



Mi Universidad

Nombre del Alumno: Karen Mayte Marroquín Morales.

Trabajo: reporte de práctica, desinfección y esterilización.

Parcial: 4to.

Nombre de la Materia: Microbiología y parasitología.

Nombre del profesor: María de los Ángeles Venegas Castro.

Nombre de la Licenciatura: LEN.

Cuatrimestre: 2.

Comitán de Domínguez Chiapas, a 02/04/2022

PRÁCTICA N. 2 PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.

INTRODUCCIÓN

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.

En distintos laboratorios de Microbiología se ha preparado más de 2,000 medios de cultivo diferentes. 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.

OBJETIVO

- ❖ La preparación de medios de cultivo es para que identifiquemos los microorganismos y bacterias.
- ❖ Conoceremos las técnicas para la preparación de un medio de cultivo para ciertas muestras.
- ❖ Con el objetivo de desarrollar habilidades y conocimiento sobre esta práctica.

MATERIAL

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

MÉTODO

1. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.

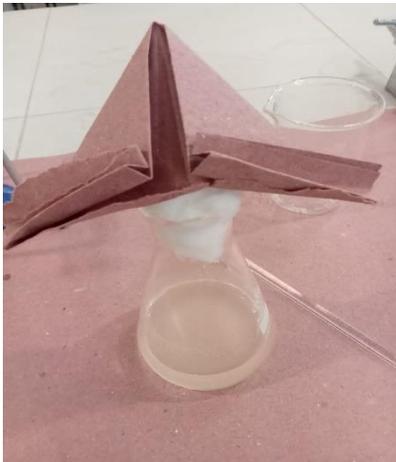
- ◆ Para empezar, comenzaremos con el bulir. En 100 mililitros de agua fría diluye 5 gramos de gredina, una vez diluida y completamente sin grumos, calienta hasta lograr diluir cualquier tipo de partícula sólida, no deberás dejar de bulir
- ◆ Cubrimos la boca del bazo en donde tenemos nuestra mezcla de gredina con una porción de algodón con el cual este debe de tener una presión necesaria con el cual al sostener de él en el aire se mantenga fijo y no tienda a salir de su lugar.
- ◆ Con un papel para evitar que se contamine la solución lo pondremos a hervir con el tapón a fuego lento para eliminar cualquier partícula o patógeno en la solución.
- ◆ Dejaremos enfriar cerca del mechero el cual es este se debe de mantener siempre encendido en todo momento ya que este mantiene un campo estéril libre de patógenos.
- ◆ En ningún momento se debe apagar el mechero y tampoco se debe separar la solución del mechero.

2. VACIADO

- ◆ Lavar previo a su uso cualquier material de cristalería, en especial las cajas Petri en este caso se utilizaron cajas Petri estériles de plástico.
- ◆ Desinfectar con una solución clorada y colocar en posición invertida, cercana al mechero.
- ◆ Marcar en la parte lateral la caja Petri previo a ser usada La caja Petri deberá cerrarse previo al vaciado.
- ◆ Se flameará la boca del matraz antes de hacer el vaciado
- ◆ 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.
- ◆ Tomar una caja con la mano dominante, colocarla frente al mechero y destaparla parcialmente.
- ◆ Verter aproximadamente 20 ml del medio en la primera caja de Petri con la mano contraria.
- ◆ Tapar inmediatamente la caja de Petri.
- ◆ Trasladar la caja debidamente tapada, evitando agitar el contenido de la caja el cual este no se debe de alejar a más de 50 cm del mechero.
- ◆ Flamear de nuevo la boca del frasco de la solución de gredina.
- ◆ Repetir el mismo procedimiento desde el inicio.

