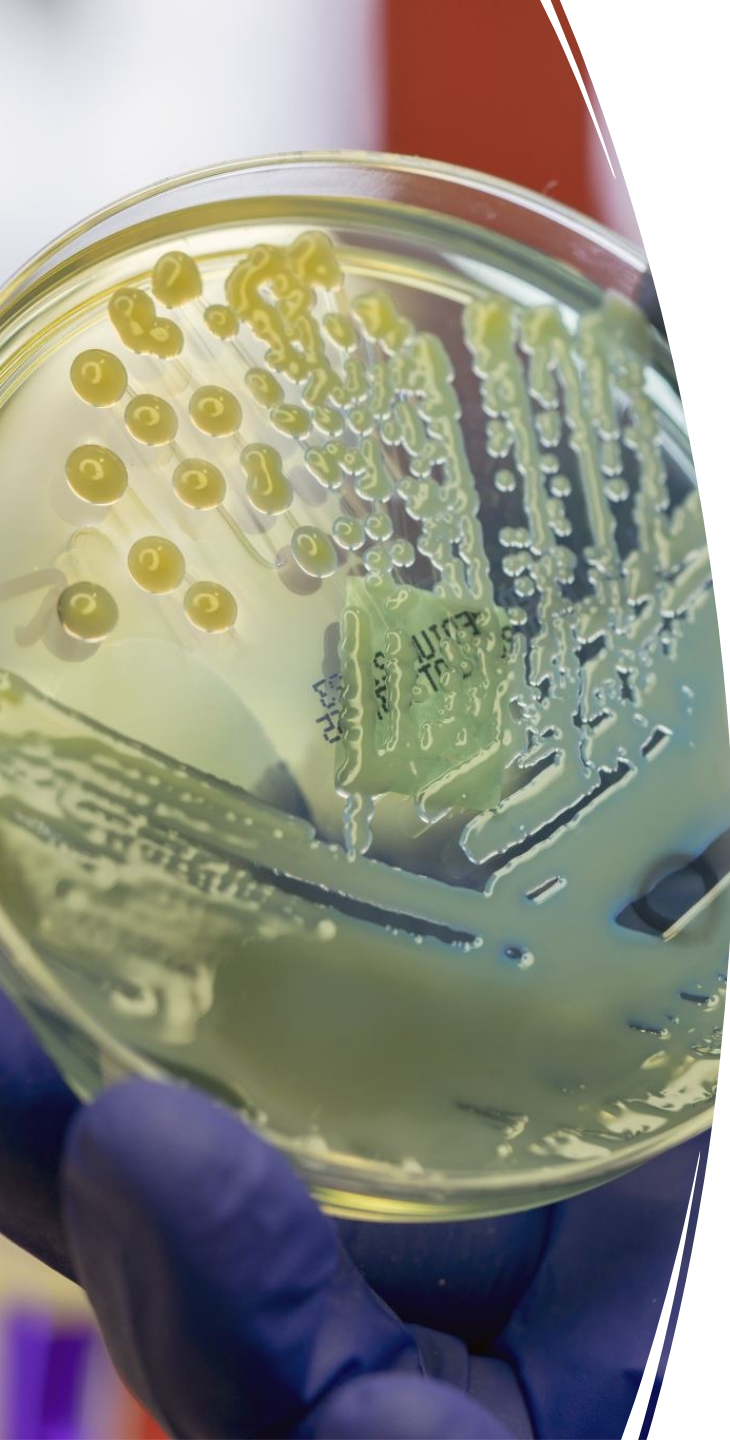




Prácticas de Microbiología Aislamiento y Observación de Microorganismo S

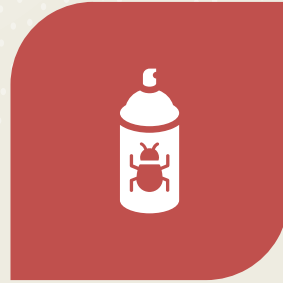
Práctica #3 y Práctica
#4

Carlos Montejo Dávila

Práctica #3: Técnicas de Aislamiento y Caracterización Macroscópica

En esta práctica se aplican técnicas de siembra aséptica y se observan colonias bacterianas.

Objetivos de Aprendiza je (Práctica 3)



APLICAR CORRECTAMENTE LAS
TÉCNICAS DE SIEMBRA
ASÉPTICA PARA EL AISLAMIENTO
DE MICROORGANISMOS.



