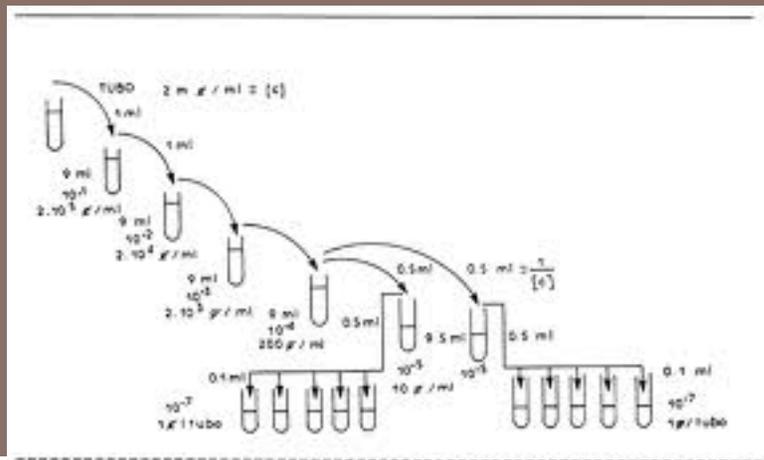


LAB #3

ESTERILIZACIÓN Y TÉCNICAS DE CULTIVOS PUROS



Objetivos



- Distinguir los métodos y equipo de seguridad en el laboratorio de microbiología
- Diferenciar las distintas técnicas de dilución: esparcido, estriado y vertido en plato

Preparación de Medios

- Medios comerciales deshidratados
- Recipientes: Tubos y Platos de Petri
- Esterilización:
 - Calor húmedo:
 - autoclave (121° C 15 lbs. presión 15 min.)
 - Calor seco
 - Filtración
 - Luz ultravioleta
 - Óxido de etileno (gas)

Calor Seco

- Materiales de vidrio y metal. Materiales envueltos en aluminio se someten a una temperatura de 170° durante al menos 90 minutos.



Calor húmedo



- Para soluciones acuosas y plásticos
- Material se somete a una temperatura de 120° durante 20 minutos en una atmósfera de vapor de agua a elevada presión (15lbs).

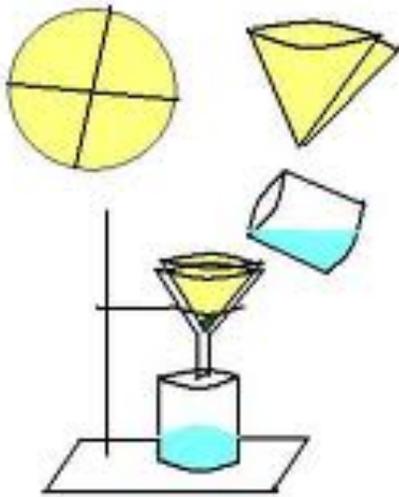
Filtración

- Para esterilizar soluciones termolábiles, a las que se hacen pasar a través de un filtro con un tamaño de poro que permite el paso de la solución, pero no de los microorganismos.



Filtración

Filtros bacteriológicos (0.1 a 0.22 μm , 0.45 μm)



Papel de
filtro

Técnica de
filtración. En
el papel
queda el
sólido.



Esterilización química

- Óxido de Etileno
- Se eliminan una vez finalizado el proceso de esterilización
- Radiación
- Se pueden utilizar para habitaciones y materiales de plástico.



TÉCNICAS DE CULTIVO



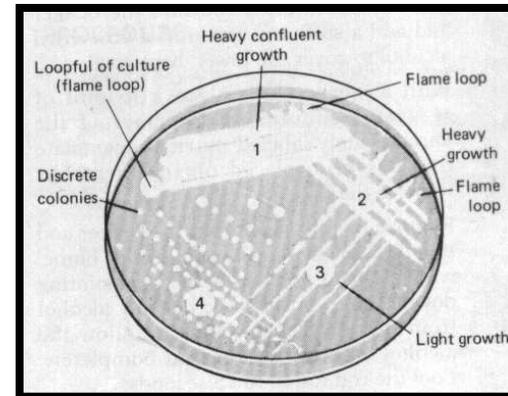
Dilución

- Permite el aislamiento de colonias discretas que pueden ser subcultivadas en cultivos puros.

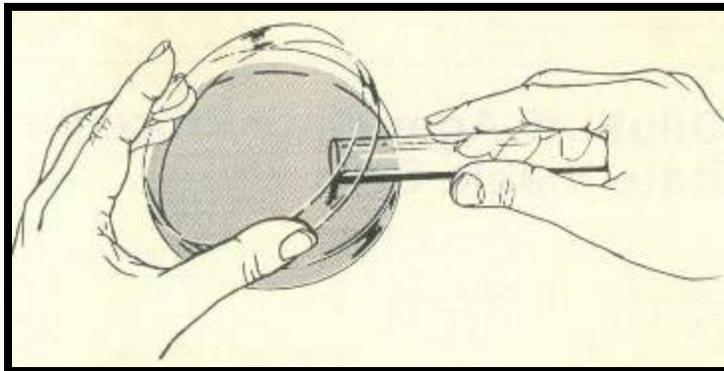
- Técnicas

- a. Estriado en plato
- b. Vertido en plato
- c. Esparcido en plato

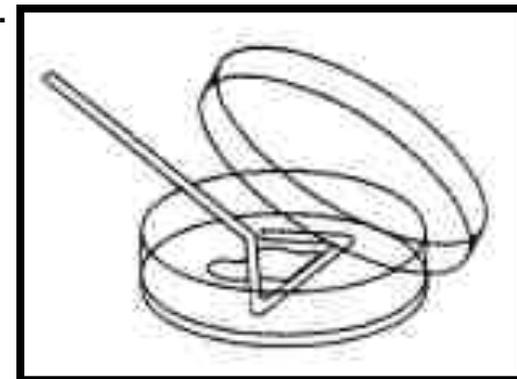
A.