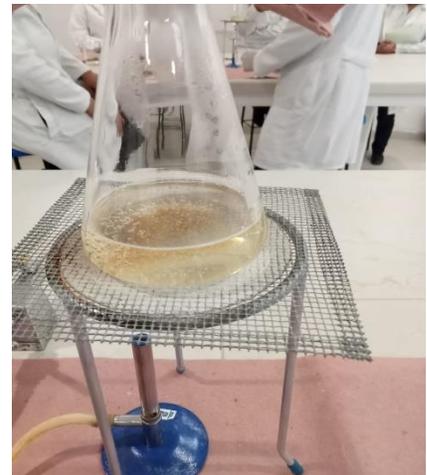
OBSERVACIONES

Al realizar esta práctica de la preparación de medios de cultivos pudimos observar la forma en la que la gredina comenzó hacer su función, fue diluida en 100 ml de agua fría, es decir que hasta que nos quedara una mezcla homogénea el cual después será cambiada al vaso matraz.



Tapamos con algodón y sobre cubrimos con papel estraza. Para luego colocarlo al mechero.

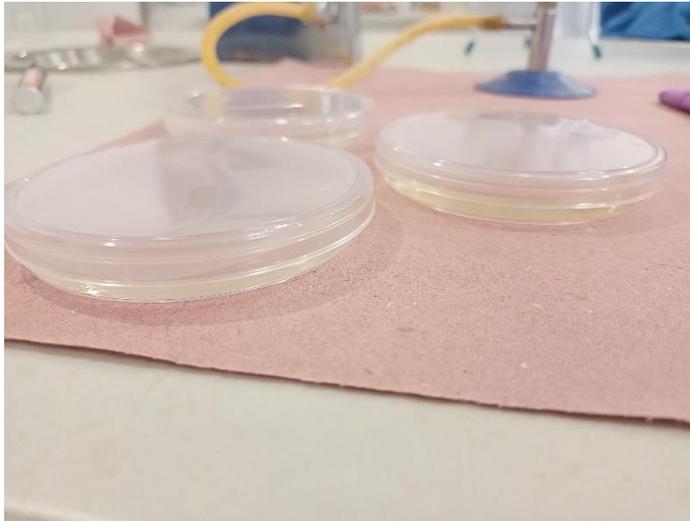
Se procede a calentar la mezcla por 5 minutos, esto nos sirvió para eliminar partículas, la gredina fue cambiando de color y se fue concentrando como se observa en la imagen y siempre se estaba al pendiente de que no hirviera.



RESULTADOS

Los resultados que obtuvimos fueron exitosos y pudimos realizar nuestros medios de cultivo con el cual realizaremos por un medio importante cual dejaremos reposar por unos días para que se solidifique y podamos darle continuidad con la siguiente práctica.

Se realizó 3 pruebas de cultivo en el cual le pusimos a cada una de las cajas Petri número de equipo y grupo, para luego llevarlas a guardar cuidadosamente sin abrirlas.



CONCLUSIONES

Los resultados que obtuvimos fueron los deseados y exitosos se consiguió 3 campos de cultivos, mientras tanto se dejó reposar, los cuales nos servirán para la siguiente práctica en donde realizaremos el cultivo microbiano.

CUESTIONARIO

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

En esta práctica se debe de evitar hablar ya que de esta forma contaminaríamos los frascos de cultivo que realizaremos y no podríamos lograr el objetivo con ellos, es por eso que se recomienda no hablar en todo momento y que sea solo una persona que realice el

procedimiento ya que cada vez que hablamos soltamos pequeñas partículas de salivas y esta portan bacterias que ocasionarían un fracaso en esta práctica.

¿Qué son los medios de enriquecimiento?

Los medios de enriquecimientos son sustancias que se obtiene de fluidos con el objetivo de hacer un cultivo con los campos realizados, en esta proactiva el medio que trabajamos fue de la saliva de las paredes de las amígdalas en donde en un are en donde la boca almacena los restos de alimentos.

Investigue sobre las buenas prácticas en un laboratorio de microbiología.

Debemos de tener una buena organización ya que con esto actuales es de gran importancia, se procura que todo se desarrolle de acuerdo con las normas establecidas y de esta manera comprobar que todos los procesos se lleven a cabo de acuerdo a lo programado que se realizaran o actividades que se pondremos en práctica.

