

Práctica Nº 17

Control de superficies y de manipuladores.

Objetivo: Hacer prácticos todos los conocimientos adquiridos en cuanto a la preparación de muestras, preparación de medios de cultivo, siembra, incubación, identificación y recuento, mediante el análisis de la flora aeróbica superficial y de *S. aureus* en personas.

Material:

- Mechero.
- Estufas de cultivo.
- Placas de Petri de 90 mm.
- Placas RODAC de 45 mm.
- Pipetas.
- Tubos de fermentación.
- Ventanas de muestreo.
- Hisopos.
- Hisopos estériles (control de manipuladores).

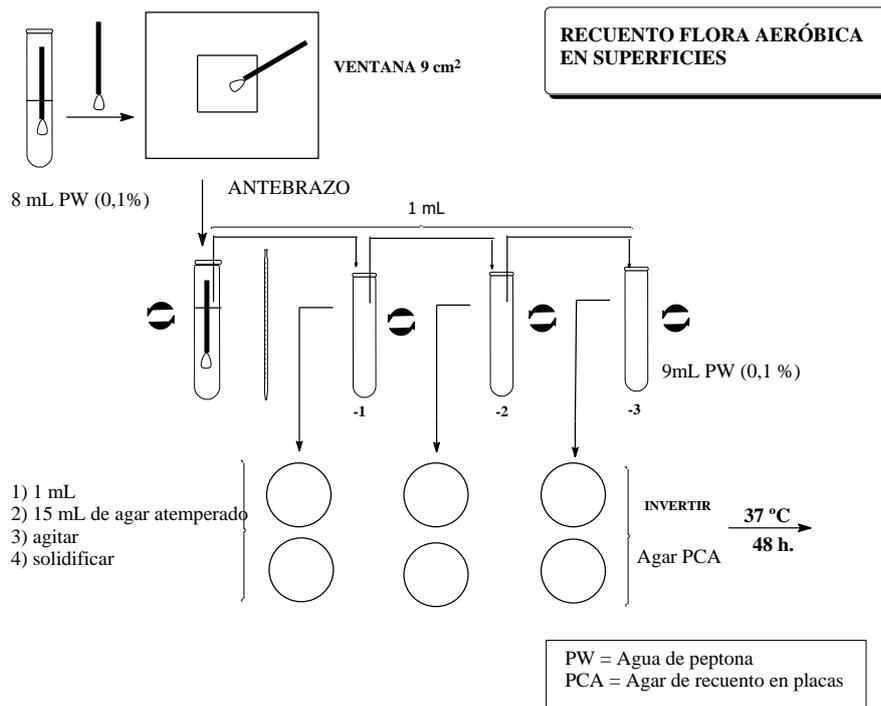
Medios de cultivo:

- Agua de peptona.
- Agar para recuento en placa (P.C.A.).
- Agar de Baird-Parker (B.P.)
- Emulsión estéril de yema de huevo-telurito de potasio.

Procedimientos:

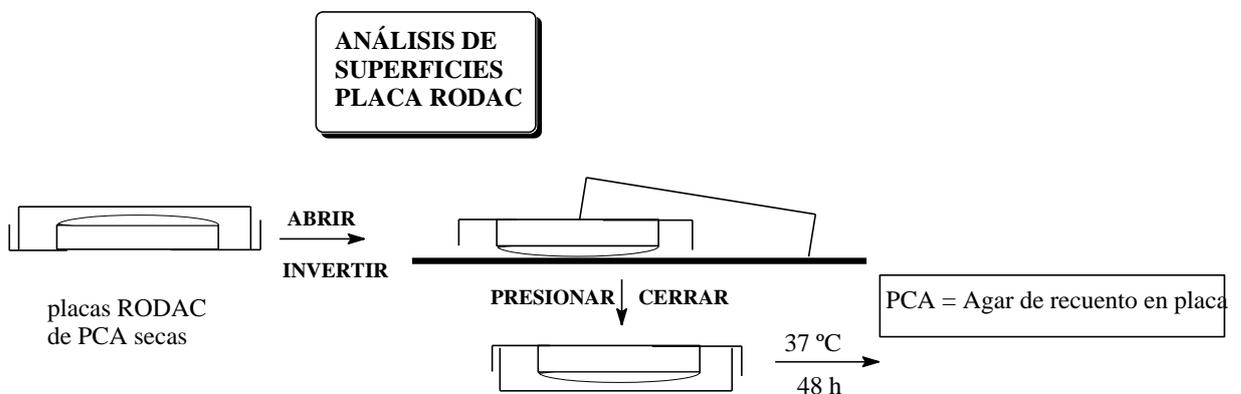
- **RECUESTO DE LA FLORA AERÓBICA EN SUPERFICIES MEDIANTE HISOPO.**

1. Prepara una ventana estéril de 9 cm².
2. Prepara un hisopo en un tubo de ensayo con 8 mL de agua de peptona al 0,1 % y esteriliza el conjunto.
3. Prepara 3 tubos esterilizados con 9 mL de agua de peptona para hacer las diluciones hasta 10⁻³.
4. Fija la ventana en el antebrazo con cinta de carrocero.
5. Con el hisopo escurrido y utilizando la técnica adecuada (rueda el hisopo al mismo tiempo que presionas haciendo líneas paralelas, cubriendo toda la ventana, en un sentido, para posteriormente hace lo mismo en dirección perpendicular al anterior), toma la muestra en la superficie del antebrazo.
6. Homogeneiza en el agua de peptona y escurre perfectamente el hisopo antes de desecharlo para su posterior esterilización.
7. A partir de la disolución de la muestra, prepara las diluciones hasta 10⁻³.
8. Siembra en masa, y por duplicado, en placas de agar P.C.A. cada dilución.
9. Incuba a 31 °C / 3 días (ó a 37 °C / 2 días).
10. Efectúa el recuento.
11. Haz los cálculos y expresa el resultado como u.f.c. / cm².



- **RECuento DE LA FLORA AERÓBICA EN SUPERFICIES MEDIANTE PLACAS RODAC.**

1. Prepara una placa RODAC seca con PCA.
2. Localiza la superficie que quieres muestrear.
3. Destapa la placa y mantén la tapa en la mano izquierda, con la placa en la derecha e invertida coloca en la superficie a muestrear.
4. Presiona, haciendo un suave balanceo (en función de la geometría de la superficie) y mantén durante algunos segundos.
5. Vuelve a tapar.
6. Incuba invertida a 31 °C / 3 días (ó a 37 °C / 2 días).
7. Efectúa el recuento.
8. Haz los cálculos y expresa el resultado como u.f.c. / cm².



- **PRESENCIA/AUSENCIA DE *S. aureus* EN MANIPULADORES.**

1. Prepara 1 placa de agar Baird-Parker perfectamente seca y divídela en 2 sectores.
2. Marca los sectores como FN (fosas nasales) y NF (naso-faríngea).
3. Prepara 2 hisopos estériles secos.
4. Con uno de ellos toma una muestra de la faringe y con el otro de las fosas nasales.
5. Inocula en cada uno de los sectores cada una de las muestras.
6. Incuba a 37 °C / 18-24 h.
7. Identifica la presencia / ausencia del microorganismo investigando sus características culturales.