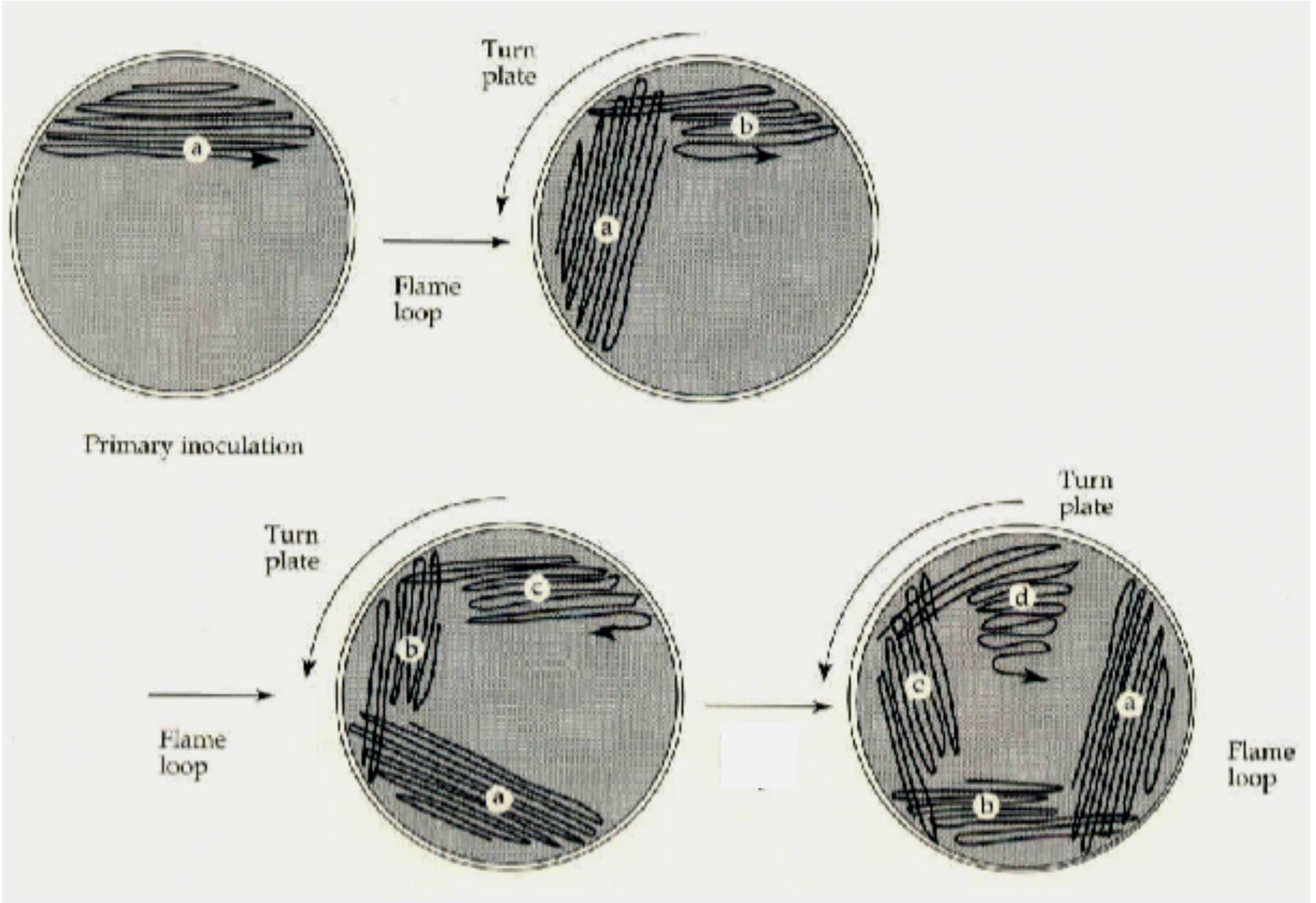
B.