De acuerdo al uso del medio de cultivo, éstos se clasifican en:

- Medios de enriquecimiento: son medios líquidos que favorecen el crecimiento de un tipo de microorganismo en particular. Permiten aumentar el número de microorganismos de ese tipo. Usualmente contienen una o más sustancias inhibitoras del crecimiento de los microorganismos con excepción de los que se quieren cultivar.
- Medios selectivos: son parecidos a los de enriquecimiento, se diferencian por ser medios sólidos y están diseñados para el aislamiento de microorganismos específicos.
- Medios diferenciales: son medios que contienen indicadores de productos derivados de la actividad microbiana de los microorganismos. No contienen ningún tipo de sustancia con actividad antimicrobiana. Permiten revelar características fisiológicas de los microorganismos.

Los medios de cultivo se pueden preparar en el laboratorio a partir de cada uno de sus constituyentes básicos, o por simple rehidratación de productos asequibles comercialmente (medios de cultivo deshidratados). Generalmente se prefiere el uso de los medios de cultivo deshidratados porque, además de simplificar el trabajo, con ellos se tiene mayor probabilidad de obtener resultados reproducibles. Para su preparación se deben tener en cuenta los siguientes aspectos:

- Prepararlos sólo a partir de productos que provengan de fabricantes o proveedores que suministren productos de calidad.
- Utilizar agua destilada o desmineralizada con una calidad microbiológica y fisicoquímica adecuada.
- Utilizar materiales de vidrio bien lavados y enjuagados con agua destilada o desmineralizada.
- Controlar el tiempo y la temperatura recomendada durante su esterilización. Nunca se deben exceder las condiciones señaladas por el fabricante.

PRÁCTICA #3 CULTIVO MICROBIANO.

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.

Objetivo:

- Aprender la técnica de siembra adecuada dependiendo de la consistencia del medio de cultivo y la finalidad de dicha siembra
- Manipular los medios de cultivo en placa para obtener

Introducción.

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. Es necesario, entonces, obtener un cultivo puro. Se trata de separar una especie bacteriana de todas las demás que comparten su hábitat para poder estudiar sus características culturales, morfológicas y fisiológicas con lo cual lograr una adecuada identificación.

Material.

- Alcohol.
- Jabón.
- Porta y cubre objetos. Guantes. serillos
- Cajas Petri con medio de cultivo
- Mechero
- Medios de cultivo elaborados en la práctica anterior
- Caja de material
- Hisopos
- Asa bacteriológica

PROCEDIMIENTO

- Limpiar el área de trabajo antes y después de la sesión de laboratorio con la solución sanitizante.
- Trabajar siempre al lado de la flama del mechero. Esta flama crea a su alrededor una atmósfera estéril y además se utilizará para esterilizar o flamear el material usado durante la siembra (asas bacteriológicas)
- Las asas deben esterilizarse antes de utilizarlas y una vez esterilizadas deben enfriarse antes de tomar la muestra de microorganismos con objeto de no destruirlos con el calor. El asa se enfría sobre el agar o sobre el material de vidrio (en zonas estériles del material de vidrio).
- No en el caso de hisopos pues estos ya están estériles
- Después de utilizar las asas se vuelven a esterilizar.
- Las bocas de los tubos y matraces de vidrio se flamean ligeramente una vez destapados antes y después de la inoculación.

- Antes de tomar la muestra, póngase la mascarilla y los guantes.
- Coloque al paciente sentado frente a usted y pídale que trague fuertemente dos veces.

- Pida al paciente que vea hacia arriba, con la boca abierta, que saque la lengua y diga AH.
- Con un abate lenguas, 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 para observar lesiones u otras características.

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.



Tomamos el hisopo, rosando la parte del algodón con el área de las amígdalas haciendo movimientos de arriba hacia debajo de manera que quede empapado el algodón.

Se realiza una técnica de barrido en forma de espiral en 4 secciones en la caja Petri en donde se realizará el campo de cultivo.

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

Se procedió a flamear el hisopo para luego realizar un frotado con la muestra obtenida en el hisopo. Colocamos una gota de agua en la porta objetos haciendo un deslice, para luego flamearlo y esperar a que se seque.



