



Mi Universidad

PRÁCTICA

Nombre del Alumno **FATIMA LIZBETH PONCE SOBERANO**

Nombre del tema **PRÁCTICA**

Parcial **4**

Nombre de la Materia **MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGIA**

Nombre del profesor **MARIA DE LOS ANGELES VENEGAS CASTRO**

Nombre de la Licenciatura **ENFERMERIA**

Cuatrimestre **2**

PRÁCTICAS

PREPARACIONES

OBJETIVO:

- Conocer la importancia de las técnicas de esterilizar los materiales en el laboratorio.
- Desarrolle habilidad en el manejo de los diferentes caldos y medios de cultivo.
- Aprender la técnica de siembra adecuada dependiendo de la consistencia del medio de cultivo y la finalidad de dicha siembra.

INTRODUCCIÓN.

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.

El método de esterilización a emplearse debe ser previamente valorado.

Actualmente existen valores tabulados de tiempo de exposición, temperatura y concentración de principios activos para los métodos de esterilización más usados que nos permiten elegir el más adecuado para cada caso.

El agar es un elemento muy empleado para la preparación de medios de cultivo. Se obtiene de un alga roja denominada *Gracilaria*.

Químicamente, es una mezcla compleja de sales de polisacáridos, la mayoría de ellos galactósidos. Las grandes moléculas que lo constituyen determinan sus

características coloidales y espesantes, que lo han hecho casi insustituible. Además de polisacáridos, el Agar contiene numerosos cationes asociados, tales como sodio, potasio, calcio, magnesio y algunos otros.

La Gelatina es otro agente solidificante pero se emplea mucho menos ya que bastantes bacterias producen enzimas capaces de licuarlo. La mayoría de las bacterias patógenas requieren nutrientes complejos similares en composición a los líquidos orgánicos del cuerpo humano.

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.

Principios fundamentales de la técnica aséptica:

- Limpiar el área de trabajo antes y después de la sesión de laboratorio con la solución sanitizante.

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.

MATERIALES:

PRÁCTICA # 1

Cristalería que se vaya esterilizar

- Algodón
 - Papel Estrasa un rollo grande
 - Cinta masking tape
 - Isopos largos
 - Gasas
 - Cloro comercial 250 ml.
- Agua destilada

PRÁCTICA # 2

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

PRÁCTICA # 3

- Cajas Petri con medio de cultivo
- Mechero
- Medios de cultivo elaborados en la práctica anterior
- Caja de material
- Hisopos
- Asa bacteriológica

PROCEDIMIENTO

PRÁCTICA # 1

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.

PRÁCTICA # 2

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, colocar la frente al mechero y destaparla parcialmente.

Mechero Agua Pipeta

8. Verter aproximadamente 20ml 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.

PRÁCTICA # 3

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, ilumine 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, estré 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. Fije a la llama.
4. Coloree con tinción de Gram 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:

PRÁCTICA # 1

1. Primero Desinfectamos nuestra área de trabajo y lavamos el material que vamos a utilizar.



2. Después fue hacer una preparación de solución clorada que fue poner en un recipiente 45ml y 5ml de agua y ya que estuvo la solución fue poner en los recipientes la solución.
3. Ponerle algodón a los tubos de ensayo y al matraz también a la pipeta y unos barquitos de papel estrasa para hacer un simulacro de una esterilización.
4. Y por último fue que a las cajas petri al igual que los vasos de precipitado se envolvieron con papel estrasa y con cinta para que no se desenvolviera.

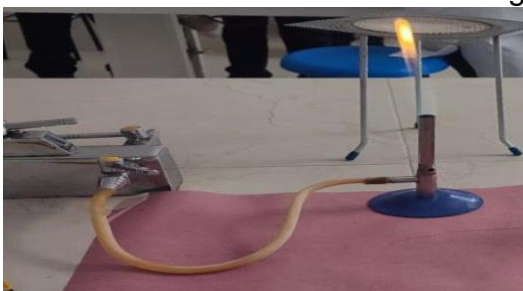


PRÁCTICA # 2

1. Empezamos limpiando nuestra área de trabajo y a lavar el material que íbamos a utilizar.



2. Conectamos el mechero al gas y se encendió.



3. A la cajas petri se le puso la solución clorada para desinfectarla.
4. En un vaso de precipitado se le agrego 100ml de agua y media cucharada de grenetina y se mezclo hasta que se decidieran los grumos.
5. Despues la solución se puso en el mechero a calentar y cambio de color por que antes era amarillito y despues de calentar se puso de color transparente.



