

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA
FACULTAD DE ZOOTEKNIA Y ECOLOGÍA

MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

PRÁCTICA 3

**SIEMBRA DE BACTERIAS EN LOS MEDIOS SELECTIVOS Y GENERALES,
ASÍ COMO TINCIÓN DE GRAM**

FECHA DE ELABORACIÓN: 31 DE OCTUBRE DEL 2014

FECHA DE ENTREGA: 14 DE NOVIEMBRE DEL 2014

M.C. RUTH LECHUGA VALLES

MARÍA FERNANDA GONZÁLEZ RUÍZ 281519

EDGAR ALAN LOYA GARCÍA 281500

JOSÉ ALFREDO ONTIVEROS GONZÁLEZ 286298

MARIO ALFONSO BALDERRAMA PINEDA 281506

RESÚMEN

En la práctica llevada a cabo el viernes pasado, como el nombre lo dice, sembramos bacterias en los medios selectivos y generales (agar MaConkey, agar de Sal y Manitol y Estándar) que realizamos en la práctica anterior, donde se pretendía hacer crecer las bacterias "E. coli", "S. aureus" y las bacterias que contuvieran algún objeto, que en nuestro caso fue un billete.

La práctica se realizó con mucho cuidado y todo cerca del mechero para no permitir que entraran bacterias u otras sustancias que nos pudieran afectar nuestro cultivo, para esto necesitamos la ayuda de una asa con la cual tomábamos las muestras de las bacterias y las sembrábamos en nuestros diferentes cultivos, también hicimos la tinción de gram con las bacterias anteriormente mencionadas, para ello necesitamos la ayuda de la asa, los colorantes, portaobjetos, hisopos, agua destilada, entre otras cosas.

El resultado que obtuvimos fue el crecimiento de las bacterias E. coli, S. aureus y las que contenía el billete, el aprendizaje de la práctica fue como aprender a teñir, los pasos que se deben de seguir, y como se observan en el microscopio las bacterias teñidas, al verlas en el microscopio se formaron cocos y bacilos.

INTRODUCCIÓN

Sembrar es colocar una muestra de inóculo, en un medio de cultivo para obtener el crecimiento de los microorganismos. Para ello se extiende la muestra sobre caja de Petri, que contiene un gel (Agar) al que se han añadido las sustancias que necesitan los microorganismos para crecer. A esto lo llamamos medio de cultivo. A veces se añaden otras clases de sustancias; por ejemplo, para impedir el crecimiento de otras bacterias que podrían contaminar el cultivo. La siembra se puede hacer en otros tipos de medios de cultivo, como tubos de vidrio con gel, frascos con líquidos nutritivos para los microorganismos.

A continuación se procede a la "incubación" del medio ya sembrado. En cada caso se hace en condiciones particulares de presión de oxígeno, temperatura, agitación, duración, etc. Muchas de las bacterias patógenas crecen bien a temperaturas cercanas a los 37°C habituales de nuestro organismo.

Si el cultivo bacteriano tiene éxito, crecerán "colonias" de bacterias en el medio de cultivo. Estas colonias tienen características de color, forma, tamaño etc. propias de cada bacteria y esto nos ayuda a identificarlas. También se puede someter a las bacterias de las colonias a pruebas bioquímicas o de otro tipo para lograr su identificación. Algunas bacterias son muy difíciles de cultivar, otras tardan mucho tiempo en crecer y algunas, finalmente, no se han conseguido cultivar.

OBJETIVO

Con la práctica llevada a cabo se pretende hacer crecer las bacterias E. coli, S. aureus y las que contuviera el billete, en nuestros medios de cultivo selectivos y generales (agar MaConckey, agar Sal y Manitol y Estándar) así como aprender a hacer la tinción de gram.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

- Agua Destilada
- Hisopos
- Pipetas de Vulvo
- Portaobjetos
- Bacterias “E. coli” y “S. aureus”
- Asa
- Mechero
- Billete
- Cajas de Petri con los medios de cultivos preparados (MaConckey, Sal y Manitol y Estándar)

Primeramente tuvimos que pasar nuestra asa por el mechero para esterilizarla y poder usarla, después enfiamos el asa en el cultivo y tomamos una muestra de las bacterias y las sembramos en nuestros cultivos en forma de zig zag al terminar de sembrar pasamos nuevamente el asa por el fuego para esterilizarla.



Imagen 1. Esterilizando el asa.

Imagen 2. Enfriando el asa en el agar para poder tomar la muestra de las bacterias.



Imagen 3. Tomando la muestra de las bacterias.



Tomando una muestra de la bacteria E. coli.

Imagen 4. Sembrando la bacteria en forma de zigzag.