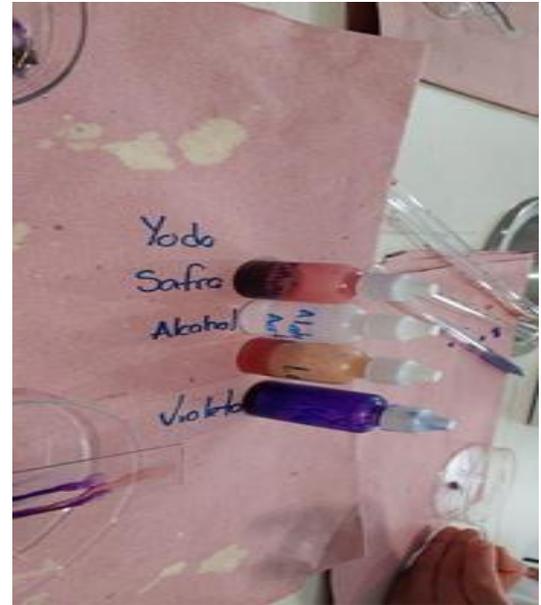
PARTE IV. Tinción de Gram

1. Cubra la lámina con solución Cristal Violeta y déjelo actuar por un minuto.
2. Lave con agua de chorro y escurra.
3. Cúbrela con solución de Lugol durante un minuto.
4. Lávela con agua de chorro y escurra.
5. Cubra el frotis con alcohol acetona por un minuto.
6. Lave con agua de chorro y escurra.
7. Cubra la lámina con solución de Safranina durante un minuto.
8. Escurra el colorante y lave la lámina con agua de chorro. Escurra y deje secar a temperatura ambiente. Se utilizaron los siguientes sustancian que son la tensión de gran: que tiñe la membrana.

se utilizó:

- ❖ Yodo: para separar los componentes.
- ❖ Safranina: da una tinción de contraste.
- ❖ Alcohol: deshidrata y refleja.
- ❖ Violeta: para sellar y se pueda observar mejor las bacterias.

Que son la tinción de Gram, que tiñe la membrana.



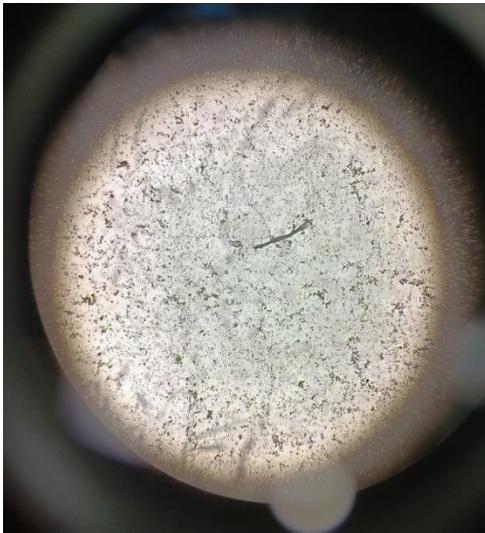
Observación.

Al realizar la obtención de la muestra de sudada faríngeo pudimos notar que uno de los compañeros presentaba caries por lo que eso sería un detalle en la evolución de patógenos y bacterias en nuestro cultivo.



Se observan bacterias y células de escamación. Son GRAM positivas ++

Como se puede apreciar en la imagen son GRAM positivas +++ y presentan bacterias en abundancia y célula de esmcación.



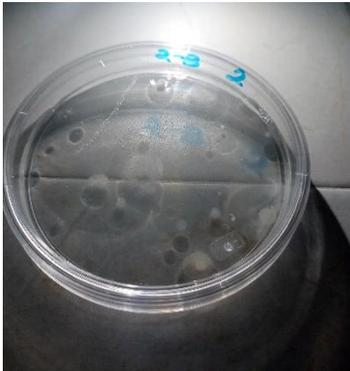
Podemos observar bacterias, célula de escamación y residuos de comida y por el color morado que presenta son GRAM positivas ++.

Resultados.

Pudimos observar el crecimiento en nuestras cajas Petri los cuales cada una de ellos presenta características principalmente su

densidad y su expansión de cada una de ellas los cuales nos enseña de la capacidad de evolución en corto tiempo de bacterias.

Uno de ellos tuvo mayores colonias en el cual la gredina comenzó a disolverse y llegar a tomar un color blanco claro, como transparente.