DIFERENCIAR LAS
CARACTERÍSTICAS
MACROSCÓPICAS DE COLONIAS
BACTERIANAS EN DISTINTOS
MEDIOS.



RECONOCER PATRONES DE
CRECIMIENTO BACTERIANO EN
MEDIOS LÍQUIDOS Y DE AGAR
INCLINADO.



COMPRENDER LA IMPORTANCIA
DEL PRINCIPIO DE ASEPSIA EN
TODO EL PROCESO.

Principio del Aislamiento y Asepsia



El aislamiento permite obtener un cultivo puro a partir de una mezcla microbiana.



Cada colonia proviene de una célula inicial.



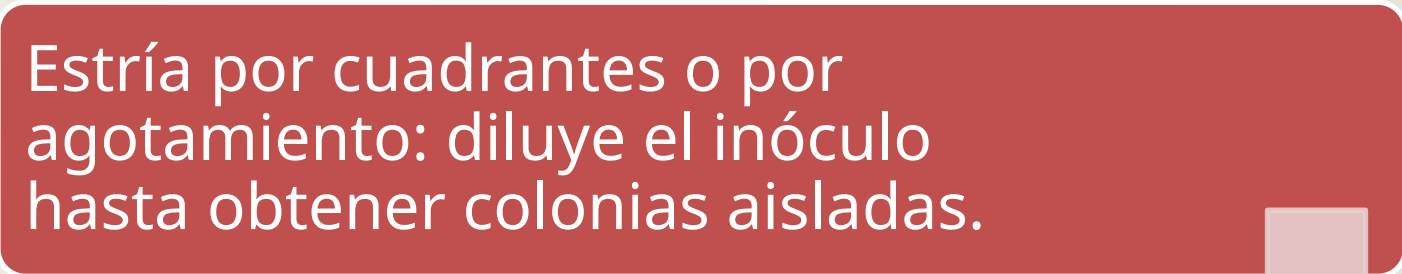
El principio de asepsia asegura que el resultado no se contamine con microorganismos externos.



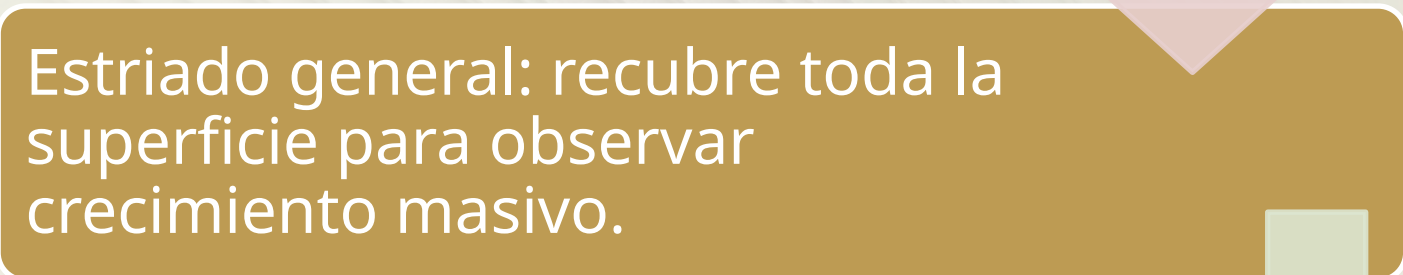
Trabajar cerca del mechero, esterilizar asas y mantener la zona estéril son reglas básicas.

Técnicas en Caja Petri (Medios Sólidos)

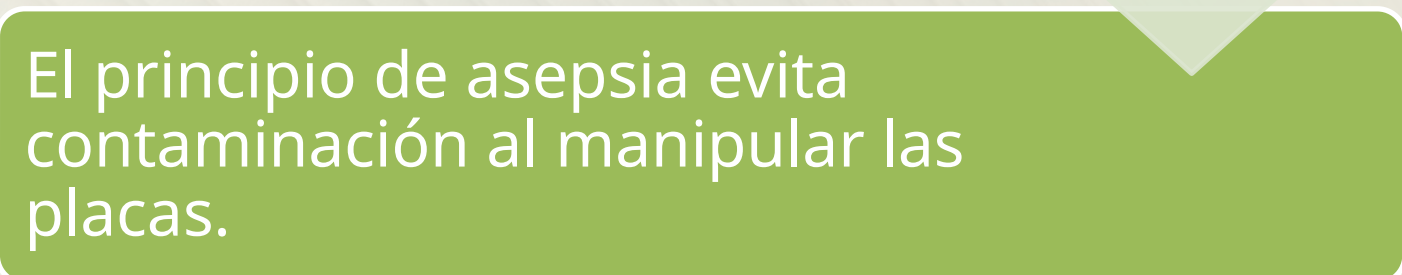
Estría por cuadrantes o por agotamiento: diluye el inóculo hasta obtener colonias aisladas.

