



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“PRODUCCION DE UN MANUAL
MULTIMEDIA SOBRE LA
ELABORACIÓN DE MEDIOS DE
CULTIVO PARA EL ANÁLISIS
MICROBIOLÓGICO DE LOS
ALIMENTOS”**

**T E S I
S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

ISRAEL BERBER ARANDA

ASESORES

QA. LUZ DEL CARMEN SIERRA GÓMEZ PEDROSO

MVZ. MCV. ORBELÍN SOBERANIS RAMOS



MÉXICO, D.F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres, Tere y Rigo, por todo el amor, cariño y apoyo que siempre me han dado, gracias por estar aquí conmigo, saben que los quiero mucho y que sin ustedes, esto no sería posible. Gracias por todo mamá y papá, siempre les voy a estar agradecido; que este logro en mi vida, sea tanto mío como suyo.

A mi hermana, Alejandra, por que la quiero mucho y siempre ha estado ahí; que este logro sea compartido.

A Alfredo, por estar aquí conmigo, ser mi motor y siempre apoyarme.

A mi abuelita Enriqueta y tía Soco, en su memoria, sé que les hubiera gustado verme aquí.

A mis primos, tíos y tías; gracias por su apoyo, consejos y sabidurías.

AGRADECIMIENTOS

A la QA. Luz del Carmen Sierra Gómez Pedroso y al MVZ. Orbelín Soberanis Ramos, por el apoyo y las facilidades brindadas a esta tesis, muchas gracias por soportarme y ayudarme en todo.

A la QBP. Carolina Castro Martínez, por la ayuda brindada en la obtención de los ingredientes para elaborar los medios de cultivo.

A la MVZ. Rosa H. Vite, por la solución a mis dudas y su apoyo.

A los integrantes del jurado, por sus comentarios.

A la Lab. Victoria Guzmán, por ayudarme siempre en la preparación de mi material de laboratorio para las evaluaciones.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) por el financiamiento parcial a través del proyecto PAPIME 204705 “Nuevas Tecnologías de Información y Comunicación (TIC’s) y su aplicación en Medicina Veterinaria y Zootecnia”,

A los académicos del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, con quien comparto esta tesis.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
JUSTIFICACIÓN.....	18
HIPÓTESIS.....	19
OBJETIVO.....	19
MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
RESULTADOS.....	28
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES.....	35
REFERENCIAS.....	36
ANEXOS.....	39

RESUMEN

BERBER ARANDA ISRAEL. Producción de un manual multimedia sobre la elaboración de medios de cultivo para el análisis microbiológico de los alimentos (bajo la dirección de la QA. Luz del Carmen Sierra Gómez Pedroso y el MVZ. MCV. Orbelín Soberanis Ramos).

Se produjo un manual multimedia sobre la elaboración de medios de cultivo para el análisis microbiológico de los alimentos, como herramienta de apoyo en el proceso enseñanza-aprendizaje para alumnos inscritos en la materia de "Práctica de Inocuidad y Calidad de los Alimentos de Origen Animal". Se reclutaron 60 alumnos inscritos en el semestre 2009-1. Se dividió a los alumnos en dos grupos, uno trabajó manual tradicional y el otro, el manual multimedia; posteriormente, se llevó a cabo el análisis de la estadística descriptiva de cada grupo y la prueba del signo para dos muestras pareadas. La evaluación inicial de ambos grupos no fue estadísticamente significativa, al contrario de la evaluación final, que si fue estadísticamente significativa ($P < 0.05$). Los comentarios de quienes utilizaron el manual multimedia fueron favorables.

I. INTRODUCCIÓN

En la última década, las nuevas Tecnologías de la Información y Comunicación (TIC's) han generado un cambio profundo en la manera en que los individuos se comunican e interactúan y con ello un progreso significativo en la industria, la agricultura, la medicina, el comercio, la ingeniería, la educación y los negocios.¹ Por tal motivo, los sistemas educativos en el mundo se enfrentan actualmente al desafío de utilizar las TIC's en beneficio de sus alumnos, ya que esta herramienta permitirá obtener los conocimientos necesarios para enfrentar el siglo XXI, los recursos que utilizaba el profesor para desempeñar sus labores de enseñanza eran limitados (pizarrón, diapositivas, acetatos, entre otros); en la actualidad, éstos se han ampliado notablemente gracias a la incorporación de programas multimedia (sistemas que utilizan más de un medio de comunicación al mismo tiempo en la presentación de la información, como el texto, la imagen, la animación, el video y el sonido), telemática (transmisión de datos a distancia, entre y por medio de computadoras), videoconferencias y televisión vía satélite.^{1,2}

