



Mi Universidad

Reporte de practica

Nombre del Alumno: Adamari Zúñiga Villatoro

Nombre del tema: Preparación de material, preparación de medios de cultivo, cultivo microbiano.

Parcial: 4

Nombre de la Materia: Microbiología y Parasitología

Nombre del profesor: María de los Ángeles Venegas Castro

Nombre de la Licenciatura: Enfermería

Cuatrimestre: 2

Esterilización de material y medios de cultivo

Objetivo:

- Aprender a preparar el material de manera que no este en contacto con microorganismos patógenos.
- 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

En el laboratorio de microbiología todas las manipulaciones deben ser llevadas a cabo de tal modo que se impida la contaminación en el área de trabajo; los procedimientos utilizados se conocen como técnica aséptica, ésta tiene un doble objetivo a) evitar que el operador se contamine con microorganismos procedentes de las muestras o cultivos y b) evitar la contaminación de las muestras y cultivos con microorganismos procedentes del ambiente o del propio operador. Así mismo, en el trabajo del laboratorio de Microbiología tienen importantísima aplicación los procedimientos, técnicas y productos que suprimen o disminuyen la vitalidad de los microorganismos patógenos. No existe un procedimiento de esterilización y desinfección aplicable a todos los casos. El método de esterilización será seleccionado para cada caso teniendo en cuenta la naturaleza física del objeto y la naturaleza biológica del contaminante. Como rara vez se conoce la población de microorganismos sobre un objeto que debe ser tratado, debemos presuponer que se encuentran presentes las formas microbianas más resistentes: las endosporas. Uno de los métodos más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio. El Medio de Cultivo es el material alimenticio en el que crecen los microorganismos. Al crecimiento de los microorganismos se le denomina Cultivo. Para que las bacterias crezcan adecuadamente en un medio de cultivo artificial debe reunirse varias condiciones propicias, entre ellas: temperatura, humedad, presión de oxígeno y pH. Un medio de cultivo debe contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar exento de microorganismos contaminantes en todas sus formas.

Material:

- Cristalería que se vaya esterilizar
- Algodón
- Papel Estraза un rollo grande
- Cinta masking tape
- Isopos largos
- Gasas
- Cloro comercial 250 ml.
- Agua destilada
- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Cerillos
- Alcohol
- Trapos
- Jabón
- Palillos
- Clip
- Cloro
- Agua bebible
- 1 sobre de grenetina sin sabor
- Cajas Petri con medio de cultivo
- Mechero
- Medios de cultivo elaborados en la práctica anterior
- Asa bacteriológica
- Cajas Petri
- Matraz Erlen Meyer
- Vaso de precipitado
- Tripie
- Tela de alambre
- Mechero
- Agua
- Pipeta
- Cuchara desechable

Procedimiento practica 4; Preparación de material

- Preparar solución clorada respetando la formula 9ml de agua por 1ml de agua (preparar cantidad de solución en proporción al material a esterilizar).
- Limpiar con agua y jabón el material a esterilizar, previo a su desinfección con solución clorada.
- Realizar desinfección con cloro: verter solución clorada en cada recipiente a esterilizar y rotar el recipiente de manera que la solución cubra toda su superficie.
- Realizar tapones de algodón y colocarlos a los tubos de ensayo y matraz, de igual manera, realizar protección de papel estraза y colocarlos sobre los tapones de algodón.

- Envolver las cajas Petri con papel estraza cubriendo por completo su superficie y a manera de facilitar su apertura cuando se llegue a utilizar y de esta manera, evitar movimientos innecesarios que pudiesen provocar errores en el procedimiento o manipular demasiado material.
- Proceder a envolver vasos de precipitado comenzando en estos con la parte superior y de igual manera la pipeta con papel estraza, siendo muy cuidadosos en esta última, para ello se debe de realizar dobleces en los extremos para sellar la superficie de esta, de igual manera manteniendo la precaución para cubrir por completo su superficie, utilizar cinta para asegurar un buen sellado procurando utilizar una mínima cantidad.

Nota:

°El material envuelto tiene que ser fijo para que no entre aire y no se contaminen con microorganismos patógenos.

°El algodón impide la entrada de microorganismos patógenos.

Procedimiento practica 5; Preparación de medios de cultivo

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 ebullición
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.

Procedimiento practica 6; 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 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. Cúbrala 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.

Observaciones practica 4; Preparación de material

Al realizar este simulacro de esterilización, pudimos observar como envolver los distintos materiales de cristalería, para que, al momento de la esterilización, podamos protegerlos de los microorganismos patógenos. Al igual que aprender como envolver los materiales, sabemos qué; el algodón impide la entrada de microorganismos y el material envuelto tiene que ser fijo para que no entre aire y no se contamine con microorganismos.





Observaciones practica 5; Preparación de medios de cultivo

Se realizó una solución de 100ml de agua y 5g de gredina. Se llevó a fuego en la malla de asbesto y el mechero. Agitando constantemente la solución para la integración del agua y la gredina.

Se retiró del fuego, una vez integrada el agua y la gredina. Dejando que enfriara un momento para después vaciarlo en el matraz.