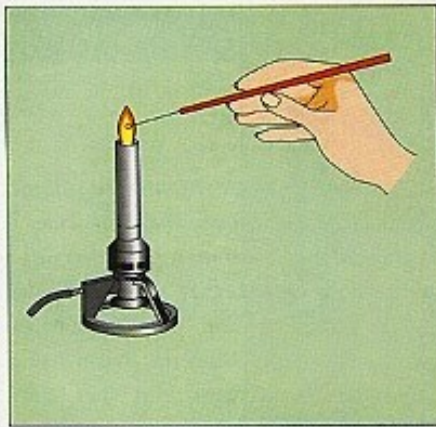
A red rectangular box with rounded corners containing white text. A large, semi-transparent red arrow points downwards from the bottom right corner of the box towards the middle box.

Estriado general: recubre toda la superficie para observar crecimiento masivo.

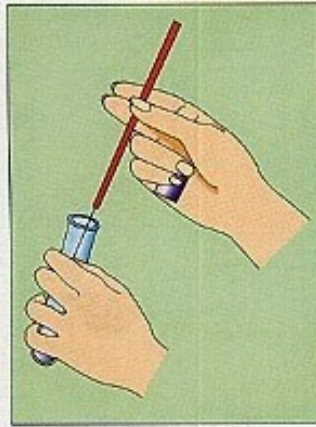
A brown rectangular box with rounded corners containing white text. A large, semi-transparent brown arrow points downwards from the bottom right corner of the box towards the bottom box.

El principio de asepsia evita contaminación al manipular las placas.

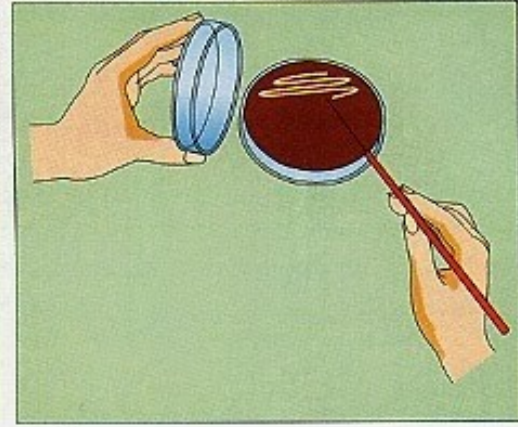
A green rectangular box with rounded corners containing white text. A large, semi-transparent green arrow points downwards from the bottom right corner of the box.



(a)



(b)



(c)

