



FICHA DE TRABAJO	
MÓDULO	MICROBIOLOXÍA CLÍNICA
UNIDADE DIDÁCTICA	UD4
PRÁCTICA: 7	Cultivo Primario: sementeira por esgotamento e preparación de frescos

## PROTOCOLO NORMALIZADO DE TRABAJO

### OBXETIVOS

- Obxetivos xerais:
  - Coñecer as características dun cultivo primario.
  - Coñecer as aplicacións da sementeira por esgotamento.
  - Aprender a interpretar as preparacións de frescos de mostras biolóxicas
- Obxetivos específicos:
  - Obter un cultivo mixto a partir dunha mostra biolóxica.
  - Practicar as distintas técnicas de sementeira por esgotamento.
  - Describir a morfoloxía das colonias.
  - Interrelacionar o tipo de mostra, o medio de cultivo utilizado e os resultados obtidos.
  - Discriminar os elementos de interese nunha preparación en fresco durante a súa observación a microscopio.

### MATERIAIS

- Medio de cultivo sólido estéril en placa e en tubo, preparado con anterioridade.
- Asas de sementar rematadas en anel e en punta montadas en mango Kolle.
- Asas de sementar estériles dun só uso de 1 µl.
- Hisopo estéril.
- Chisqueiro de alcol.
- Mostra biolóxica
- Soro fisiolóxico
- Gradilla
- Tubo de ensaio con tapón de rosca
- Axitador de tubos (Vortex)

### MÉTODO

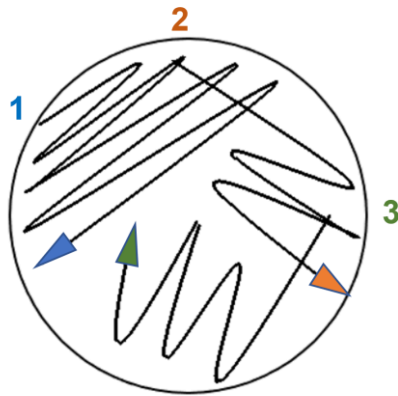
Limpar e desinfectar a zona de traballo. Colocar un papel de filtro e dispor todos os materiais necesarios para desenvolver o procedemento.

#### ❖ Mostra biolóxica: feces

1. Realización dunha dilución da mostra en soro fisiolóxico ou auga destilada e realización dun frotis para a súa observación en fresco.

## 2. Sementeira en zig-zag a tres campos.

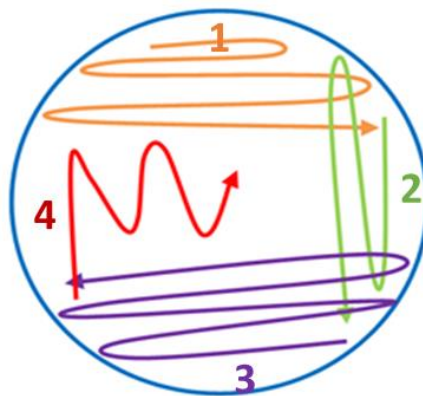
- Facer unha dilución dunha fracción da mostra en soro fisiolóxico nun tubo de ensaio estéril.
- Homoxenizar por axitación.
- Cargar a asa de sementar coa mostra en condicións de asepsia.
- Dividir a placa de cultivo en tres sectores imaxinarios, realizar un movemento en zig-zag no 1º sector, sen que as estrías se toquen. Xirar a placa 90º e desde un extremo da última estría do sector 1, iniciar de novo movemento en zig-zag ampliando levemente a separación das estrías no sector 2. Repetir o procedemento para o sector 3, rematando cun estriado en zig-zag bastante aberto.
- Tapar a placa de cultivo e levar a incubar á estufa.



Patrón de sementeira a 3 campos

## 3. Sementeira en zig-zag a catro campos.

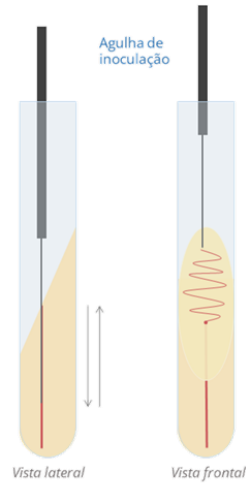
- Dividimos a placa de cultivo en catro sectores imaxinarios. Procedemos igual que no caso anterior, so que a sementeira do primeiro sector farémola cun hisopo embebido na mostra. A sementeira no 2º, 3º e 4º sector farase con asa de sementar, con esterilización ó rematar cada sector.



Patrón de sementeira a 4 campos

#### 4. Sementeira por esgotamento en tubo inclinado ou *slant*, e sementeira por picadura

- Cargamos a asa de sementar con filamento rematado en punta na mostra.
- Introducimos verticalmente no medio de cultivo tendo a precaución de non tocar as paredes do tubo, e saímos pola mesma traxectoria. A continuación realizamos un zig-zag na superficie desde a zona máis alonxada da boca do tubo á máis próxima.



Patrón de sementeira en tubo: en picadura e en superficie

#### RESULTADOS

1. Documenta con fotos os pasos que fuches realizando.
2. Documenta e describe o que observaches no fresco. Adxunta fotos.
3. Comenta razoadamente e xustifica os resultados obtidos: cantidade de colonias en cada sementeira, descripción macroscópica das colonias, tipos de colonias, etc.

#### CUESTIÓNS

1. Sobre qué medio de cultivo realizaches a sementeira? Qué tipo de medio é? Qué cabe esperar que medre nese medio?
2. Cal é o obxectivo da sementeira por esgotamento?
3. Qué resultados cabe esperar da sementeira en superficie e en picadura no tubo inclinado?
4. Qué resultados podemos esperar desta sementeira, tendo en conta o tipo de medio de cultivo empregado e o tipo de mostra utilizada?
5. A técnica da sementeira a catro campos, co primeiro campo sementado cun hisopo, para qué tipo de mostras biolóxicas será a técnica de elección? Cal é a finalidade desta técnica?