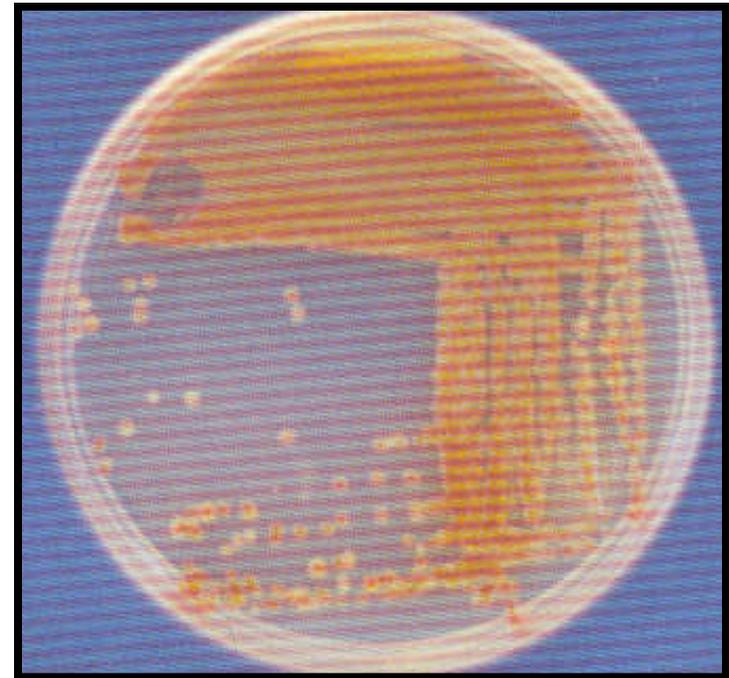
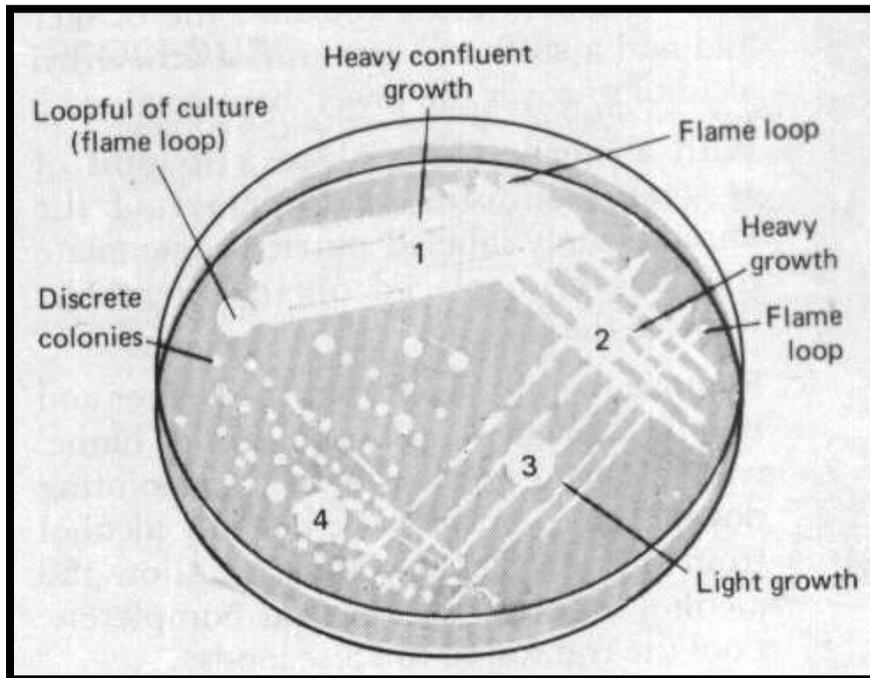
C.