6. Se bajo el vaso a la mesa para que se enfriara para si pasarlo al matraz.

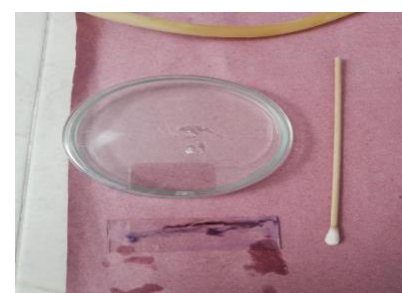
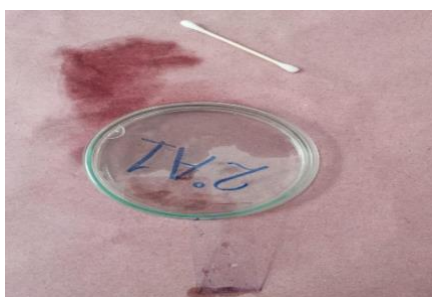


7. Estando ya la solución en el matraz se puso en el merchero tapado con algodón y su barquito de papal estrasa y esperamos 5 minutos y despues se retiro de merchero.
8. Por ultimo se hizo un sembrado que fue destapar el matraz y flamearlo y tambien flamear la caja petri y agregarle la solución de grenetina y flamear la caja petri y el matraz y asi con las otras dos cajas petri.



PRÁCTICA # 3

1. Como siempre al entrar al laboratorio es limpiar nuestro lugar de trabajo y lavar los materiales que utilizaremos.
2. Tomamos tres muestras de saliva con los isopos esteriles.
3. Despues de tomar las muestras se trotaron en la solución de grenetina de las cajas petri como espirales.



4. Se flameo la muestra al igual que las cajas petri para evitar que se contaminaran.
5. Se coloco la placa en una gradilla de tinción y se cubrio el frotis con colorante violeta de genciona y esperar 1min.



6. Se escurrio el colorante sin enjuagar, se cubrio con la solución de yodo gram y se espero 1min.

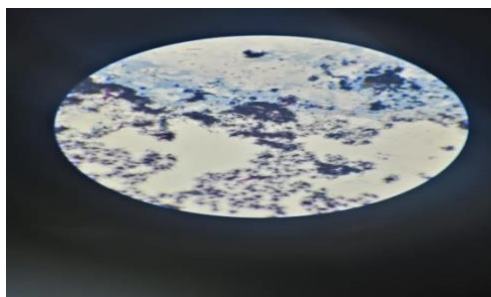
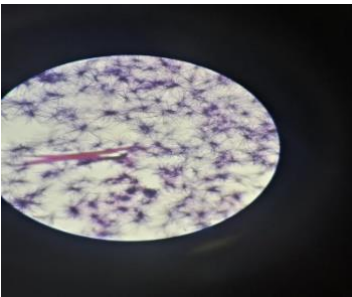


7. Se lavo con la solución de acetona-alcohol y se mezclo para decolorar y se dejo actuar de 5-15seg, en frotis delgado de 15-60seg en frotis grueso.

8. Enjuagar para remover restos de colorantes, cubrir el frotis con colorante safrinina y esperar 1min.



9. Lavar repetidas veces con agua corriente o desilada hasta aclarar y secar al aire y observar en el microscopio.
10. Por ultimo observar las bacterias.



RESULTADOS:

Se encontro poca presencia de colonias y estaban en forma pequeña nubes y se observaron estrias levementes moradas.

La practica no se llevo o no cumplimos el objetivo ya que no hubo mucha presencia de colonias ya que algun paso no se llevó bien o se contamina nuestra muestra.

CONCLUSIONES:

Se logro realizar adecuadamente el procedimiento de las prácticas y asi aprendi cosas muy interesantes que no sabia y estas practicas fueron de gran ayuda ya que al hacerlas concluimos muchas cosa como por ejemplo: que son, como se hacen y que suce por medio de un resultado

CUESTIONARIO:

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

Porque al hablar, nuestra área de trabajo no se encuentra completamente estéril por lo que se le da acceso a otros microorganismos no contemplados para el cultivo.

2.-¿Qué son los medios de enriquecimiento?

Un medio de enriquecimiento es un medio de cultivo que contiene los nutrientes necesarios para apoyar el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos, entre ellos algunos de los más exigentes. Se utilizan comúnmente para la cosecha de diferentes tipos de microbios que están presentes en la muestra.

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.

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

Es una clasificación de los medios de cultivos, en este caso por su estado físico. Un medio sólido se utiliza 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.

5.- ¿Qué es flamear?

Significa quemar o pasar por el fuego alguna superficie u objeto que se quiera esterilizar.

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

Es el método más usual, se realiza sobre un medio de cultivo sólido adecuado dispuesto en una placa de 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. Permitiendo aislar las bacterias que dan lugar a colonias separadas y posteriormente, transfiriendo una sola colonia a un medio nuevo, se permite el desarrollo de un cultivo puro bacteriano.