



Nombre del alumno: Diana Paola Sánchez García

Nombre del profesor: Maria De Los Angeles Venegas Castro

Nombre del trabajo: Informe de practicas



Materia: Microbiología y parasitología

Grado y grupo: 2-A

Comitan De Dominguez Chiapas a 31 de marzo de 2022

“PROCEDIMIENTOS PARA REALIZAR CULTIVOS MICROBIANOS”

INTRODUCCIÓN

Es importante que antes de realizar alguna toma y preparación para un cultivo se deben realizar procedimientos previos para que se realice de manera correcta y evitar contaminar las muestras o utilizar materiales contaminados.

En el siguiente reporte se presentan las etapas para realizar un cultivo microbiano exitoso tomando en cuenta la esterilización de todo material a utilizar y utilización del autoclave, la preparación del medio de cultivo donde se podrá observar el crecimiento de los microorganismos y como tomar la muestra que también se observar bajo el microscopio el tipo de bacterias que se encuentran que pueden ser mayormente grampositivas o gramnegativas y los tipos y procedimientos de tinción de gram, y además de como desinfectar los materiales y nosotros mismos.

OBJETIVOS

- ✓ Conocer los procedimientos para una esterilización y la preparación de un cultivo microbiano correcto y exitoso.
- ✓ Conocer el uso correcto y la finalidad de los procesos de esterilización previos a la utilización de los materiales.
- ✓ Saber utilizar y que pasos realizar para la utilización de los métodos de tinción de Gram.
- ✓ Realizar correctamente un frotis y conocer los beneficios y la utilidad de los diferentes tipos de tinción.

FASE #1

“ESTERILIZACIÓN”

MATERIALES:

- Material de cristalería que se valla a esterilizar (cajas de Petri, matraz Erlen Meyer, vaso de precipitado, proveta, pipeta, tubos de ensaye, etc).
- Algodón
- Papel estrasa
- Cinta maskin tape
- Tijeras
- Regla
- Cloro (hipoclorito de sodio)
- Agua
- Jabón
- Gasas

PROCEDIMIENTO:

1. Se debe realizar un previo lavado del material de cristal con agua y jabon eliminando cualquier residuo o suciedad superficial de estos.
2. Una vez lavados se dejan escurrir al natural sobre un pliego de papel estrasa.



3. Mientras se secan se prepara la solución de agua clorada; por 1ml de cloro por 9 ml de agua, en nuestro caso se utilizaron 2 ml de cloro por 18 ml de agua.

4. Una vez realizada la solución se le coloca un poco a cada uno de los materiales y se busca que cubra toda la base y las paredes de los materiales, se les quita el exceso y nuevamente se dejan escurrir y secar sobre un pliego de papel estrasa limpio.



5. Mientras se seca nuevamente se realizan las cubiertas (gorritos y envolturas) y los tapones de estos con papel estrasa, algodón, gasas y cinta.



5.1. Para los de boca ancha como los vasos de precipitado se les coloca una “tapa” de papel estrasa evitando la entrada de aire y se fija con cinta, posteriormente se envuelve con otro poco de papel incluyendo la base y se fija con otro poco de cinta facilitando quitarlo fácilmente.



5.2. Para los de boca estrecha se le coloca un tapon de algodón envuelto en gasas y se introduce 2 cm asegurando que no entre aire, asegurándose que quedo bien colocado sosteniendolo del extremo sobrante sin que se caiga y se le coloca un “gorrito” de papel estrasa ajustado a su tamaño.



5.3. Para los instrumentos que tienen mayor longitud como lo es la pipeta solo se envuelven con una tira delgada a su alrededor y se fija con cinta el extremo final.



5.4. Para las cajas de Petri se envuelven colocandolas alreves y cerradas con un solo pedazo de papel doblandolo minuciosamente para que no entre nada de aire.



6. Una vez sellados se pasan al autoclave a 121 °C durante 15 min.



FASE #2

“PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO”

MATERIALES:

- Cajas de Petri
- Matraz Erlen Meyer
- Vaso de precipitado
- Pipeta
- Agitador
- Mechero
- Tripie
- Tela de alambre
- Cucharas desechables
- Sobre de grenetina sin sabor
- Cerillos
- Agua
- Algodón
- Papel estrasa
- Gasas

- Guantes
- Rotulador
- Trapos

PROCEDIMIENTO:

1. Primero se debe de encender el mechero a que la flama este casi en su totalidad de color azul y este se debe mantener encendido hasta el final de la practica.