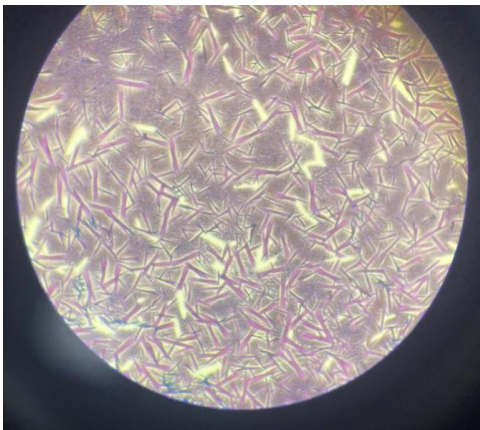
De igual forma se llevó el matraz a fuego para la esterilización de la solución. De la primera burbuja se tomaron 5 minutos para retirar, dejando enfriar hasta que pueda ser manipulable el matraz para vaciar en las cajas Petri utilizando el método de esterilización flameado.



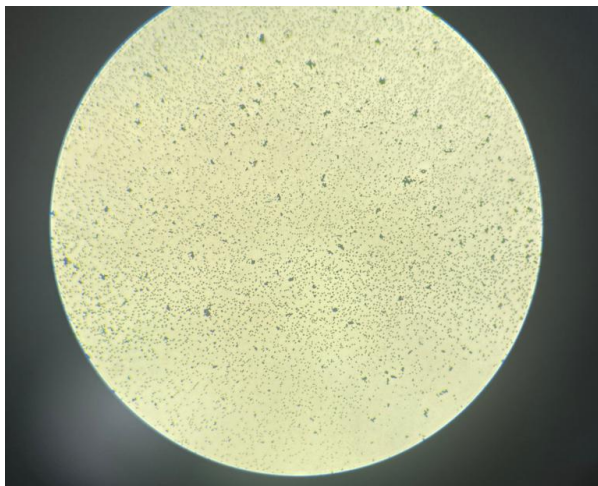
Observaciones practica 6; Cultivo microbiano

En esta práctica, hicimos un exudado faríngeo a tres personas diferentes, por cada muestra se realizó un frotis y un sembrado en las cajas Petri, se realizó tinción de gram a los frotis, los frotis se observaron al microscopio;

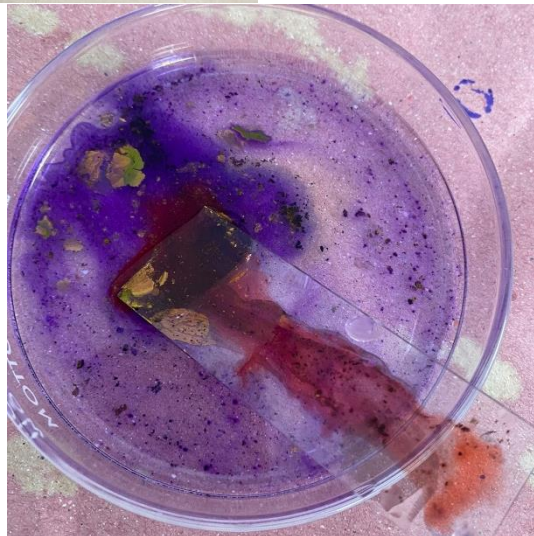
Muestra 1: Se observó con el objetivo 40x bacterias grampositivas, en una parte se estrellaron y en otras no, ya que se excedió de tiempo de tinción y se notan como pelusas, también se observaron células de epitelio y bacterias grampositivas.

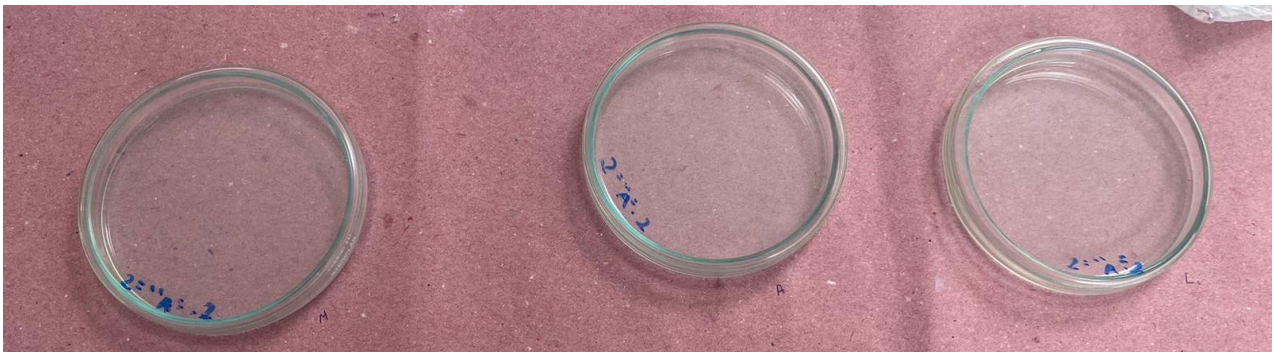


Muestra 2: Se observó con el objetivo de 40x bacterias color rosadito, bacterias gramnegativas, también se pudieron observar cocos y diplococos en esta muestra.



