

Preparación del material de microbiología medica

Los frascos y el material que utilizamos para preparar las soluciones nutritivas debe estar limpio y **estéril**. Para limpiar el material, primero limpiamos con detergente (jabón normal de la cocina), después quitamos el jabón con agua de la llave y, por último, enjuagamos con agua destilada o desmineralizada. Para esterilizar un líquido en una botella, la forma más sencilla es utilizar un **autoclave** (esterilización por vapor y presión). Atención, durante la etapa de esterilización, deje la tapa encima de la botella (o el frasco), pero la tapa debe colocarse sobre la botella (o el frasco), no cerrarse.

Poner los frascos (con tapa sobre cada frasco sin cerrar) dentro de una autoclave. Cuando no tenemos autoclave, podemos usar olla exprés nueva (con un poco - 200 mL - de agua potable al fondo). Cerrar la olla exprés y calentar. Esterilizar durante 15 minutos (15 min. después de que comienza a salir el vapor). Para preparar las soluciones nutritivas, seguir las instrucciones en la etiqueta de los productos.

Esterilización

La presencia de microorganismos en todos los medios ambientales hace imprescindible que, para estudiar una bacteria determinada sea necesario destruir todas aquellas que pudieran encontrarse contaminando los medios o los instrumentos de trabajo. Esto se consigue mediante la esterilización, consistente en la destrucción de todo microorganismo (hongos, bacterias, virus).

El material de vidrio (por ejemplo pipetas Pasteur) puede ser esterilizado en autoclave* seco dentro de papel de aluminio cerrado (sin contacto con el aire ambiente) durante 60 minutos a 170-180°C. Para los tubos de ensayo de vidrio, introducir algodón en la boca de los tubos para mantener el interior de los tubos estéril (en este caso, necesitamos 2 horas a 160°C). Para esterilizar las soluciones nutritivas es necesario esterilizar 15 minutos con vapor de agua a presión (calor húmedo*). Esto se puede conseguir fácilmente con una olla exprés.

Para esterilizar las soluciones nutritivas, colocamos los frascos en el interior de la olla exprés. Los frascos no deben estar más llenos de la mitad y deben tener la tapa puesta pero sin cerrarlos para que el vapor de agua a presión pueda entrar. En la olla debemos tener unos 3 o 4 cm de agua en el fondo de la olla. Tapamos la olla y colocamos la tapa (tiene un peso específico para guardar la presión, no podemos intercambiar la de diferentes ollas). Calentamos y mantenemos el fuego durante 15 minutos una vez que comienza a salir vapor de la olla. Después apagamos el fuego. Si estamos esterilizando soluciones nutritivas es importante esperar a que deje de salir el vapor sin quitar la tapa ya que si el vapor sale rápidamente, puede regar la solución fuera de los frascos. Cuando la olla pierde el calor y ya no sale vapor se puede destapar y cerramos la tapa de los frascos que contienen medio de cultivo que ahora es estéril. (Nota: volver a escribir la etiqueta de los frascos si se borra durante la esterilización en la olla exprés). En resumen:

1. Olla exprés + agua al fondo de la olla.
2. Añadir frascos (con tapa sin cerrar) de soluciones a esterilizar.
3. Cerrar la olla exprés con su pequeña tapa de seguridad.
4. Calentar.

5. Cuando el vapor empieza a salir de la olla exprés, esperar 15 minutos.
6. Después de 20 minutos, parar el fuego y esperar hasta que no sale vapor de la olla exprés (aproximadamente 30 min).
7. Tirar la tapa de la olla exprés cuando no hay mas vapor que sale, abrir la olla exprés y cerrar los frascos. Cuidarse, los frascos están calientes. Se pueden usar guantes de tela.

Una vez esterilizadas, las soluciones nutritivas se pueden almacenar en el refree durante bastante tiempo (hasta un año).

Este mismo procedimiento lo usaremos para descontaminar los cultivos de bacterias antes de desecharlos.

Llenado de placas de Petri

Para llenar las placas de Petri con soluciones nutritivas LBA, AMC o ASS, primero las etiquetamos, por la parte de la tapa pequeña, por los bordes, dejando el centro libre. A continuación, comprobamos mirando a la luz el frasco que tiene la solución nutritiva caliente y líquida, para mirar que no haya agar sedimentado (si fuera así, calentar el frasco en la llama, moviéndolo ligeramente hasta que el agar se funda del todo y el medio se observe transparente). [si todavía dudas, puedes tomar una pipeta Pasteur* estéril y probar una muestra de la solución y dejarla sobre la mesa: si se transforma en sólido, es que hay agar – si se queda líquida, está que está LB líquido]. Después, nos colocamos al lado del mechero, abrimos la tapa de la placa de Petri y vertemos la solución nutritiva con agar dentro, sólo el volumen necesario para cubrir la placa del todo (hasta una altura de unos 3 mm, aproximadamente 20 mL) y tapar la placa. Es importante tener cuidado de que no caigan gotas de solución nutritiva fuera del frasco, ya que pueden arrastrar otras bacterias que contaminan la solución nutritiva. Esperamos que el agar se solidifique y damos la vuelta a la placa, dejando la tapa pequeña con el agar sólido hacia arriba, para evitar que condense agua en la tapa grande y puedan caer gotas más tarde. Si las placas no se van a utilizar en ese momento, se pueden guardar en el refri.

From:

<https://autono-medic.ouvaton.org/> - **Autono-Medic**

Permanent link:

<https://autono-medic.ouvaton.org/doku.php?id=es:temas:ident:bacteria:prep>

Last update: **2020/05/14 10:36**