2. Se debe preparar la solución de grenetina; en un vaso de precipitado se disuelve 1 cucharada de grenetina en 100 ml de agua y se revuelve con el agitador hasta que esta este si grumos.



3. Se coloca en tripie y la tela de alambre sobre el mechero y se coloca el vaso sobre la malla hasta que este caliente mientras se sigue revolviendo para deshacer cualquier particula que aun este sólida.

En cuanto comience a hervir se retira con un guante y se coloca sobre un trapo para que enfrie.



4. Una vez tibia se vacía en un matraz para volver a llevar al mechero, pero en este paso se le coloca un tapón de algodón con gasa y su respectivo “sombrecito” de papel estrasa evitando que se evapore.



En cuanto llegue al punto de ebullición se deja 5 minutos más y se retira.



6. Mientras se enfría se marcan en la parte lateral las 3 cajas de petri que se ocuparán.



7. Con la ayuda del mechero de debe flamear cerrada la caja de Petri junto con la boquilla del matraz que previamente se le quito el taón y el “sombbrero” antes del vaceado.



8. Antes del vaceado se destapa parcialmente la caja de Petri sin soltar la tapa superior.

9. Ya que se flamearon se vacean alrededor de 20 ml en la caja de Petri, esto sin tocar los bordes de los materiales.



10. Se cierra inmediatamente la caja y se traslada a la superficie de la mesa sin alejarla demasiado del mechero.

11. Ya colocada en su lugar se flamea nuevamente la boquilla del matraz y sobreponerle el tapón y el “sombbrero” nuevamente.

*Este procedimiento se repite 2 veces más, teniendo al final 3 medios de cultivo.

12. Una vez realizadas se deja enfriar y solidificar el medio de 30-40 min.



FASE #3

“CULTIVO MICROBIANO”

MATERIALES:

- Cajas de Petri con medio de cultivo
- Cajas de Petri limpias
- Hisopos
- Guantes
- Porta y cubre objetos
- Mechero
- Alcohol
- Colorante violeta de Genciana
- Solución Yodo Gram
- Colorante Safranina
- Microscopio

PROCEDIMIENTO:

1. Primero se deben de tomar el hisopado de amígdalas.

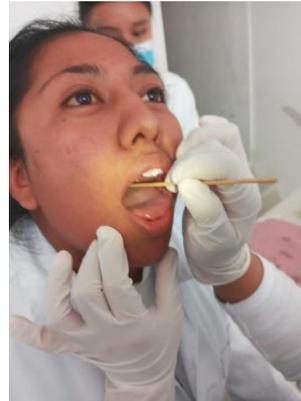
1.1. Se debe colocar guantes y mascarilla antes de tomar el exudado.



1.2. El paciente debe sentarse frente a quien tomara la muestra abriendo la boca diciendo AH AH.

*Se debe de iluminar el área evitando lastimar al piente.

1.3. Se debe localizar el fondo de la garganta y en las amígdalas que se encuentran alrededor de la campanilla y ahí frotar con el isopo firmemente.



1.4. Una vez tomada la muestra se retira el isopo sin tocar mejillas, lengua, dientes, etc..

2. Con la muestra del isopo hay que estriar en 3 secciones sobre el medio de cultivo realizado antes, previamente hay que flamear la caja antes de abrirla para desinfectar.

*Hay que realizar este procedimiento 2 veces más con cada persona diferente en los 2 medios de cultivo restantes.



3. Hay que dejar incubar las bacterias que se obtuvieron del exudado.



4. Una vez que se realizaron los cultivos se realiza un frotis delgado con el isopo utilizado previamente en un porta objetos y se flamea para que seque la muestra para llevar a tinción.



