

PREPARACIÓN DE UN CULTIVO DE BACTERIAS, SIEMBRA DE BACTERIAS, TINCIÓN PARA OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO ÓPTICO Y REALIZACIÓN DE ANTIBIOGRAMA

Materiales:

- Agua (H₂O)
- Agar
- Vasos de precipitados
- Cajas de Petri
- Mechero de gas
- Parafilm
- Hierbas
- Trigo (o garbanzos o maíz)
- Aguja enmangada
- Estufa incubadora
- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol
- Safranina
- Microscopio óptico
- Solución saturada de diversos tipos de antibióticos

Cultivo y siembra.

Se llenan dos vasos de precipitados con agua del grifo, calentándola hasta hervido para esterilizarla. Tras dejar que se enfríe a temperatura ambiente se le añaden elementos de origen biológico, como hierbas, garbanzos, maíz o trigo.

Pasada aproximadamente una semana, se aprecia que se ha formado una espuma blanca en los vasos de precipitados. Se llenan con agar 2 placas de Petri hasta aproximadamente la mitad del volumen de cada placa. Estas placas se tapan si se debe esperar a que el agar solidifique. Tras ello se esparce espuma de los vasos de precipitados sobre la superficie del agar con una aguja enmangada, y rápidamente se tapan la cajas de Petri. El cultivo ya está hecho y se debe dejar que las bacterias se reproduzcan durante una semana aproximadamente en estufa incubadora.

Tinción de Gram y observación de bacterias al microscopio óptico.

La muestra de bacterias puede tomarse de la espuma de los vasos de precipitados y / o de las colonias que se formarán en las cajas de Petri. En éstas, pasada una semana aproximadamente, se observarán las colonias de bacterias. Las muestras se toman raspando la superficie de las colonias con una aguja enmangada y colocando las bacterias en un portaobjetos con una gota de

agua. Una vez que se tiene bastante material en el porta se realiza un frotis, que consiste en esparcir el material de manera uniforme con ayuda de la aguja enmangada. A continuación y tras fijar las bacterias con calor se efectúa la tinción de Gram:

1º.-Tinción con cristal violeta durante 30 segundos y lavar.

2º.-Tinción con lugol durante 30 segundos y lavar.

3º.-Cubrir con alcohol durante 30 segundos y lavar.

4º.-Tinción con safranina durante 30 segundos y lavar.

A continuación se coloca un cubre y ya están listas las preparaciones para observarlas en el microscopio óptico.

Realización del antibiograma.

El antibiograma consiste en realizar una serie de pruebas para determinar qué tipo de antibióticos perjudican (ya sea de forma total o parcial) a las bacterias que se tienen en cultivo.

Se parte de un cultivo en el que ya se aprecian colonias de forma evidente. Estas colonias son rotuladas de forma que posteriormente puedan ser diferenciadas con facilidad aunque cambien de aspecto, luego a cada colonia se le aplica una gota de disolución saturada de distintos antibióticos.

Pasados unos días se revisan las colonias marcadas:

(A) Si se ha producido una “calva” en la colonia significa que el antibiótico ha producido la muerte bacteriana (lisis bacteriana). Estas “calvas” serán más extensas en el caso de los antibióticos más eficaces.

(B) Si la colonia tiene el mismo aspecto inicial querrá decir que el antibiótico en cuestión no ha afectado a las bacterias (las bacterias son resistentes a este antibiótico).