

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y CULTIVO MICROBIANO

Nombre del alumno: **Jazmín Mazariegos Aguilar**

Fecha: **04/04/2022**

Docente a Cargo: **Ma. De los Ángeles Venegas Castro**

Mesa: **#3**

Objetivo:

- Conocer las técnicas de preparación y uso de medios de cultivo
- Manipular los medios de cultivo en placa para obtener
- Aprender la técnica de siembra adecuada dependiendo de la consistencia del medio de cultivo y la finalidad de la siembra

Introducción.

El Medio de Cultivo es una técnica de laboratorio donde consta de un gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir el crecimiento de virus, microorganismos, células, tejidos vegetales o pequeñas plantas. Al crecimiento de los microorganismos se le denomina Cultivo.

Se utilizó agar para el medio cultivo que se usa normalmente como rutina para todo tipo de bacteria, es muy útil porque permanece sólido incluso en temperaturas altas y el crecimiento bacteriano lo hace en la superficie por lo que se distinguen mejor las colonias pequeñas por eso la base de muchos medios de cultivo es agar con una infusión de extractos de carne y Peptona a los que se añade otros ingredientes.

Para realizar el cultivo microbiano se debe tener mucho cuidado con que no se contamine, los procedimientos se deben hacer con técnica aséptica para que se evite la contaminación de las muestras o cultivos puede ayudar trabajar cerca de la flama del mechero así cualquier microorganismo se muere por el calor además que la flama será útil para esterilizar el material con el que se trabajara, las asas se tienen que esterilizarse antes que se ocupen y se dejan enfriar un poco para tomar la muestra y después de usarlas se vuelven a flamear

Material

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

El material marcado con amarillo es el que te corresponde traer.

PROCEDIMIENTO

I. preparación del medio de cultivo

- En 100 ml. De agua fría diluye 5 grs. De grenetina, no tiene que verse con grumos y se calienta hasta que se logre diluir cualquier tipo de partícula sólida.
- Se cubre con papel para que así se evite que se contamine la solución, hervir con el tapón a fuego lento para eliminar cualquier m.o.o y se deja enfriar cerca el mechero
- Se debe de marcar una cruz por debajo de la caja Petri
- Se debe de acercar el matraz y la caja a la flama y se vacía una cantidad de la mitad de la caja aproximadamente 20 ml y se debe tapar inmediatamente, se tiene que flamear la boca de Erlenmeyer.
- Se mantiene cerca de la flama.

2. toma de inóculo

- Con el mechero encendido se esteriliza el asa bacteriológica y se coloca hasta que tome un color rojo vivo.
- Se toma el recipiente de la cepa con la mano que mejor manejes y se debe introducir el asa y se toca un extremo del agar donde no hay crecimiento
- Se debe dejar 48 a 72 hrs las cajas petris donde se encuentre el cultivo para que haya un crecimiento bacteriano.
- Para la siembra se debe tomar la placa Petri con la mano izquierda por la base con los dedos medio a meñique y la tapa con los dedos pulgar e índice. Se debe abrir la placa cerca del mechero
- Se debe flamear el asa y tomar la muestra por los cuadrantes y se repite el proceso.

Observaciones:

Preparación de medio de cultivos

Primero se comenzó lavando y desinfectando todo el material que se iba a ocupar, luego se conectó el mechero al gas y se encendió el mechero



1. se agregó 100ml de agua al vaso de precipitado y $\frac{1}{2}$ cucharada de grenetina y se utilizó el agitador para mezclar el agua que tenía grenetina y de esta forma no le quedarán grumos y se colocó en el mechero y se calentó mientras se calentaba se movía la grenetina con el agitador hasta que tuviera burbujitas, mientras se realizaba este proceso todos los integrantes del equipo no hablaban para que el medio de cultivo no se contaminara.
2. Se quitó vaso precipitado del mechero, y se colocó en la mesa de trabajo sobre el papel estroza, se vació el contenido en el matraz y se colocó un tapón que se hizo con algodón y encima un gorrito de papel estroza.



3. Se colocó el matraz en el mechero hasta que el contenido estuviera en su punto de ebullición es decir cuando ya empezara a burbujear para así poder colocarlo sobre el papel estroza hasta que se enfriara.



4. En 3 cajas Petri se les colocó el nombre de la carrera y # de mesa para poder identificar cuál era nuestra. Las cajas Petri se flamearon y se colocó el contenido de la grenetina ya que había pasado por este proceso con el debido cuidado de que no se contaminara, este proceso se repitió 3 veces con las 3 cajas, y se dejaron reposar las sustancias por 2 días en esos días la sustancia tomó una consistencia gelatinosa.

Toma de inóculo y siembra:

1. Se siguió con la práctica luego de 2 días, como siempre primero limpiamos nuestra mesa de trabajo, se lavaron los instrumentos a usar, se limpió la mesa, limpiamos el microscopio y se preparó los materiales.
2. se encendió el mechero y se fueron a traer las cajas Petri con el medio de cultivo para esta práctica llevamos un cultivo que era un pedazo de carne, en las cajas Petri por debajo se marcó una cruz con marcador para así poder dividirlo en 4 cuadrantes.