inóculo
inicial



segundo grupo
de estrías



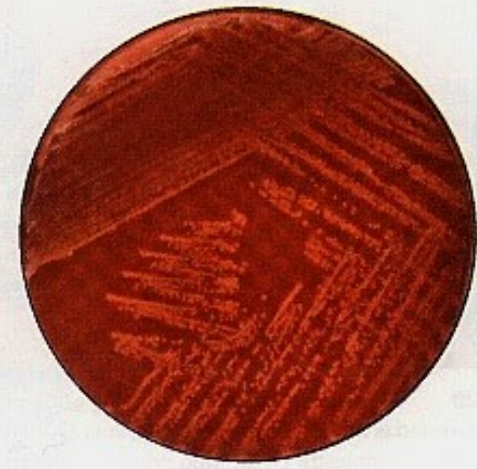
tercer grupo
de estrías



cuarto grupo
de estrías

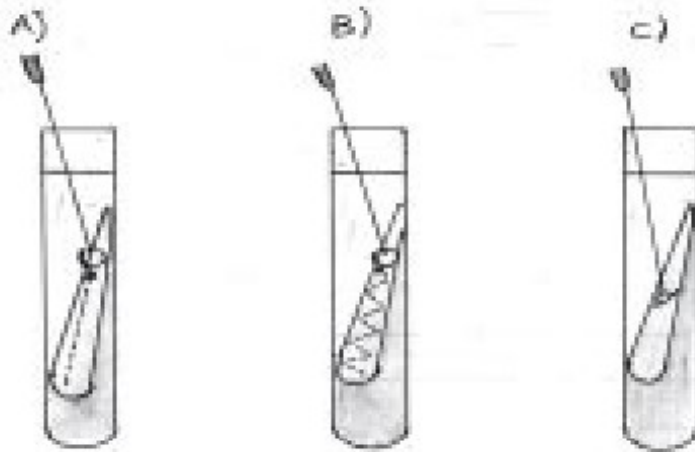


(d)



(e)

Técnica en Tubo con Agar Inclinado



Se inocula con un movimiento en zig-zag desde la base hacia la parte superior.



Permite conservar cepas y observar características de crecimiento superficial.



El trabajo aséptico evita contaminación cruzada entre tubos.

Técnica en Medio Líquido (Caldo)



El inóculo se transfiere al caldo y se mezcla suavemente.



Tipos de crecimiento: turbidez, sedimento, película superficial, floculento.



El principio de asepsia asegura que la turbidez provenga de la cepa inoculada.

Comparativa de Morfología Colonial

Forma

Elevación

Borde

Superficie

Color

Tamaño
(mm)

Colonia entera:

Puntiforme



Circular



Rizoide



Irregular



Filamentoso



Borde:

Completo



Ondular



Lobate



Filamentoso



Rizado



Superficie:

Suave, reluciente

Áspero

Arrugado

Seco, polvoriento

Elevación:

Depresión



Elevado



Convexo



Pulvinate

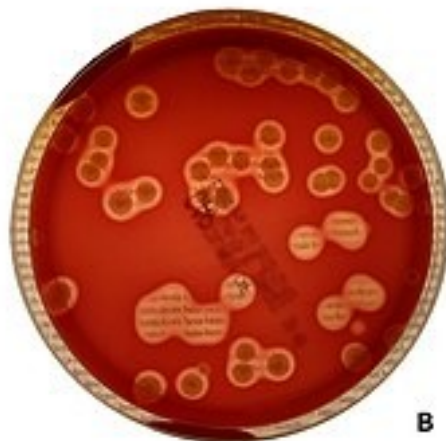


Umbonate





A

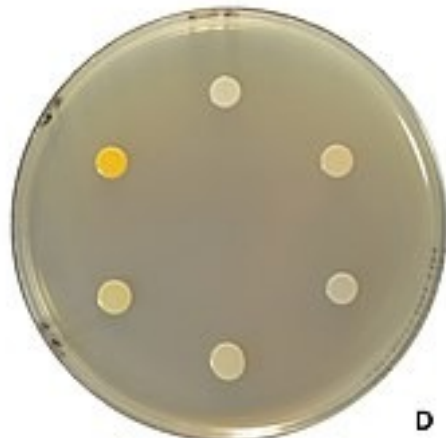


B



C

Revol



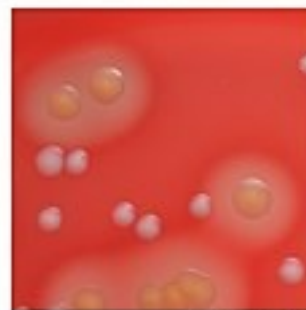
D



E



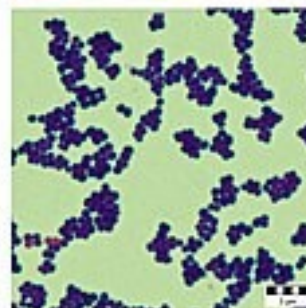
F



G



H



I

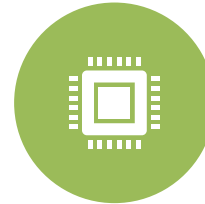


J

Morfología Macroscópica de Colonias (Práctica 3)



Staphylococcus aureus:
Colonias circulares, lisas,
opacas, de color dorado o
crema; bordes regulares.



Escherichia coli: Colonias
grisáceas, húmedas, de
crecimiento rápido; bordes
enteros.



Enterobacter hormaechei:
Colonias mucosas, grandes y
opacas; suelen tener brillo
por cápsula polisacárida.