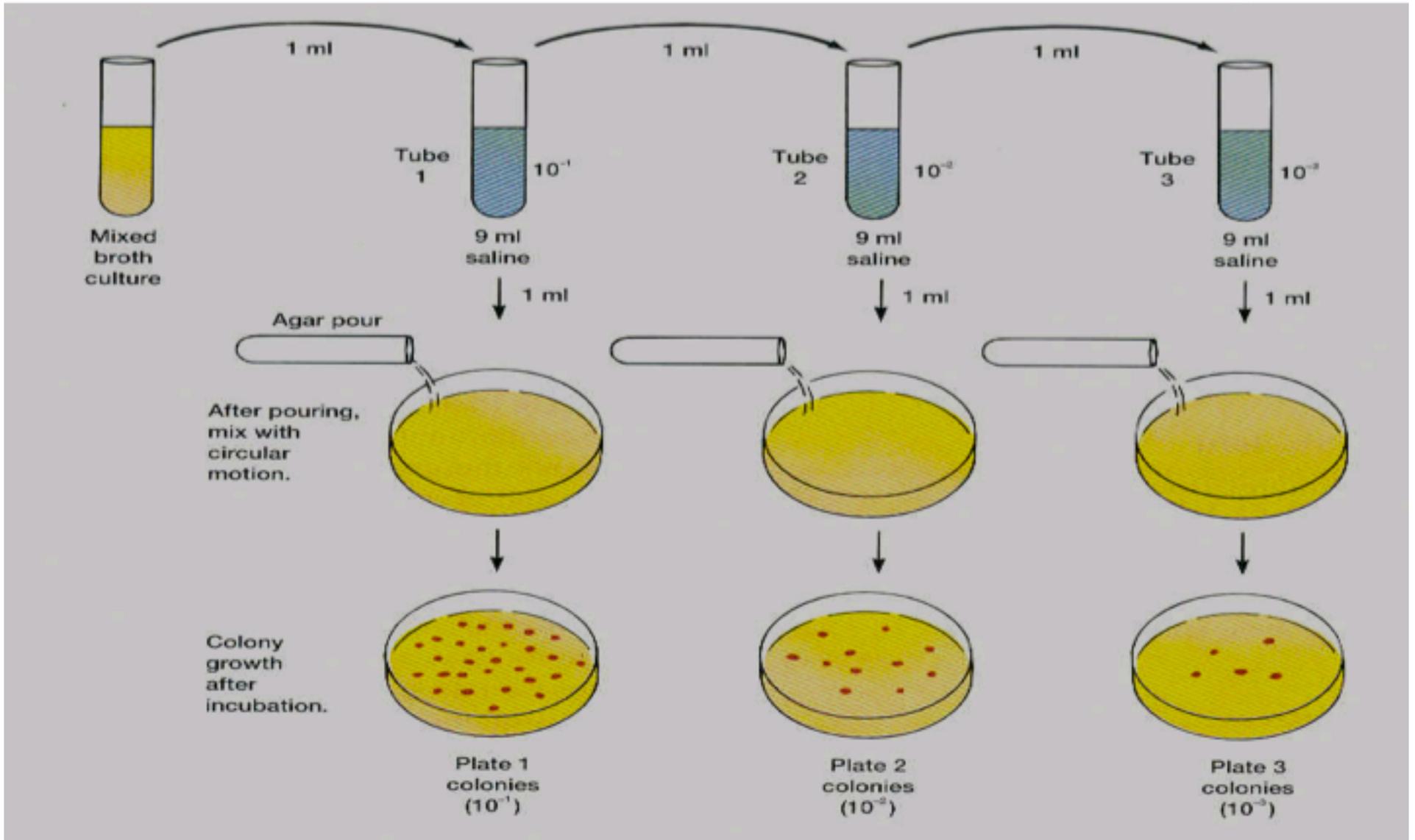
ESTRIADO EN PLATO



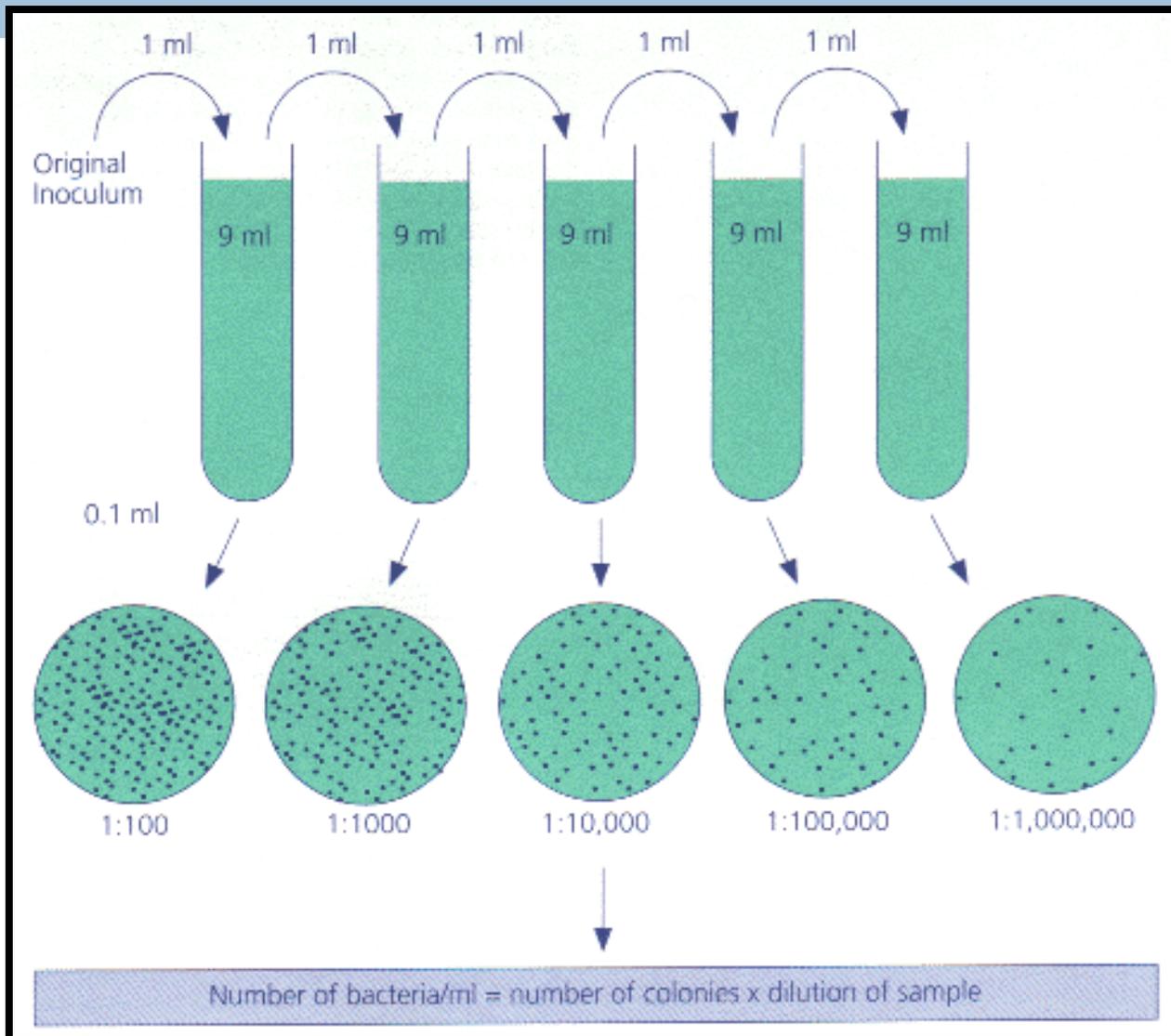
Estriado en plato (Resultado)



