



LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA  
LIC. EYDA MENDÍA DE CAMPOLLO



## Lectura e interpretación de resultados obtenidos con los medios de cultivo

### 1. Introducción.

La microbiología es el estudio de los microorganismos, grupo grande y diverso de formas de vida libre que existen como células aisladas o integradoras de grupos. Así pues, las células microbianas son diferentes de las células de los animales y las plantas que son incapaces de vivir aisladas en la naturaleza, en vista de que únicamente pueden sobrevivir como parte de organismos multicelulares.

Para la identificación del microorganismo se debe realizar una coloración o tinción de Gram. la tinción de Gram. es una tinción diferencial porque no todas las células se tiñen de la misma manera y permite discriminar entre dos grandes grupos de eubacterias, las eubacterias Gram. Positivas y Gram. Negativas.

Y puede aislarse un microorganismo conociendo previamente los requerimientos nutricionales y las condiciones ambientales óptimas para su crecimiento

### 2. Objetivos:

Que el estudiante:

1. Adquiera experiencia en el manejo de los materiales y técnicas básicas que se utilizarán a lo largo del curso en los trabajos prácticos.
2. Refuerce los conocimientos previos sobre el trabajo de laboratorio.
3. Coordine la parte operativa de trabajo en el laboratorio con las normas de bioseguridad.

### 3. Alcance

En esta práctica el estudiante reforzará los conocimientos previos, sobre el trabajo del laboratorio y la valiosa información que aportan el uso de diferentes medios de cultivos, para el aislamiento de bacterias y su importancia con la clínica, además de comprender el porqué de las medidas de bioseguridad en el trabajo de laboratorio.

#### 1. Antecedentes

Como primer paso en la identificación de los microorganismos, nos basamos en la coloración de Gram. en la cual, los microorganismos Gram. Positivos, como el *Staphylococcus aureus*, adquieren un color violeta después de la coloración de Gram. debido a que contienen una pared celular estructuralmente muy diferente a la de los microorganismos Gram. Negativos, como la *Escherichia coli*, que adquieren un color rosado. La diferencia en la coloración no se debe a reacciones químicas con ciertos componentes de la pared sino a la estructura física de la pared.

El desarrollo adecuado de los microorganismos en un medio de cultivo se ve afectado por una serie de factores de gran importancia y que, en algunos casos, son ajenos por completo al propio medio.

#### 1- Disponibilidad de nutrientes adecuados

Un medio de cultivo adecuado para la investigación microbiológica ha de contener, como mínimo, carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas. En muchos casos serán necesarias ciertas

vitaminas y otras sustancias inductoras del crecimiento. Siempre han de estar presentes las sustancias adecuadas para ejercer de donantes o captadores de electrones para las reacciones químicas que tengan lugar.

Todas estas sustancias se suministraban originalmente en forma de infusiones de carne, extractos de carne o extractos de levadura. Sin embargo, la preparación de estas sustancias para su aplicación a los medios de cultivo provocaban la pérdida de los factores nutritivos lábiles.

Actualmente, la forma más extendida de aportar estas sustancias a los medios es utilizar peptona que, además, representa una fuente fácilmente asequible de nitrógeno y carbón ya que la mayoría de los microorganismos, que no suelen utilizar directamente las proteínas naturales, tienen capacidad de atacar los aminoácidos y otros compuestos más simples de nitrógeno presentes en la peptona.

Ciertas bacterias tienen necesidades nutritivas específicas por lo que se añade a muchos medios sustancias como suero, sangre, líquido ascítico, etc. Igualmente pueden ser necesarios ciertos carbohidratos y sales minerales como las de calcio, magnesio, manganeso, sodio o potasio y sustancias promotoras del crecimiento, generalmente de naturaleza vitamínica.

Muy a menudo se añaden al medio de cultivo ciertos colorantes, bien como indicadores de ciertas actividades metabólicas o bien por sus capacidades de ejercer de inhibidores selectivos de ciertos microorganismos.

