



FICHA DE TRABAJO	
MÓDULO	MICROBIOLOXÍA CLÍNICA
UNIDADE DIDÁCTICA	UD4
PRÁCTICA: 8	Preparación de medio de cultivo sólido selectivo-diferencial

## PROTOCOLO NORMALIZADO DE TRABAJO

### OBXETIVOS

- Obxetivos xerais:
  - Coñecer as características e aplicacións dos distintos tipos de medios de cultivo
- Obxetivos específicos:
  - Sementar en medio de cultivo selectivo e diferencial.
  - Interpretar os resultados obtidos en función do medio de cultivo empregado e a mostra utilizada.
  - Describir a morfoloxía das colonias..

### 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%.
- 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. Medir o pH. Axustar pH se fora necesario engadindo HCl ó 1% ou NaOH ó 1%, ata conseguir o pH indicado no envase.

6. 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.

7. Tapar o medio do Erlenmeyer con papel de aluminio e pegar un cacho de cinta de control de esterilización.

8. 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.

9. 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.

10. Deixar atemperar o medio do Erlenmeyer ata os 45-50°C.



11. 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.

12. Esperar a que o medio solidifique coas placas parcialmente destapadas, para evitar a condensación.

13. 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.

## CUESTIÓN

1. Qué medio de cultivo preparaches? (indica o nome do medio)

- Anota e comenta a súa composición.
- Para qué se utiliza?

2. Qué tipo de grupos bacterianos podemos diferenciar a partir do cultivo neste medio?