



FICHA DE TRABAJO	
MÓDULO	MICROBIOLOXÍA CLÍNICA
UNIDADE DIDÁCTICA	UD4
PRÁCTICA: 9	Sementeira en masa para reconto en placa

PROTOCOLO NORMALIZADO DE TRABAJO

OBXETIVOS

- Obxetivos xerais:
 - Coñecer o fundamento e aplicacións das diferentes técnicas de sementeira.
 - Utilizar o tipo de medio adecuado, en función do tipo de estudo que vai realizar.
 - Aplicar as técnicas de dilución para o estudo da carga microbiana.

- Obxetivos específicos:
 - Practicar a técnica de sementeira en extensión ou en masa.
 - Elexir o medio de cultivo adecuado para o reconto en placa.
 - Preparar banco de dilucións a partir da mostra biolóxica de traballo.

MATERIAIS

- Mostra: urina.
- Placas de cultivo PCA estériles, preparadas con anterioridade.
- Soro fisiolóxico estéril.
- Gradilla
- Tubos estériles (nove unidades por mesado)
- Micropipeta de 100 ou 200 µl e unha 1000 µl.
- Puntas de micropipeta estériles
- Asa de Drigalsky estéril
- Estufa de cultivo
- Chisqueiro de alcol.

MÉTODO

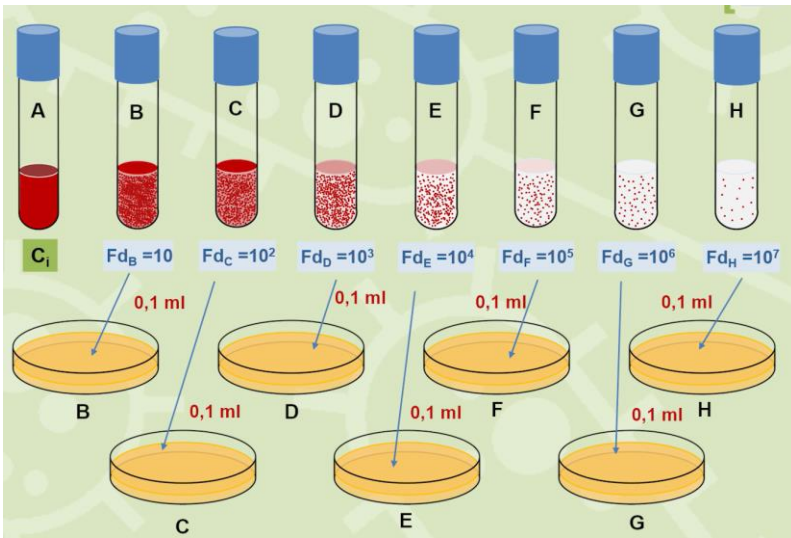
1. Limpar e desinfectar a zona de traballo. Colocar un papel de filtro e dispor todos os materiais necesarios para desenvolver o procedemento.

2. Preparar banco de dilucións.
 - Colocamos na gradilla 9 tubos de ensaio e mais o tubo coa mostra.
 - Rotular cada tubo co factor de dilución que lle corresponda.
 - Colocar en cada tubo 9 ml de soro fisiolóxico estéril (ou auga destilada no caso de non dispor de soro).

- Coller 1 ml da mostra e levar ó primeiro tubo (dilución 10^1), axitar a mezcla, desbotar a punta da micropipeta e coller unha nova, tomar de novo 1 ml do tubo 10^1 e levalos ó seguinte tubo (dilución 10^2), axitar, e así progresivamente ata o tubo de dilución 10^9 .

3. Sementeira en masa ou en extensión:

- Rotular as placas coa dilución correspondente (só imos sementar as dilucións: 10^6 , 10^7 , 10^8)
- En cada placa verter coa micropipeta 100 μ l da dilución correspondente, e distribuír uniformemente por toda a superficie da placa coa asa de Drigalsky.
- Esperar 5 minutos a que a mostra se embeba no agar.
- Incubar en posición invertida en estufa a 35 $^{\circ}$ C durante 24 horas.
- Coller unha placa con medio PCA e incubar sen inocular a 35 $^{\circ}$ C durante 24 horas.



Axitar antes de tomar cada mostra para a sementeira.

RESULTADOS

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

CUESTIÓNS

1. Cal é o obxectivo de realizar o banco de dilucións?
2. Por qué só sementamos as dilucións 10^6 , 10^7 , 10^8 ?
3. Por qué utilizamos o medio de cultivo PCA? Poderíamos utilizar outros medios de cultivo? De ser a resposta afirmativa, cita algún e por qué o propós.
4. Por qué incubamos unha placa con medio PCA sen inocular?