## **2- Consistencia adecuada del medio**

Partiendo de un medio líquido podemos modificar su consistencia añadiendo productos como albúmina, gelatina o agar, con lo que obtendríamos medios en estado semisólido o sólido.

Los medios solidificados con gelatina tienen el gran inconveniente de que muchos microorganismos no se desarrollan adecuadamente a temperaturas inferiores al punto de fusión de este solidificante y de que otros tienen la capacidad de licuarla.

Actualmente los medios sólidos son de uso universal, por su versatilidad y comodidad, pero hay también gran cantidad de medios líquidos cuyo uso está ampliamente extendido en el laboratorio.

## **3- Presencia (o ausencia) de oxígeno y otros gases**

Gran cantidad de bacterias pueden crecer en una atmósfera con tensión de oxígeno normal. Algunas pueden obtener el oxígeno directamente de variados sustratos. Pero los microorganismos anaerobios estrictos sólo se desarrollarán adecuadamente en una atmósfera sin oxígeno ambiental. En un punto intermedio, los microorganismos microaerófilos crecen mejor en condiciones atmosféricas parcialmente anaerobias (tensión de oxígeno muy reducida), mientras los anaerobios facultativos tienen un metabolismo capaz de adaptarse a cualquiera de las citadas condiciones.

## **4- Condiciones adecuadas de humedad**

Un nivel mínimo de humedad, tanto en el medio como en la atmósfera, es imprescindible para un buen desarrollo de las células vegetativas microbianas en los cultivos. Hay que prever el mantenimiento de estas condiciones mínimas en las estufas de cultivo a 35°C a 37°C proporcionando una fuente adecuada de agua que mantenga la humedad necesaria para el crecimiento de los cultivos y evitar así que se deseque el medio.

## **5- Luz ambiental**

La mayoría de los microorganismos crecen mucho mejor en la oscuridad que en presencia de luz solar. Hay excepciones evidentes como sería el caso de los microorganismos fotosintéticos.

## 6- pH

La concentración de iones hidrógeno es muy importante para el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de ellos se desarrollan mejor en medios con un pH neutro, aunque los hay que requieren medios más o menos ácidos. No se debe olvidar que la presencia de ácidos o bases en cantidades que no impiden el crecimiento bacteriano pueden sin embargo inhibirlo o incluso alterar sus procesos metabólicos normales.

## 7- Temperatura

Los microorganismos mesófilos crecen de forma óptima a temperaturas entre 15 °C y 43°C. Otros como los psicrófilos crecen a 0°C y los termófilos a 80°C o incluso a temperaturas superiores (hipertemófilos). En líneas generales, los patógenos humanos crecen en rangos de temperatura mucho más cortos, alrededor de 37°C, y los saprófitos tienen rangos más amplios.

## 8- Esterilidad del medio

Todos los medios de cultivo han de estar perfectamente estériles para evitar la aparición de formas de vida que puedan alterar, enmascarar o incluso impedir el crecimiento microbiano normal del o de los especímenes inoculados en dichos medios. El sistema clásico para esterilizar los medios de cultivo es el autoclave (que utiliza vapor de agua a presión como agente esterilizante)

### 2. Materiales y Equipo:

1. Cuaderno de trabajo de laboratorio.
2. Informes anteriores de lecturas de cajas, con cultivo bacteriológico.
3. Hoja de trabajo.
4. Literatura adicional.

### 3. Procedimiento:

#### PARTE I. Clasificación de la información anterior.

Revise su cuaderno de trabajo del laboratorio.

Ordene y clasifique la información.

Llene el cuadro siguiente.

NOMBRE DEL CALDO O MEDIO DE CULTIVO	TIPO DE MEDIO	APLICACIONES	INHIBIDOR RANGO pH	INDICADOR	COLOR Y APARIENCIA DE COLONIAS.
Caldo tripticasa soya.					
Agar Nutritivo.					
S.S.					
TCBS.					
XLD					
Mac Conkey					

## PARTE II Análisis de la Información.

- a. Con ayuda de la tabla, analice la información de todos sus resultados anteriores.