Muestra 3: Se observo en el objetivo de 40x, bacterias gramnegativas, cocos (+++) y diplococos(++) y también algunos estreptococos.(+)





Resultados práctica 4; Preparación de material

Junto con mi equipo, si logramos el objetivo de esta práctica, ya que pudimos aprender a envolver los materiales para poder realizar un buen simulacro de esterilización, y así, cuando nos toque hacerlo de una manera real, sabremos como envolver, sin dejar aire para que los materiales no se contaminen.

Resultados practica 5; Preparación de medios de cultivo

Junto con mi equipo, si logramos alcanzar el objetivo de la práctica, ya que pudimos preparar la solución para los medios de cultivo, y así, en la siguiente práctica, hacer los cultivos.

Resultados practica 6; Cultivo microbiano

Junto con mi equipo, realizamos el exudado faríngeo y después, pudimos aprender a hacer una técnica de siembra adecuada dependiendo de la consistencia del medio de cultivo. Aunque no logramos alcanzar el objetivo ya que, al observar los medios de cultivo, nos percatamos que no se formaron colonias pero se estaban formando las estrías.

Conclusiones

Al realizar estas tres prácticas, me pude dar cuenta de la importancia que tiene realizar una correcta envoltura de los materiales al momento de esterilizarlos, ya que, al no hacerlo de una manera correcta, estos pueden contaminarse de nuevo. Así como también, aprender a preparar las soluciones para los cultivos mediante técnicas específicas y aprender como realizar una siembra adecuada dependiendo de la consistencia del medio de cultivo.

Cuestionario practica 5; Preparación de medios de cultivo

1. ¿Por qué no se debe hablar durante los procedimientos de determinación de presencia de microorganismos?

No es recomendable hablar y no debe hacerse, ya que esto puede contaminar la muestra y no se lograría el objetivo, que es ver los microorganismos de la persona a la cual se le realizo el procedimiento.

2. ¿Qué son los medios de enriquecimiento?

Un medio de cultivo es un sustrato o solución de nutrientes en los que crece y se multiplican los microorganismos en el laboratorio, con el objeto de aislar diferentes especies bacterianas, con el fin de identificarlas y realizar estudios complementarios.

3. Investigue sobre las buenas prácticas en un laboratorio de microbiología.

Las buenas prácticas en un laboratorio microbiológico 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. Para crear una cultura de seguridad en los laboratorios de control de calidad microbiológica de productos farmacéuticos es necesario identificar los riesgos asociados e implementar planes para mitigar esos riesgos. Además de cumplir con las indicaciones en medidas de seguridad indicadas en el Apéndice V. Principios Generales de Buenas Prácticas de Laboratorio, se recomienda implementar la evaluación de los riesgos asociados al manejo seguro de material biológico, agentes patógenos y toxinas con la intención de evitar y prevenir los riesgos biológicos; con esto se pretende asegurar la salud del personal, la integridad de las muestras con las que se trabaja, minimizando un impacto nocivo al medio ambiente

- Mantener el área de trabajo lo más limpia posible.
- Lavarse las manos constantemente.

Cuestionario practica 6; Cultivo microbiano

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

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?

El flameado es un método de desinfección físico por calor seco por fuego directo, con esto conseguimos que el utensilio que vayamos a utilizar este desesterilizado para que no se contamine nuestros utensilios.

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

El método más usual es la siembra por estría sobre un medio de cultivo sólido adecuado dispuesto en una caja Petri.

Para ello 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 inmovilizadas las células bacterianas. Tras la incubación en condiciones adecuadas, cada célula viable origina una colonia visible resultado de sucesivas divisiones celulares. Cada colonia bacteriana tiene unas características determinadas en cuanto a su forma, borde, elevación, tamaño, consistencia, etc... Los tipos de bacterias presentes en la muestra original es visible como tipos diferentes de colonias. A partir de colonias separadas suficientemente es posible obtener un cultivo puro de cada uno de los tipos de bacterias presentes en la muestra original.

Bibliografía

<https://edulabc.com.mx/tag/medios-enriquecidos/>

<https://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/1271.pdf>

<https://prezi.com/fpdrozwavraa/flameado-incineracion-y-calor-seco/#:~:text=El%20flameado%20es%20un%20m%C3%A9todo,no%20se%20contamine%20nuestros%20utensilios.>

<https://www.ugr.es/~pomif/pom-bac/pb-iv/pb-iv-2-introduccion.htm#:~:text=El%20m%C3%A9todo%20m%C3%A1s%20usual%20es,e%20inmovilizadas%20las%20c%C3%A9lulas%20bacterianas.>

KiUT

Adamari

24/03

Vapor a presión → Autoclave saturado
rotura de 15 min.

KiUT

Adamari

29/03

de trabajo y posterior m

todo se hizo una soluc

tion.

que contiene la solucio

gracion del agua y la g

ion mientras

se agreg

gram + mol... harand... y otras no

una parte se estrellaron y otras no

notan como pelusas

uas

os gram negativas

ococos.

Adamari

30/03

gativas

otococos +