Vertido en Plato



Diluciones En Serie



□ Recuento de Bacterias

■ Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

UFC/ml = # de colonias x 1/ factor de dilución

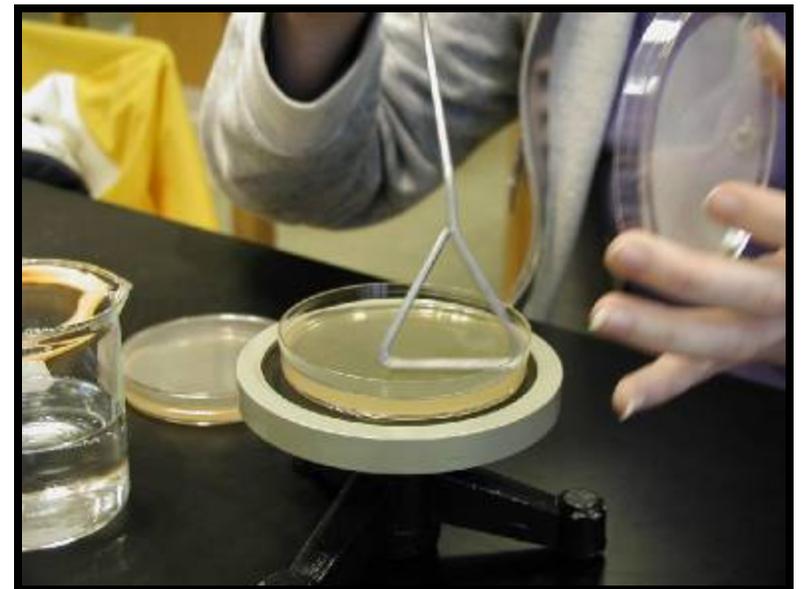
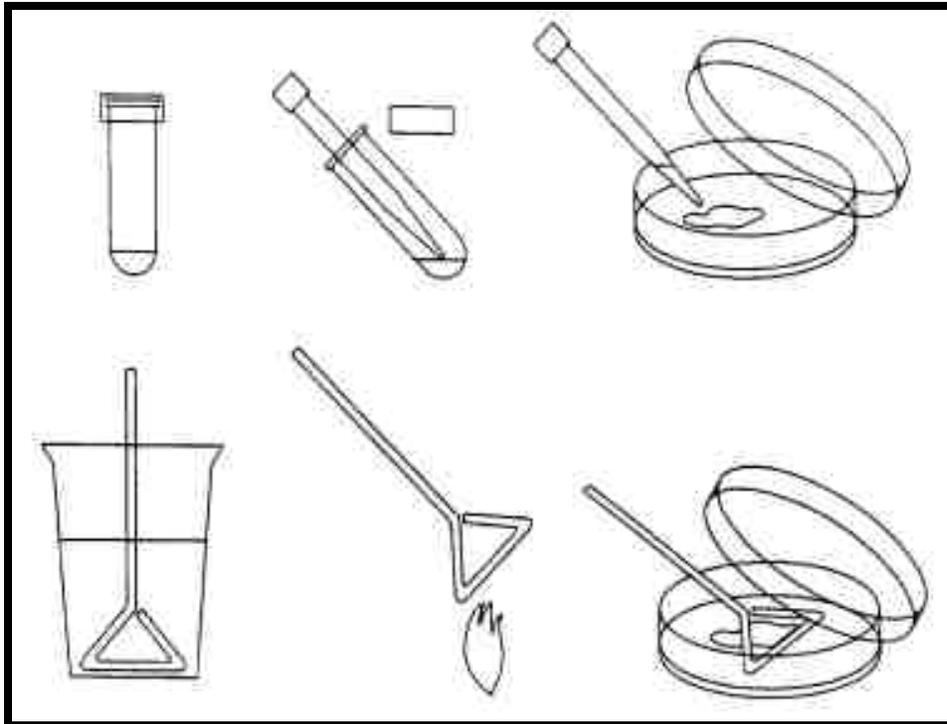
Consideraciones:

Contar platos con 25 a 250 colonias

Platos con <25 reportar como TFTC

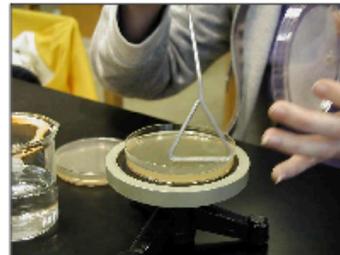
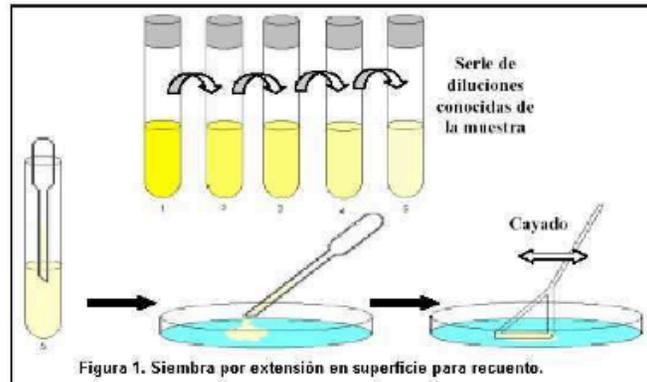
Platos con >250 reportar como TNTC