3. El trozo de la carne era de un pedazo de puerco el cual ya tenía varios días tenía un olor muy feo. Primero se flameo la caja con el medio de cultivo y luego se flameo el asa y se pasó por la carne y después al medio de cultivo, se froto en forma de zic-zac, en los 4 cuadrantes.



5. El siguiente cultivo era de tomates y se flameo el asa y la caja Petri donde había medio de cultivo, se pasó el asa una vez que estuviera flameado sobre el cultivo y luego sobre el medio de cultivo en forma de zic-zac en los cuadrantes sin que chocaran.



6. Y el tercer cultivo fue una tortilla, primero se flameo el asa y el medio de cultivo, luego el asa se pasó al cultivo y luego a la caja Petri que contenía el medio de cultivo y de igual manera en forma de zic-zac sin que chocara.



Tinción de cultivo

-Con el asa se tomó una muestra de un trozo de

Carne de puerco y se le hizo un frote sobre el portaobjetos, se colocó el portaobjetos en una caja Petri y se le colocó 2 gotas de colorante de Violeta de Genciana.

Después se dejó escurrir el colorante para que se cubriera por completo el frotis y tuviera una buena tinción, después se agregaron 2 gotas de yodo y se colocó solución de

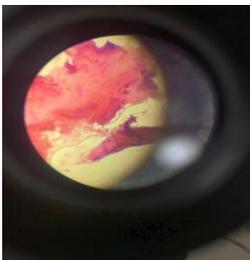
Acetona-Alcohol hasta que el color morado se le fue, para que se le

Pudiera colocar 4 gotas decolorante de Safranina y al finalizar el tiempo, se llevó únicamente el portaobjetos al lavadero para retirar los restos de colorantes.

Y Se colocó un cubreobjetos al portaobjetos para llevarlo al microscopio.

Y Con el objetivo de 10 se observaban más bacterias Rosa” **Negativas: 3/3**” que

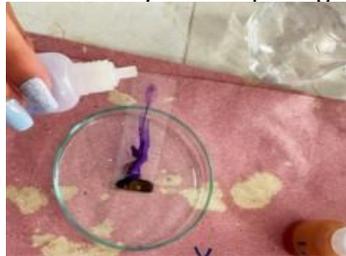
Bacterias moradas **“Positivas: 1/3”**.



- Para la muestra de un jitomate le hicimos un frotis sobre el portaobjetos y le colocamos 2 gotas de colorante de Violeta de Genciana y esperamos tiempo después se dejó escurrir el colorante para que de esta manera se cubriera por completo el frotis y tuviera una buena tinción, luego se le agregaron 2 gotas de yodo y se colocó solución de Acetona-Alcohol hasta que el color morado se le fuera, para que se le pudiera colocar 4 gotas decolorante de Safranina. Al finalizar el tiempo, se llevó el portaobjetos al lavadero para retirar los restos de colorantes y Se colocó a la muestra un cubreobjetos y se llevó al microscopio, Con el objetivo de 10 se observaban más bacterias moradas "Positivas: 3/3" y pocas bacterias rosas "Negativas: 2/3".



3. Para la muestra de una tortilla se tomó con un asa y se le hizo un frotis sobre el portaobjetos, Le colocamos 2 gotas de colorante de Violeta de Genciana y esperamos, después se dejó escurrir el colorante para que de esta manera se cubriera por completo el frotis y tuviera una buena tinción, luego se le agregaron 2 gotas de yodo y se colocó solución de Acetona-Alcohol hasta que el color morado se le fue, Al finalizar el tiempo, se llevó únicamente el portaobjetos al lavadero para retirar los restos de colorantes, Se le coloco el cubreobjetos al portaobjetos para llevarlo al microscopio y con objetivo de 10 se observaba un nudo que contenía más bacterias moradas Positivas: 3/3 y pocas bacterias rosas Negativas: 1/3 , y nos dimos cuenta que las bacterias estaban cristalizadas ya que tinción no fue muy buena que digamos.



Resultado de cultivos

El día de hoy fuimos a ver los resultados de las muestras luego de dejarlas reposar por 5 días y vimos como las bacterias comenzaron a comer el medio de cultivo Y se volvió líquido y aun contaba con presencia de bacterias.



Resultados

El objetivo si se cumplió ya aprendimos a crear el medio de cultivo y esto sin que se contaminara y logramos hacer una buena tinción.

Conclusión:

Fueron unas buenas prácticas, a mi parecer me resultó algo agotadoras pero aprendimos mucho y tuvimos unas buenas muestras.

Cuestionario

1. **¿Por qué no se debe hablar durante los procedimientos de determinación de presencia de microorganismos?** Cuando manejamos cualquier tipo de muestra debemos evitar que microorganismos presentes en el ambiente se introduzcan en nuestros cultivos contaminándolos, o que los microorganismos de la muestra nos contaminen a nosotros. Por eso siempre hay que trabajar en condiciones de esterilidad.
2. **¿Qué son los medios de enriquecimiento?** Son aquellos que favorecen el crecimiento de determinado tipo de microorganismo sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento de los demás, y 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.**
El laboratorio de Microbiología es un lugar convenientemente habilitado para trabajar con Microorganismos. Se requiere un ambiente limpio y ordenado. 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?** 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.
5. **¿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.
6. **¿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 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. Sobre el medio quedan separadas e inmovilizadas las células bacterianas.