4.1. Una vez tomado el frotis se quema el isopo y se desecha.

3. Se coloca el porta objetos inclinado dentro de una caja de Petri limpia y se procede con la tinción de Gram:

- Se le cubre el frotis con colorante violeta de Genciana y se deja actuar durante 1 minuto.
- Se cubre con solución de Yodo Gram y se deja actuar 1 minuto.
- Se enjuaga con alcohol y se deja actuar de 5-15 segundos.
- Se remueven los restos del colorante con agua.
- Se cubre el frotis con colorante Safranina y se deja actuar 1 minuto.
- Por último se enjuaga con agua sin frotar.
Este mismo procedimiento se realiza con las 3 muestras.



4. Una vez que se enjuagaron las 3 muestras se dejan secar al natural y se identifican de quien pertenecen.



5. Se les coloca cubre objetos para poder observarlas al microscopio.



RESULTADOS

Prueba #1

En esta se encontraron más células grampositivas, que son las bacterias cristalizadas moradas y muy pocas gramnegativas, que son las bacterias cristalizadas azules.

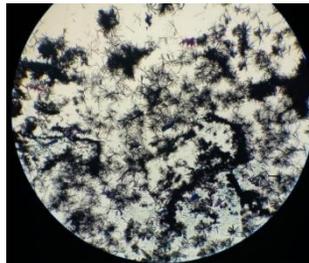
Se observó en objetivo 10



Prueba #2

En esta se encontraron casi exclusivamente grampositivas, además de células de descamación y residuos de comida. Esto observado en objetivo 10

A objetivo 40 se observó a detalle una célula gramnegativa donde se observa a detalle su estructura



Prueba #2

En esta se encontraron pedazo de epitelio, células grampositivas y fragmentos de comida. Esto observado en objetivo 10

A objetivo 40 se observan pequeñas colonias de bacterias.



OBSERVACIONES

En este apartado se muestran lo que se obtuvo de los cultivos microbianos

Prueba #1

En este cultivo se observaron bacterias dispersas por todo el medio y comenzaron a comer parte del medio de cultivo de gredina.



Prueba #2

En este cultivo se observaron en menor cantidad las bacterias y al contrario de la primer muestra no había cambios en el medio.



Prueba #3

En este último si hubo un cambio notorio pues si se encontraban bacterias en mayor cantidad y debido a esto descompusieron totalmente el medio de cultivo ya que de estado sólido pasó a líquido y casi nulo en cuanto a cantidad.



CONCLUSION

Esta práctica los resultados fueron buenos pero no como se esperaban pues al no realizar correctamente el procedimiento de tinción, frías o flameando no se podrán observar correctamente los microorganismos bajo el microscopio por lo que no se sabrá cuáles son los datos correctos pues se pueden confundir. Se puede mejorar tomando en cuenta la técnica y los tiempos a los que se debe realizar cada procedimiento sin omitir alguno.

También al realizar los estriados si no se realizan correctamente no habrá crecimiento de bacterias y por consiguiente no habrá colonias.

CUESTIONARIO

1. ¿Por qué no se debe hablar durante los procedimientos de determinación de presencia de microorganismos?
R= Esto se debe a que al hablar se puede contaminar las muestras, el cultivo, los materiales y/o otros instrumentos y alterar los resultados o en dado caso transmitir si es que tiene alguna enfermedad.
2. ¿Qué son los medios de enriquecimiento?
R) Son los medios en los que las colonias de bacterias u otros microorganismos pueden crecer y desarrollarse alimentándose del medio donde se encuentran.
3. Investigue sobre las buenas prácticas en un laboratorio de microbiología.
R= Llevar a cabo las medidas de seguridad e higiene en el laboratorio.
Saber cómo manipular las muestras sin contaminar
Realizar correctamente la desinfección y antisepsia antes, durante y después de cada práctica.
4. ¿Qué es un medio sólido en microbiología?
R= Es en el cual las bacterias crecen mejor debido a la estabilidad de este medio y pueden alimentarse de él dependiendo de que está realizado.
5. ¿Qué es flamear?
R= Es el procedimiento mediante el cual se puede desinfectar un objeto, material, etc y sirve también para fijar una muestra de exudado pues seca la saliva fijando los microorganismos.
6. ¿Cómo se realiza el método de siembra por estría?
R= En el área que se va a realizar se realiza en 3 pasos, haciendo separación entre ellos y se hacen cada uno de manera ondulatorio, rotando el hisopo y presionando levemente sobre el medio