Esparcido en plato





EXTENSIÓN EN SUPERFICIE CON CAYADO



PARTE EXPERIMENTAL

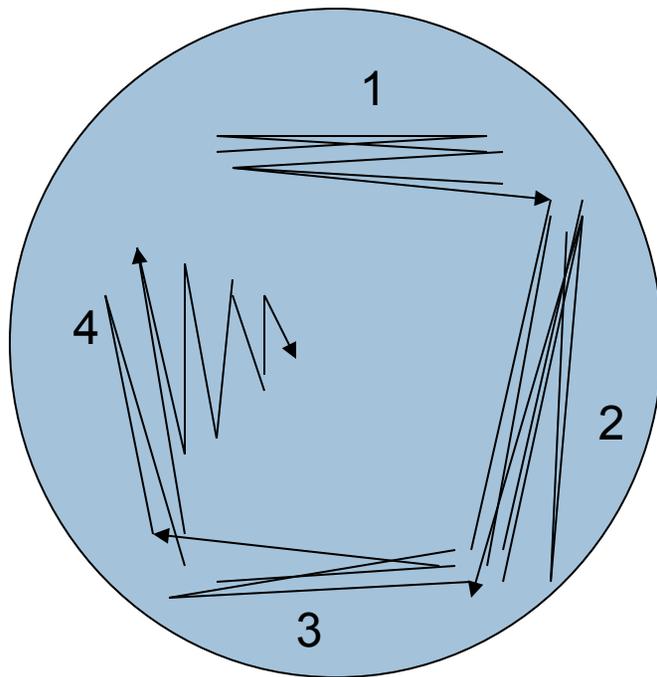


A. Estriado en Placas

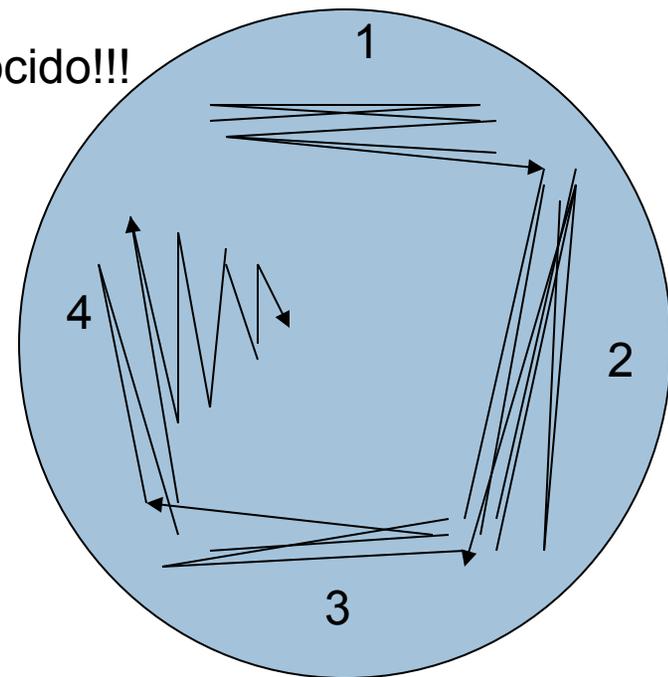


- Con una aguja de inocular “loop” tome una muestra del tubo de la bacteria del desconocido y realice un estriado.
- Solo tomará la muestra del tubo al inicio del estriado

Recuerde utilizar las técnicas
ascépticas necesarias para que evite
contaminación de la muestra.



Desconocido!!!



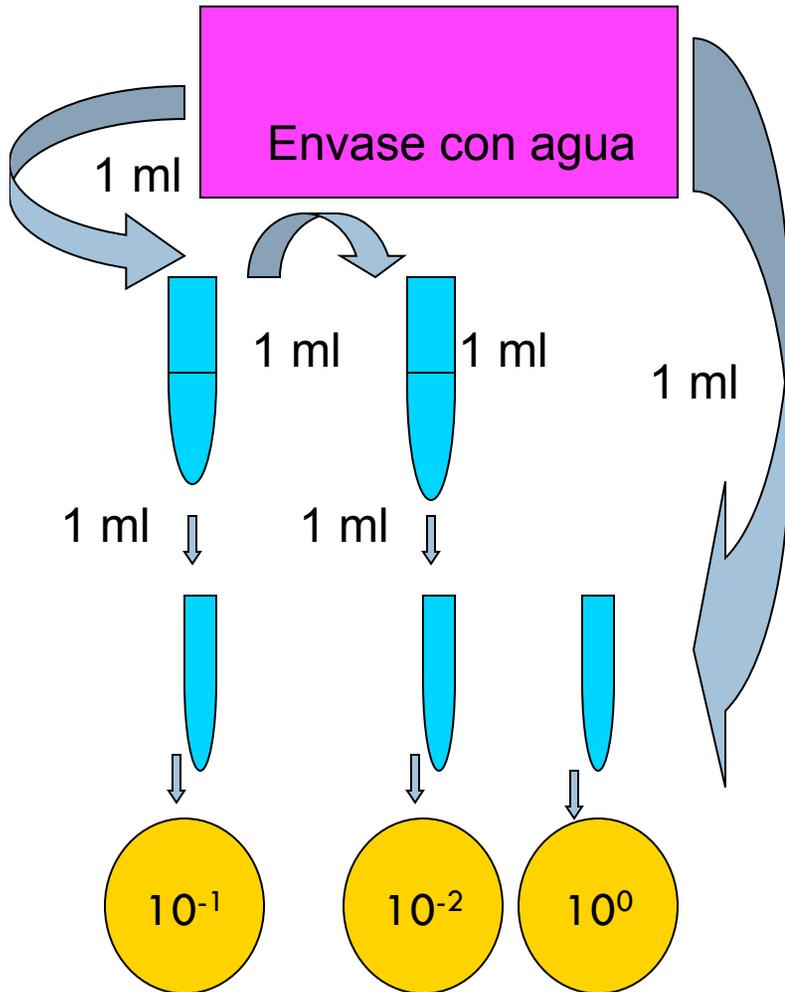
Flamee la aguja antes de
tocar la muestra y
después de pasarla por el
medio