Después cerca del mechero y sin alejarnos de él, usamos el hisopo y lo humedecemos en agua destilada, para frotar el billete y recopilar las bacterias que contubiera, luego tomamos el portaobjetos y con la pipeta de vulvo colocamos una gota de agua destilada, con el hisopo pasamos las bacterias que contenía el billete al portaobjetos, lo mismo se hizo con las bacterias *E. coli* y *S. aureus* y se mezcló la gota de agua destilada con la bacteria.



Imagen 5. Vaciando el agua destilada cerca del mechero.



Imagen 6. Frotando el billete para recopilar las bacterias.



Imagen 7. Aplicando la gota de agua destilada en el portaobjetos.



Imagen 8. Tomando la muestra de la bacteria.

Posteriormente se pasaron los portaobjetos por el fuego para que se secan las muestras, más tarde se les aplicó los diferentes colorantes (Cristal Violeta, Iodo Lugol, Alcohol y Safranina), primero empelamos el cristal violeta el cual se aplicó por un minuto, después colocamos el Iodo Lugol por un minuto, posteriormente usamos el alcohol que se dejó actuar por 30 segundos y finalmente se empleó la

safranina dejándola actuar por 1 minuto, después de haber aplicado los colorantes, se pasan los portaobjetos por el agua para retirar los colorantes, cuando terminamos secamos los portaobjetos solo por la parte de abajo y la parte de arriba dejamos que se seque sola.



Imagen 9. Colorantes que se emplean para realizar la Tinción de gram.



Imagen 10. Dejando el cristal violeta por 1 minuto en los portaobjetos.

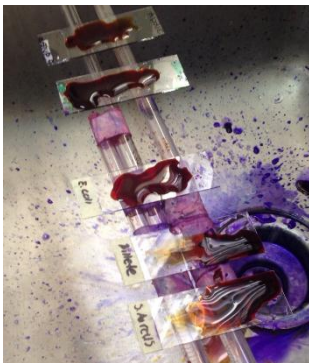


Imagen 11. El Iodo Lugol actuando por 1 minuto en los portaobjetos.

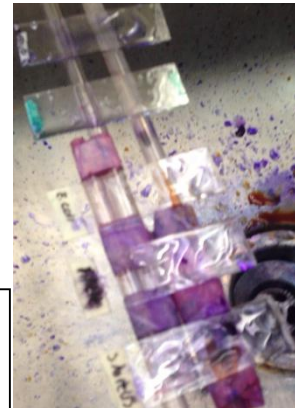


Imagen 12. Portaobjetos con el alcohol.



Imagen 13. Dejando la safranina por 1 minuto en los portaobjetos.



Imagen 14. Secando los portaobjetos por la parte de atrás.

RESULTADOS

Por último nos dirigimos al microscopio para observar los resultados y ver que encontrábamos, como resultado logramos ver con un aumento de 100x en la bacteria *S. aureus* los cocos que se formaron (imagen 16) y en la bacteria *E. coli* con objetivo a 100x observamos cómo se forman bacilos.

El crecimiento de las bacterias *E. coli* y *S. aureus* en nuestros agares (MaConckey, Sal y Manitol y Estándar) solo tuvieron éxito en el agar de Sal y Manitol y MaConckey.

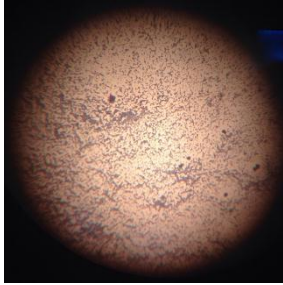


Imagen 15. Bacteria *S. aureus* con objetivo a 10x.

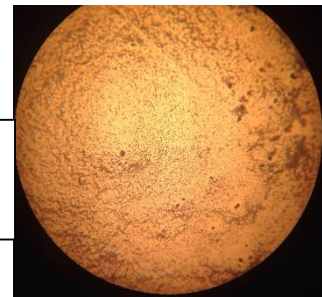


Imagen 16. Bacteria *S. aureus* con objetivo a 40x.

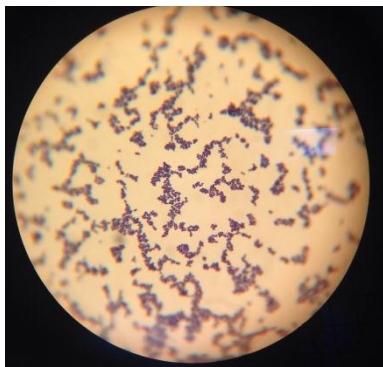


Imagen 17. Bacteria *S. aureus* con un aumento de 100x, los cuales tienen forma de cocos.

En La bacteria *E. coli* solo pudimos observar en el microscopio con los objetivos a 10x y 100x.

