esterilización es corto, dura entre 54 y 75 minutos.

Esterilización con óxido de etileno: este método se aplica a materiales termo sensible, sondas, instrumental vario. Este gas se administra mediante una autoclave especial. Para ejercer su efecto necesita humedad y una temperatura moderada (60°C). La desventaja es que genera residuos contaminantes que deben recibir tratamiento antes de ser desechados. El material tratado debe ser sometido a aireación forzada para eliminar los residuos tóxicos. El personal debe protegerse adecuadamente.

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 = [%concentrado/% 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 = [% diluido/%concentrado] x 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%] x 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.

I preparación del medio 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

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.

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 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. PARTE II. Inoculación del medio de cultivo 1. Descargue inmediatamente la muestra tomada con el hisopo en la caja de agar. 2. Con el hisopo, estríe en tres secciones la caja. 3. Incubar.

PARTE III. Preparación del frotis 1. Rotule dos láminas portaobjetos limpios y desgrasados con su nombre 2. Utilice el mismo hisopo con el que inoculó la caja de medio de cultivo y haga un frotis. 3. Deje secar a temperatura ambiente. 4. Fije a la llama. 5. Coloree con tinción de Gram 6. Observe al microscopio PARTE IV. Tinción de Gram 1. Use la lámina que preparó en la Parte III del procedimiento para la coloración con tinción de Gram. 2. Cubra la lámina con solución Cristal Violeta y déjelo actuar por un minuto. 3. Lave con agua de chorro y escurra. 4. Cúbrela con solución de Lugol durante un minuto. 5. Lávela con agua de chorro y

escurra. 6. Cubra el frotis con alcohol acetona por un minuto. 7. Lave con agua de chorro y escurra. 8. Cubra la lámina con solución de Safranina durante un minuto. 9. Escurra el colorante y lave la lámina con agua de chorro. Escurra y deje secar a temperatura ambiente

Observación

Esterilización de material de material de cristalería y proteger adecuadamente el material para que una vez estéril no se contamine nuevamente para desinfectarlo se utilizó una fórmula de 9 ml. de agua por 1 ml. de cloro preparamos el material a esterilizar, se esterilizo un matras erlenmeyer, pipeta, vaso de precipitados, caja petri, tubo de ensayo, Se preparó el matraz con su torunda de algodón (gasas) de 8 x 16 doblamos por la mitad, enrollamos el algodón para ponerlo en la boca del matraz se coloca de forma giratoria, hasta que quede firme, pero debe sobresalir para poder sujetarla como se muestra en la siguiente imagen.



ya una vez que está firme se empieza a proteger con la capucha de papel estraza de una medida de 25 x 20 se elabora un rectángulo para hacer un gorro, los tubos de ensayos se preparan de la siguiente manera del matraz.

Las pipetas se esterilizan envuelta en papel individual los primeros a realizar es poner un filtro de algodón, para protegerlos es necesario un papel de 2 x 45 debemos de enbonberla desde punta a punta para que quede firme para no dejar que se vuelva a infectar,



Las cajas petri se esterilizan con el papel de 22 x 32 que corresponda con el diámetro de las cajas se envuelven de tal manera quede protegido como si fuera un kilo de tortilla



Baso de precipitados se realizó de la siguiente manera 30 x 35 para poder envolverlo de una manera correcta cubriendo por completo el vaso de precipitados



Preparación de medios de cultivo (agares)

Se desinfectaron las cajas petri con la solución de cloro con la solución de cloro después se pusieron a secar en el papel estroza, después se encendió el mechero, diluimos con una cuchara desechable la gnetina, se colocó en la rejilla a fuego medio se esperó a que se hirviera, para pasarlo a las cajas petri se dejó enfriar durante 30 minutos



Cultivo microbiano

Se trajo la muestra de la anterior practica para poder realizar el cultivo, se implementó el uso de guantas para no infectar a nuestro compañero con alguna enfermedad, se trabajo con el mechero se pasaba por la flama azul, aproximadamente 5 cm para no derretir el

compuesto esto se hace para matar las bacterias paraqué no entren al momento de abrir las cajas petri



se colocó a nuestro compañero en una silla para abrirle la boca, con un bate lenguas y poder tomar la muestra con un hisopo largo la muestra se obtiene frotando las mejillas con el hisopo para obtener la saliva del compañero y poder realizar el primer cultivo de tres, se frota la muestra obtenida en la caja petri para que se pueda realizar el cultivo



Muestra de Íngrid se observó crecimiento bacteriano



Muestra de Fernando se observa desnaturalización de proteínas de bacteria



Muestra de makeyla no se observó nada



Resultados

Como equipo algún procedimiento se realizó de manera inadecuada porque no se obtuvieron los resultados esperados ya que no se pudieron observar los microorganismos solo se observó una desnaturalización de proteínas en la segunda muestra de las siguientes dos no se pudo observar nada relevante.

Conclusión

Estas prácticas se realizaron para saber hacer un cultivo de microorganismos y esterilizar los materiales de cristalería a usar en el laboratorio de la cual le doy gracias profe por estos dos cuatris ya que con usted aprendí demasiado le doy gracias por todo y espero que siempre nos veamos y que sepa que tiene a un amigo adentro y afuera del plantel se cuida profe la aprecio gracias por todo.

Cuestionario

¿por qué no se debe de hablar durante los procedimientos de determinación de presencia de microorganismos?

Porque podemos contaminar las muestras al momento de hablar expulsaremos bacterias

¿Qué son los medios de enriquecimiento?

El medio de cultivo enriquecido consiste en la combinación de un agar nutritivo como base más una sustancia o compuesto enriquecido. Los medios enriquecidos por excelencia son el agar sangre y el agar chocolate.

¿Investigue sobre las buenas prácticas en un laboratorio de microbiología?

1.- ¿Qué es un medio sólido en microbiología?

Medios Sólidos: se utilizan para obtener bacterias aisladas por la formación de colonias sobre la superficie del medio de cultivo y para el estudio de la morfología de las colonias, lo que no permiten los medios líquidos. Se diferencian porque tienen una sustancia de sostén, que puede ser agar-agar.

2.- ¿Qué es flamear?

Esto se utiliza para eliminar las bacterias que puedan estar en la superficie, pero se debe flamear dentro de un rango de 5cm. Aproximadamente

En la flama azul.

3.- ¿Cómo se realiza el método de siembra por estría?

Es una muestra de una población mixta y continua. Esto provoca las estrías sobre una superficie sólida preparada en una caja petri.