

4.7: Laboratorio 3. Métodos de siembra y cultivo de microorganismos. Influencia del ambiente físico sobre el crecimiento microbiano

Objetivos

- Adquirir conocimientos sobre los distintos métodos de siembra.
- Adquirir criterio en la elección de los distintos medios de cultivo.
- Utilizar factores físicos y químicos como herramienta microbiológica para estimular o inhibir el desarrollo microbiano.

Desarrollo práctico

Primer día:

Cada subgrupo contará con un cultivo líquido de uno de los siguientes microorganismos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aureoginosa*

Siembra en placas de Petri en estrías por agotamiento

Cada subgrupo sembrará por diseminación en estrías por agotamiento una placa de cada uno de los siguientes medios de cultivos: agar nutritivo, agar Cetrimide, agar manitol salado, Agar EMB a fin de evaluar las características culturales de los diferentes microorganismos. Una vez sembradas las placas se incubarán a 37°C durante 24 – 48 h.

Siembra en cajas de Petri con espátula de Drigalsky

Con pipeta estéril colocar 0,1 ml del inóculo sobre las placas de agar nutritivo (hacerlo por triplicado), diseminar inmediatamente con espátula de vidrio o metálica esterilizada a la llama del mechero. Incubar las placas a **tres temperaturas** diferentes: 4°C, 37°C y 56°C durante 24 – 48° C a fin de evaluar el efecto de la temperatura en las diferentes especies bacterianas sembradas.

Siembra en placas de Petri con hisopo estéril

Embeber el hisopo estéril sumergiéndolo en el inóculo, presionar sobre las paredes del tubo a fin de sacar el excedente de inóculo. Diseminar en estrías paralelas en diferentes direcciones sobre las placas de agar nutritivo (hacerlo por triplicado).

Estas placas de agar nutritivo sembradas serán sometidas a la **acción de la luz UV**, durante diferentes intervalos de tiempo (30 s, 5 min, 30 min.), cubriendo previamente la mitad de cada placa con papel (control). Al cabo del período de exposición a la luz UV, retirar e incubar a 37°C durante 24 – 48 h. Se evaluará el efecto del tiempo de exposición a la luz UV en las diferentes especies bacterianas sembradas.

Siembra en placa por el método de placa vertida

Tomar 1 ml del inóculo y colocarlo en el tubo que contiene el agar nutritivo fundido y enfriado a aproximadamente 45°C, agitar a fin de homogeneizar. Verter el contenido del tubo en una placa de Petri vacía y estéril. Rotar la placa en varias direcciones para permitir su homogeneización. Incubar a 37°C durante 24 – 48 h. Se observará crecimiento en la superficie y en el agar. Si el volumen de inóculo es adecuado se observarán colonias aisladas.

Siembra en tubos

- **agar semisólido en columna**, con ansa recta y se siembra por punción. Se evaluará el comportamiento de los microorganismos frente al oxígeno y la movilidad.
- **agar sólido en pico de flauta**, con ansa recta o en anillo y se siembra en estrías.
- **agar sólido inclinado**, con ansa recta o en anillo y se siembra en estrías.
- **medio líquido**, con ansa recta o en anillo y se inocula en el caldo de cultivo por homogeneización.

Incubar todos los tubos a 37°C durante 24 – 48 h.

Acción de distintos factores ambientales en el control del desarrollo microbiano: exponer los medios sembrados a distintas condiciones ambientales (según se mencionan anteriormente).

Segundo día:

- a) Observar las características de desarrollo de los diferentes microorganismos en cada uno de los medios de cultivo.
- b) Analizar los resultados y formular conclusiones.

c) Comparar los resultados obtenidos con cada una de las cepas y los informados en la bibliografía.

Tratamiento de los materiales usados:

- Una vez finalizado el trabajo de laboratorio, limpie adecuadamente las mesadas de trabajo con alcohol al 70% o hipoclorito de sodio al 1%.
- Descarte todo material contaminado en las bolsas para residuos patógenos.

Lávese las manos con jabón.

This page titled [4.7: Laboratorio 3. Métodos de siembra y cultivo de microorganismos. Influencia del ambiente físico sobre el crecimiento microbiano](#) is shared under a [not declared](#) license and was authored, remixed, and/or curated by [María M. Reynoso](#), [Carina E. Magnoli](#), [Germán G. Barros](#) y [Mirta S. Demo](#).