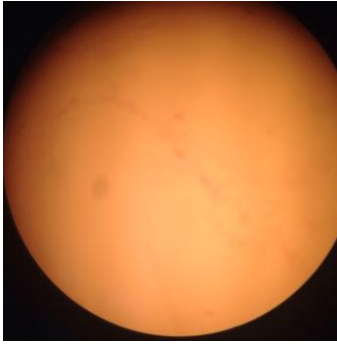


Imagen 18. Bacteria E. coli con objetivo a 10x.

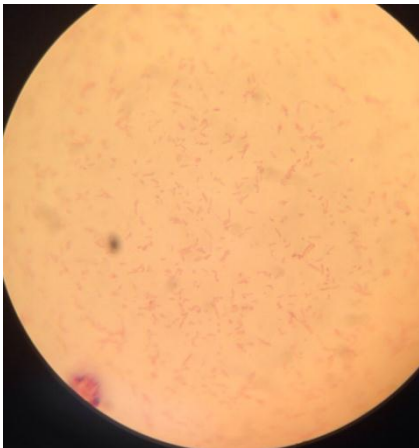


Imagen 19. Bacteria E. coli con un aumento de 100x, donde observamos que se forman bacilos.

En las fotografías se observa que hubo éxito en el crecimiento de las bacterias, sin embargo en la bacteria E.coli no logramos hacerla crecer en nuestro medio de cultivo, probablemente porque no se aplicó suficiente muestra de la bacteria.



Imagen 20. Crecimiento de las bacterias E. Coli y S. aureus en el agar Estándar.



Imagen 21. Crecimiento de la bacteria S. aureus en el agar Sal y Manitol

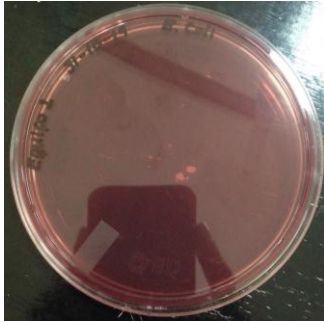


Imagen 22. No hubo crecimiento de la bacteria *E. coli*.

En las imágenes se muestra el crecimiento de las bacterias que contenían tanto el celular como el billete.

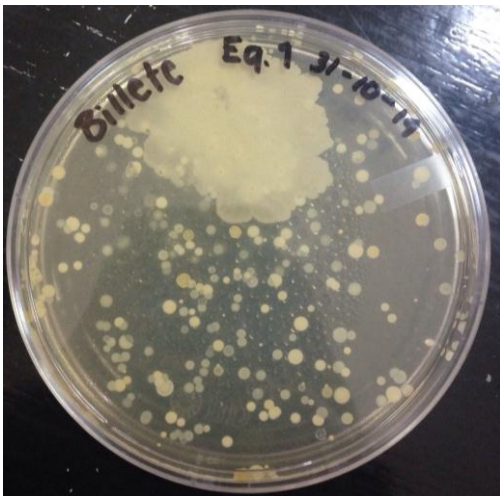


Imagen 23. Crecimiento de las bacterias que contenía el billete.

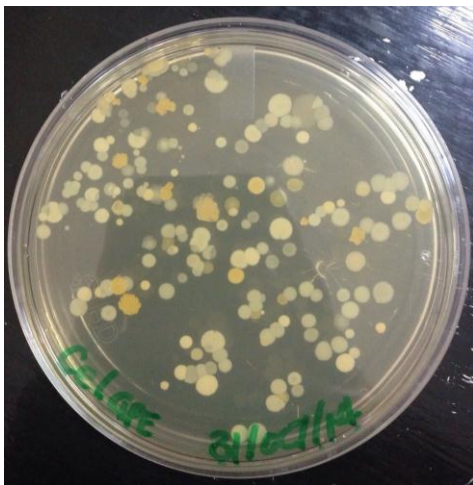


Imagen 24. Crecimiento de las bacterias que contenía el celular.

CONCLUSIÓN

Con la práctica llevada a cabo, aprendimos a diferenciar entre las bacterias Gram negativas y Gram positivas, ya que a la hora de la tinción de Gram cada una de ellas tomaba un color diferente, también aprendimos como se hace la tinción de Gram, así como los pasos que debemos de seguir y los cuidados que debemos de tener para que no haya alguna falla al momento de realizar este tipo de prácticas, también nos quedó más claro todo lo visto en clase de las bacterias.

BIBLIOGRAFÍA

- Tincion de gram, Mariana Juárez, Noviembre 2014
<http://es.slideshare.net/Mardj/practica-2.tincion-de-gram>
- Apuntes del Cuaderno
- Hojas proporcionadas por la Maestra.