B. Esparcido en Plato

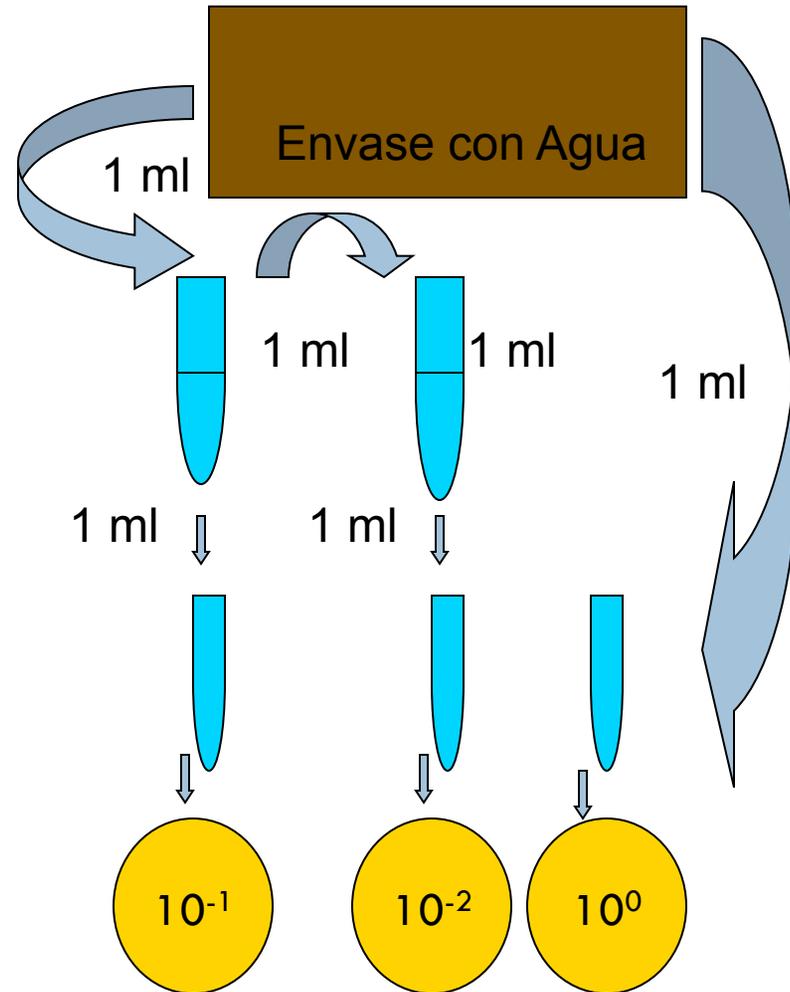
- La mitad del grupo se lavará las manos con agua y jabón la otra mitad **no**.
- Todos los estudiantes se enjuagarán las manos en los envases previamente identificados (los que tienen las manos lavadas en uno y la otra mitad del grupo en el otro)
- Se hará una dilución en serie utilizando esa agua.