## PARTE III Resuelva las siguientes preguntas:

- a. Por qué, para una identificación preliminar deben utilizarse más de dos diferentes tipos de medios de cultivo.
- b. Cuáles son las ventajas que tiene el aislamiento de las colonias.
- c. Cuáles son algunos de los riesgos que se corren en el laboratorio al no cumplir con las medidas de bioseguridad.

## 7. Cuidados y otros aspectos relevantes de seguridad

### NORMAS GENERALES DE TRABAJO EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Un laboratorio de Microbiología es un lugar convenientemente habilitado donde se pueden manejar y examinar microorganismos. Este tipo de trabajo debe ser llevado a cabo con una buena técnica aséptica, y por tanto se requiere un ambiente limpio y ordenado y trabajar siempre en condiciones de esterilidad (en campanas de esterilidad biológica o en la proximidad de la llama de un mechero de alcohol o de gas). Aunque los microorganismos que se manipulen no sean considerados patógenos, todos los cultivos de todos los microorganismos deben ser manejados con precaución por su potencial patogenicidad.

### NORMAS DE SEGURIDAD:

1. Es imprescindible el uso de bata de laboratorio.
2. Al iniciar y finalizar las prácticas, el estudiante se lavará las manos con agua y jabón.
3. El lugar de trabajo debe estar siempre limpio y ordenado. Antes de comenzar cada práctica es conveniente desinfectar la superficie de trabajo. Los desinfectantes más habituales para esto son la lejía y el alcohol (etanol) a 70 %
4. Los microorganismos deben manejarse siempre alrededor de la llama.
5. Se deben evitar los desplazamientos innecesarios por el laboratorio, ya que pueden crear corrientes que originen contaminaciones o producir accidentes.
6. Durante las prácticas está prohibido comer, beber y fumar.
7. Cuando se manipulan Microorganismos hay que evitar llevarse las manos a la boca, nariz, ojos, etc.
8. Libros, carpetas, abrigos y cualquier otro material que no se utilice en la realización de la práctica deben estar apartados del lugar de trabajo.
9. Para deshacerse del material contaminado se utilizarán los recipientes adecuados, que serán esterilizados posteriormente.
- 10 **Nunca se debe tirar nada contaminado por el fregadero o a la basura común.**
11. Bajo ningún concepto debe sacarse ninguna muestra contaminada del laboratorio.
12. No se debe pipetear nunca con la boca. Utilizar siempre pipeteadores manuales.
13. En caso de accidente (ruptura de material, derramamiento de microorganismo) debe comunicarse inmediatamente al instructor.

## 8. Formato de presentación de resultados

1. Complete la información del siguiente cuadro.

MEDIO DE CULTIVO	COLONIAS AISLADAS	FAMILIA DEL MICROORGANISMO	GENERO DEL MICROORGANISMO
<u>Mac Conkey</u>			
<u>S.S.</u>			
<u>TCBS</u>			
<u>XLD</u>			

## 9. Informe final

1. Entregue el cuadro con la información.
2. Añada resultados y conclusiones.

## 10 Bibliografía de referencia

Lobos R. y García M...1983. Procedimientos y técnicas de Laboratorio.  
Edición Única. Editorial Universitaria. San Francisco Santiago de Chile.

Torres,M. 1999 "Manual Práctico de bacteriología Médica.  
2da. Edición. Editorial Serviprensa C.A. Guatemala Guatemala.

Soria F. 1,978 Manual de bacteriología. Disco.  
Novena Edición. Gráficas MIRASA. S,L. Valdemoro , Madrid.

Rohde Paúl (editor). 1,974 Manual de procedimientos de laboratorio. BBL  
5ta. Edición. Editores Asociados. S.A. México D.F.