Salmonella typhimurium:
Colonias incoloras o
blanquecinas en agar
simple; en medios
diferenciales, no
fermentadoras de lactosa.



Serratia marcescens:
Colonias con pigmento rojo
(prodigiosina), opacas y lisas.



Klebsiella pneumoniae:
Colonias muy mucosas y
brillantes debido a su
cápsula; crecimiento
expansivo.

Staphylococcus aureus



Escherichia coli



Cuestionario (Práctica 3)



¿Por qué es importante determinar las características morfológicas de las colonias?



¿Qué tipo de medios se utilizan para aislar bacterias?



¿Por qué no se forman colonias en medio líquido?



¿Cuándo se utilizan los medios en tubo inclinado?



¿Cuáles son las técnicas de sembrado y para qué se utilizan?

Respuestas cuestionario



Permiten identificar preliminarmente especies bacterianas y seleccionar colonias representativas.



Medios sólidos como Agar nutritivo y TSA.



Porque las bacterias se dispersan, generando turbidez generalizada.



Para mantener cultivos puros y observar crecimiento superficial (ej. TSA inclinado).



Estría por cuadrantes o por agotamiento: aislar colonias. Estriado general: crecimiento masivo. Zig-zag: conservación. Inoculación en caldo: observar turbidez y patrones.

Práctica 4: Aislamiento de microorganismo de microambientes

El estudiante
observará la
presencia de
microorganismos en
diferentes
microambientes.



Práctica #4: Aislamiento de Microorganismos de Microambientes



La microbiología estudia la gran diversidad de microorganismos y hábitats.



Los microambientes representan nichos donde los microorganismos llevan a cabo su metabolismo.



Comprender esta diversidad es fundamental para aplicaciones biotecnológicas.



El principio de asepsia también es esencial al trabajar con muestras ambientales.

Materiales

Muestras de suelo (10 g, capa superficial)

Hisopos estériles

Cajas de agar nutritivo, TSA y agar
dextrosa papa
Asas bacteriológicas y mecheros