Esparcido en plato

**Grupo con
manos lavadas**

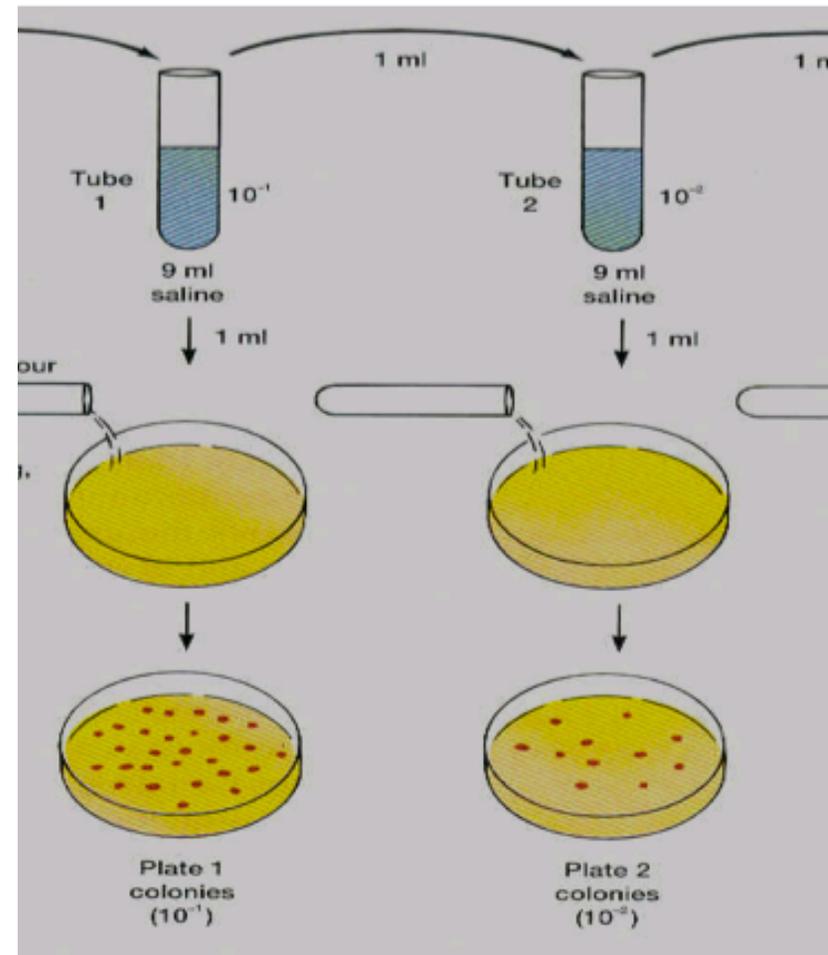


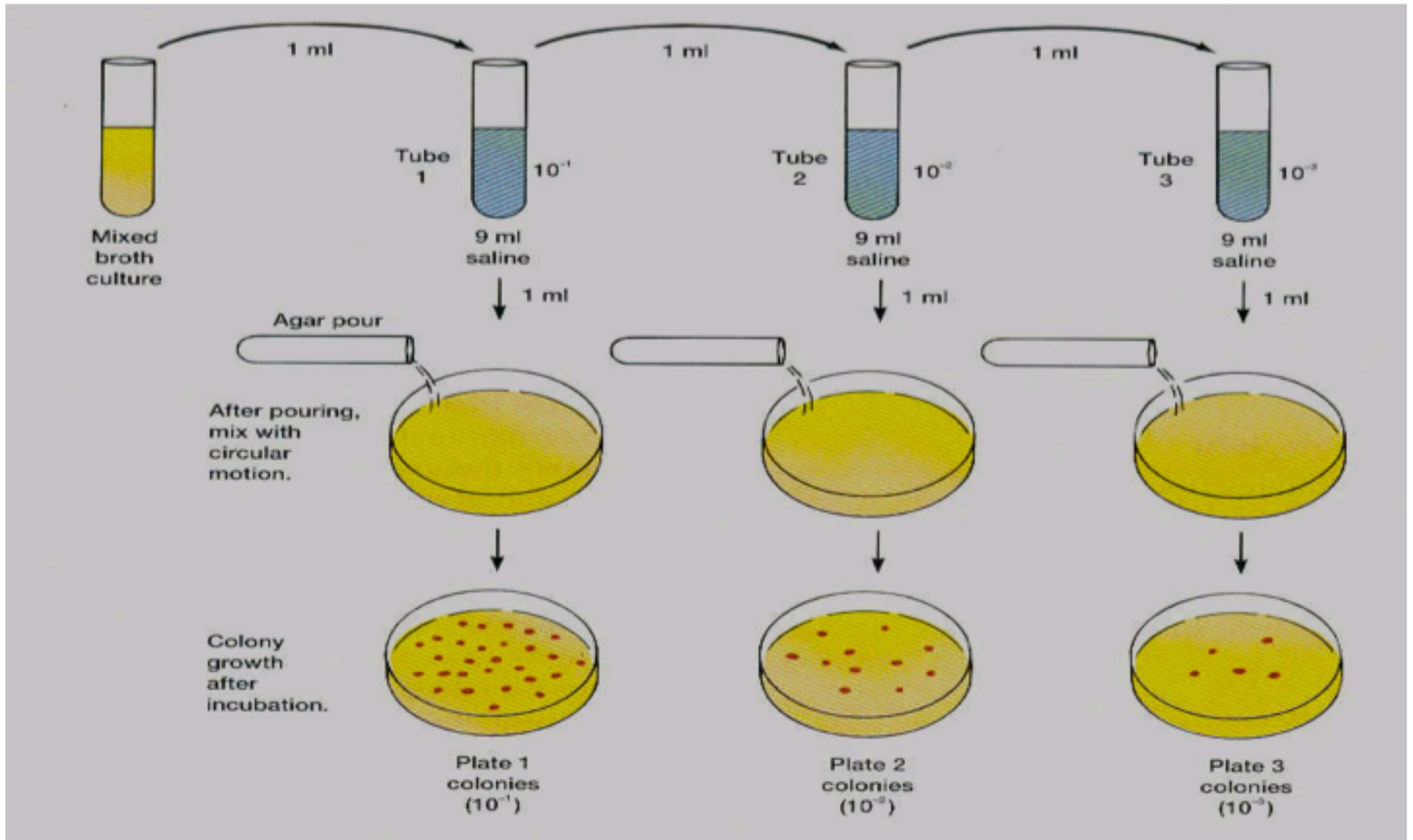
**Grupo con
manos sin lavar**



Vertido en plato

- Tomar una muestra de una cepa conocida adicionar a un tubo de agar líquido y vertir en una placa petri.





- ¿Dónde crees que vas a ver más crecimiento de bacterias?
- ¿Porqué?



Recapitulación



- ¿Cuáles son los métodos de esterilización más comunes?
- ¿Cuáles son las técnicas de dilución en serie?