



FICHA DE TRABAJO	
MÓDULO	MICROBIOLOXÍA CLÍNICA
UNIDADE DIDÁCTICA	UD3
PRÁCTICA: 6	Preparación de medio de cultivo sólido xeral

PROTOCOLO NORMALIZADO DE TRABAJO

OBXETIVOS

- Obxetivos xerais:
 - Preparar medios de cultivo como soporte e fonte de nutrientes para o desenvolvemento de m.o *in vitro*.
 - Manexar o instrumental e aparataxe necesario para a preparación de medios de cultivo, como o pHmetro ou autoclave, e poñer en práctica as técnicas aprendidas noutros módulos do ciclo.
 - Comprobar a importancia de traballar en condicións de esterilidade.
- Obxetivos específicos:
 - Analizar a composición dun medio de cultivo xeral.
 - Estudar as aplicacións dun medio de cultivo xeral.
 - Comprobar as condicións de conservación do medio de cultivo deshidratado.
 - Preparar placas e tubos con medio de cultivo para a súa correcta conservación.

MATERIAIS

- Medio de cultivo deshidratado.
- Auga destilada.
- Balanza.
- Bandexas de pesado.
- Probeta.
- Matraz Erlenmeyer de 1000 ml. (ten que ter unha capacidade do dobre, con respecto ó volume de medio que imos preparar).
- Varilla de vidro.
- Placa calefactora con axitador.
- Imán/atrapaimán.
- Guantes antitérmicos.
- pHmetro ou tiras de pH.
- HCl ó 1% e NaOH ó 1%.
- Pipeta de 10 ml.
- Pipeteador.
- Tubos de vidro con tapón de rosca.
- Gradilla.
- Autoclave.
- Cinta de control de esterilización.
- Papel de aluminio.
- Chisqueiro de alcol.
- Placas Petri estériles.
- Parafilm.

MÉTODO

❖ Imos preparar 400 ml de medio de cultivo por grupo .

1. Limpar e desinfectar a zona de traballo. Colocar un papel de filtro e dispor todos os materiais necesarios para desenvolver o procedemento.
2. Preparar os compoñentes do medio de cultivo.
 - Comprobar o estado de conservación do medio de cultivo. Comprobar se cumpre coas características de cor e textura. Anotar as observacións.
 - Pesar a cantidade de medio deshidratado necesario para preparar un volume de 100 ml de medio de cultivo por persoa, segundo as indicacións do laboratorio fabricante.
 - Medir 100 ml de auga destilada.



3. Disolver o medio de cultivo deshidratado nun pouco de auga destilada dentro do matraz, axudándonos cunha varilla de vidro, se fora necesario. Unha vez disolto por completo (sen grumos), engadir o resto de auga destilada e homoxeneizar.
4. Deixar repousar a mezcla durante 5 minutos.
5. Levar o matraz coa mezcla a placa de calor con axitación. Quecer ata a ebullición. **OLLO!!!!** cando entre en ebullición, retirar rápido da fonte de calor para que non desborde!!!! E apoiar o recipiente sobre un pano, non sobre a superficie de traballo directamente, para evitar roturas do cristal.
6. Atemperar lixeiramente e medir o pH. Axustar pH se fora necesario engadindo HCl ó 1% ou NaOH ó 1%, ata conseguir o pH indicado no envase.
7. Repartir o medio de cultivo nos tubos ata 1/3 ou a metade do seu volume (2 tubos por persoa). Tapar con tapón de rosca sen pechar totalmente. Colocar nunha gradilla, para levar despois a autoclave.
8. Tapar o medio restante que quedou no Erlenmeyer con papel de aluminio e pegar un cacho de cinta de control de esterilización.
9. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121°C. Retirar o medio de cultivo da autoclave, e non abrir ata estar nun entorno aséptico de traballo.
10. Mentres se espera a que remate o proceso de esterilización aproveitamos para recoller todo o material utilizado. Tamén aproveitamos este tempo para rotular as placas na parte de menor diámetro, indicando o tipo de medio de cultivo e data de preparación, nome da persoa que fai o medio, e preparamos tamén as tiras de parafilm para o selado.
11. Deixar enfriar os tubos co medio de cultivo en posición inclinada.
12. Deixar atemperar o medio do Erlenmeyer ata os 45-50°C.



13. Repartir o medio esterilizado atemperado nas placas Petri estériles en condicións de asepsia (entorno do chisqueiro) ou en cabina de bioseguridade. **OLLO!!!** que non se fagan burbullas ó verter o medio nas placas.
14. Esperar a que o medio solidifique coas placas parcialmente destapadas, para evitar a condensación.

15. Selar as placas Petri con parafilm e gardar refrixeradas en neveira entre 2-8°C. Gardar en posición invertida.

RESULTADOS

1. Documenta con fotos os pasos que foches realizando e os resultados obtidos.

CUESTIÓNNS

1. Qué medio de cultivo preparaches? (indica o nome do medio)
 - Tipo de medio (xeral, selectivo, diferencial,):
 - Anota e comenta a súa composición.
 - Para qué se utiliza?
2. Qué aspecto debería presentar o medio deshidratado e qué aspecto debe ter unha vez preparado?
3. Por qué é necesario comprobar o pH, e se é o caso, axustalo?.
4. Por qué cres que é necesario levar o medio de cultivo a ebullición, se total despois o imos esterilizar a unha temperatura de 121°C?
5. Por qué selamos as placas con parafilm para almacenalas ata o seu uso?
6. Canto tempo se poden conservar en frío as placas co medio preparado ata o seu uso, como norma xeral?