En la primera muestra se puede observar el crecimiento del cultivo donde se observó un aproximado de 26-27 colonias.

En la segunda muestra se puede observar que va disminuyendo las colonias y se contabilizó de 15 a 17 colonias.



En el tercer cultivo podemos apreciar que hay menos colonias que la muestra 1 y 2, en esta contamos de 8 a 10 colonias.



Conclusión.

En esta práctica pudimos observar y aprender de la importancia de cómo realizar muestras de cultivos y como tener una buena técnica en

la esterilización e los materiales y la importancia de seguir al pie las instrucciones para realizarlo ya que al omitir uno o cometer un error todo el procedimiento sería un fracaso y no se parias obtener los resultados deseados.

Cuestionario

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

Son métodos en donde se puede asilar las bacterias para por estudiarlas con facilidad y poder tener un mayor manejo de ellos como la utilización del porta y cubre objetos y los campos de cultivo.

2.- ¿Qué es flamear?

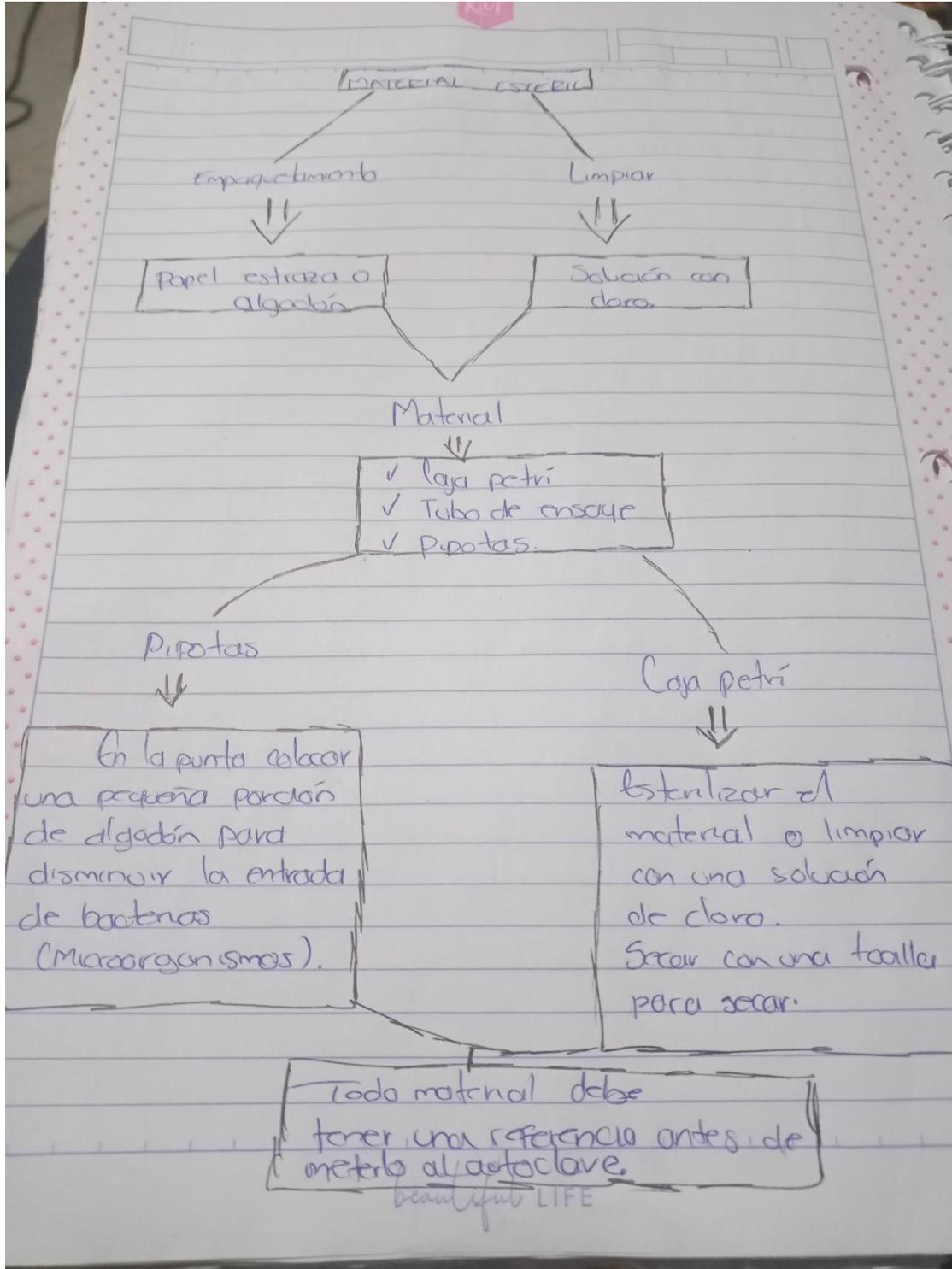
Flamear es la técnica de pasar consecutivamente un objeto en la lumbre dl mechero en la parte de la llama azul en el cual esta es la parte de la flama es más caliente y con esto se pueden eliminar los macro organismos y evitar que se contamine y que pueden estar en dicho objeto como la porta objetos.