Pipetas, tubos cónicos de 15 mL estériles

Agua destilada estéril y centrífuga

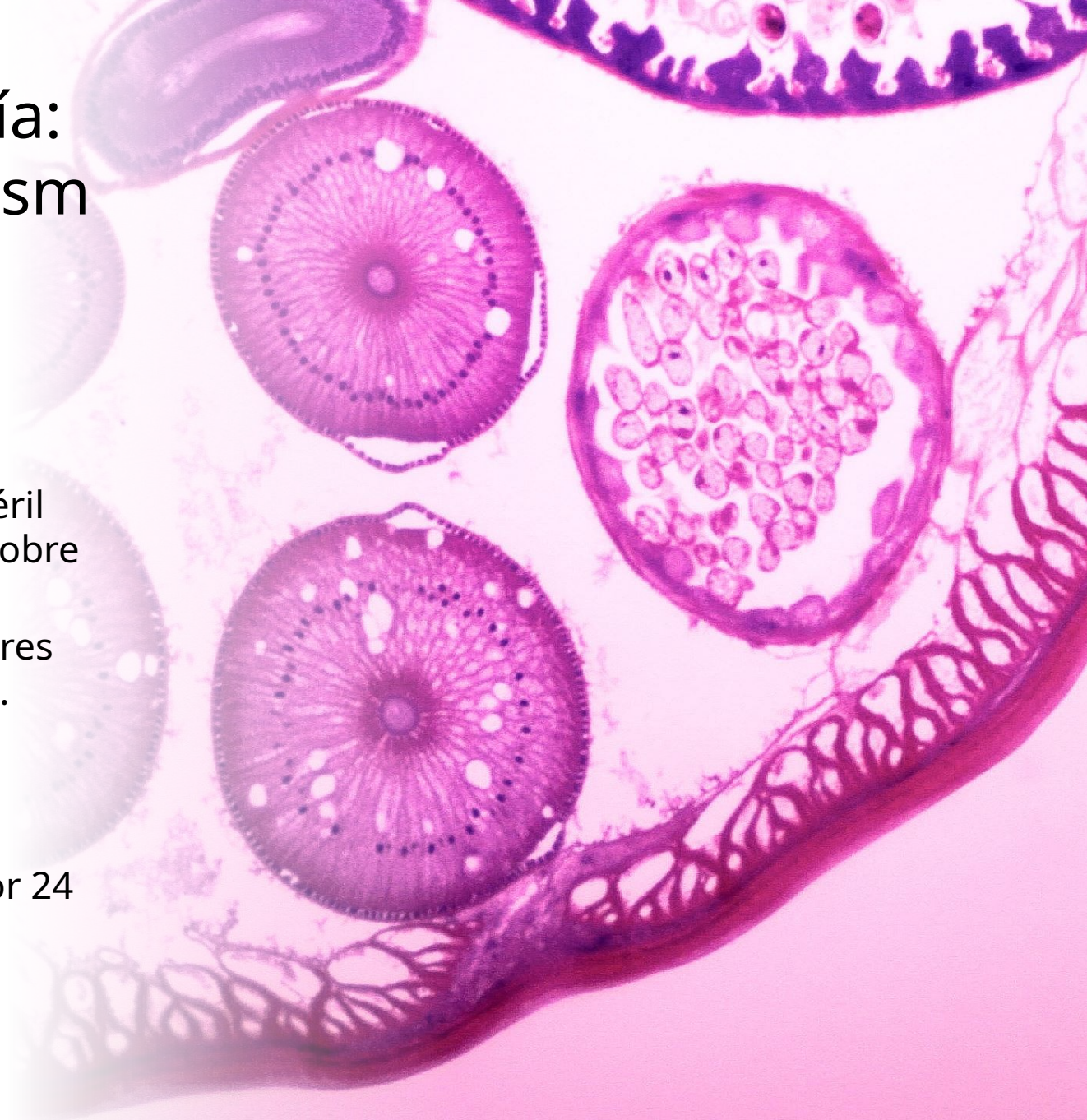
Metodología: Microorganismos Bucales

- Frotar hisopo estéril en cavidad bucal.
- Depositar en agar nutritivo, TSA y agar dextrosa papa.
- Realizar estrías cruzadas con asa estéril.
- Incubar a 37°C por 24 h.



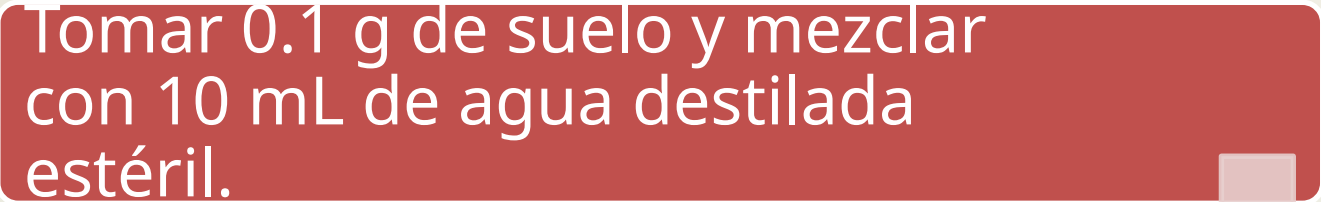
Metodología: Microorganismos de las Manos

- Frotar hisopo estéril con agua estéril sobre palmas.
- Depositar en los tres medios de cultivo.
- Realizar estrías cruzadas con asa estéril.
- Incubar a 37°C por 24 h.



Metodología: Microorganismos del Suelo

Tomar 0.1 g de suelo y mezclar con 10 mL de agua destilada estéril.



Agitar vigorosamente por 1 min.



Sembrar por estrías cruzadas en los tres medios de cultivo.



Incubar a 37°C por 24 h.



Resultados Esperados



Crecimiento diverso según el microambiente (bucal, manos, suelo).



El suelo suele mostrar mayor variabilidad de microorganismos.



Las colonias se comparan en forma, color, textura y tamaño.

Cuestionario (Práctica 4)



¿Qué microorganismos predominaron en cada una de las muestras?



¿En qué muestra se obtuvo mayor variabilidad de microorganismos? ¿Por qué?



¿Qué otras técnicas, aparte de la estría cruzada, se utilizan para aislar microorganismos?

Respuestas cuestionario



Bucal: cocos Gram+, Manos: flora mixta,
Suelo: bacilos diversos.



En el suelo, por la complejidad de su
microambiente y diversidad de
nutrientes.



Dilución seriada en placa, filtración,
cultivo en medios selectivos y
diferenciales.

Bibliografía

- Madigan Michael, Martinko John & Parker Jack. 2003. Brock, Biología de los microorganismos. España: Pearson Educación.