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

- se realizará con una distancia cerca al mechero a 30cm.
- Se abrirá la caja Petri de un lado sin abrirla por completo.
- con la muestra de sudado faríngeo que extrajimos con un hisopo estil realizar la siembra por estrías en 4 sesiones.
- Tapar la caja Petri y dejar a un lado.
- Repetir el procedimiento con las demás muestras.

ANEXOS

Diagrama de flujo practica #1



28 03 22

- Comenzamos por echarle jabón y agua a la mesa.
- Desinfectamos con alcohol toda la mesa.
- Procedimos a lavar los materiales con agua y jabón para después secarlos.
- Colocamos 100 ml de agua, agregamos 5 grs de gelatina lo diluimos en el vaso presiptado.
- Una vez que ya no tenga grumos lo colocamos en el vaso matraz.
- Tapamos con algodón y sobre cubrimos con papel extraaz.
- Procedimos a colocar la maya arriba del mechero para luego colocar el vaso matraz ya tapado
- Y se fue observando como la gelatina cambia de color.
- Una vez que comenzó a salir burbujas esperamos 5 minutos.
- Luego que pasó los 5 minutos, retiramos el vaso matraz de la maya.
- Lo colocamos arriba de un trapo y esperamos de manera que se pueda manipular.
- Procedimos a flamar las tijeras, para luego cortar la bolsa de la caja petri.
- Se sacó 3 cajas petri y lo colocamos en el papel extraaz.
- Se agarró una caja petri con la mano izquierda y con la derecha retiramos el papel y el algodón del vaso matraz.
- Para luego flamarlo y proceder a rellenar la caja petri 1/3.
- Procedimos hacer lo mismo con las 3 cajas petri.
- Una vez realizado, la dejamos arriba del papel extraaz.

LOVE yourself

KU

diferencia
características
tabla

- Rosa.

~~30/02~~

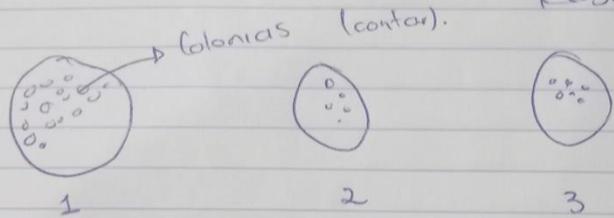
→ Luego exponerlos a que se seque unos 5 minutos, para luego lavarlos con agua corriente. (abs) #2

→ Se observan bacterias, células de escamación.
- Son gram positivas ++

→ Muestra #1
Abundancia +++ son gram positivas.
- Células bacterias

→ Muestra #3
Son Gram positivas +++
- bacterias.
- Residuos de comida

Resultados



Si hubo crecimiento la práctica fue exitosa.

→ Cada conglomerado es una colonia

Conclusiones

Continuar si la práctica fue exitosa.

Se logra a través de la práctica.

Referencias

CULTIVO, P. D. (04 de 04 de 2022). *Clasificación de los medios de cultivo* . Obtenido de ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Preparación_de_medios_de_cultivo.pdf.