Para fines de esta tesis, el término multimedia se refiere a cualquier programa (software) o equipo de cómputo (hardware) que tenga una relación con dos segmentos: el sonido y el vídeo a través de la computadora. Sin embargo para algunos autores el término involucra no solo al sistema, al equipo o la aplicación, sino que abarca además la integración de información procedente de diferentes fuentes como pueden ser audio, video, hipertexto ú otro tipo de información que el ser humano puede captar; es decir, como un soporte comunicativo basado en la integración de diversos medios digitales para la

creación de un documento multisensorial e interactivo. Lo que se convierte en una plataforma basada en la combinación de elementos (equipos y programas) que juntos contribuyen a un entorno informativo multisensorial, es decir, cualquier programa donde se usen los cuatro principales medios de comunicación (texto, audio, imágenes y lógica).³

En los últimos 25 años se ha extendido su empleo, por un lado debido a la disminución acelerada de los costos de los equipos, además de la proliferación y perfeccionamiento de programas para computadora que utilizan sonidos grabados y sintetizados, imágenes fijas de alta definición y secuencias de video con sonido sincronizado.⁴

Ventajas de la enseñanza con multimedia

La enseñanza asistida por multimedia no reemplazará en el corto plazo a la enseñanza tradicional que proporciona un buen profesor, pero puede complementarla muy eficazmente. Entre las ventajas de añadir un sistema de enseñanza asistido por multimedia pueden citarse:⁴

- Cada alumno puede estudiar la lección a la velocidad que requiera, en el momento y lugar que desee.
- La información proporcionada por las lecciones es la misma para cada uno de los alumnos.
- El mayor trabajo lo representa la preparación inicial de la lección. En cada periodo académico sólo deben modificarse algunas partes de la lección de

acuerdo a los avances del conocimiento y las prácticas aceptadas del ejercicio profesional.

- Es posible dividir el trabajo que representa crear lecciones de un programa amplio entre varios profesores. Las lecciones terminadas se pueden intercambiar entre diferentes escuelas, lo que además propicia la integración de una base común de conocimientos para los egresados de diferentes escuelas.
- La duplicación de las lecciones por computadora puede hacerse con una fidelidad total, sin que ocurra degradación de la calidad como sucede con las colecciones de transparencias o de videocasetes.
- Las lecciones pueden contener la información que será transmitida, así como los cuestionarios que permitan evaluar el dominio del conocimiento.
- Una gran ventaja de la enseñanza asistida por multimedia es que para muchos alumnos, ésta técnica es divertida, lo que permite una excelente asimilación del conocimiento.

El uso de esta tecnología puede facilitar el proceso de enseñanza-aprendizaje en la carrera de Médico Veterinario Zootecnista; por ello, el desarrollar un manual multimedia, permitirá brindar información clara y concisa de la metodología para la elaboración de medios de cultivo utilizados en el análisis microbiológico de los alimentos, lo que constituye una herramienta útil en las áreas de:^{3,5}

- La inocuidad alimentaria y posibles causas de alteraciones a la salud pública.

- La higiene en la fabricación, transporte y almacenamiento; así como las posibilidades de depósito y tiempo de conservación de los alimentos de origen animal.
- El grado de frescura o de alteración, y la elaboración de acuerdo con las especificaciones tecnológicas legales.

El principal objetivo del análisis microbiológico de los alimentos, es determinar la cifra total de microorganismos patógenos, microorganismos indicadores y aquellos responsables de la putrefacción (proteolítica o lipolítica).⁵

Por lo que es necesario contar con un criterio microbiológico para determinar si un alimento es de buena o de mala calidad, evaluando la inocuidad del mismo, el seguimiento de buenas prácticas de manufactura, la vida de anaquel y la utilidad de un alimento o ingrediente para cierto propósito.⁶

El análisis microbiológico de alimentos no tiene carácter preventivo sino que simplemente es una inspección que permite valorar la carga microbiana. Por lo tanto, no se puede lograr un aumento de la calidad microbiológica mediante su análisis, sino determinar en la industria, cuáles son los puntos de peligro de contaminación o multiplicación microbiana (Puntos Críticos de Control) y así evitarlos, siguiendo un código estricto de Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES), así mismo, tener Buenas Prácticas de Manejo (BPM) de los alimentos.⁷

La prevención radica en evitar la manufactura de productos con una inocuidad insuficiente y en comprobar la misma, de los ya elaborados.⁷

Para llevar a cabo el análisis microbiológico y comprobar la inocuidad de los alimentos, se utilizan los medios de cultivo que contienen material nutritivo y sirven para recuperar, multiplicar y aislar los microorganismos que pueden estar contaminando el producto.⁸ Proveen fuentes de energía, fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, minerales y factores de crecimiento que ayudan a los requerimientos nutricionales de los microorganismos.^{9,11} Generalmente la forma de presentación es en desecado, como un polvo fino o granular; también puede presentarse hidratado y preparado.⁸ Además, se pueden preparar los medios de cultivo pesando cada uno de los ingredientes.

1. Fuentes de energía. Los más utilizados son glucosa y aceptores de hidrógeno que conducen a la síntesis de ATP para obtener la energía se van a llevar a cabo reacciones metabólicas de óxido-reducción.⁹
2. Fuentes de carbono. Normalmente las fuentes de energía se utilizan como fuente de carbono para la síntesis de compuestos orgánicos celulares.⁹
3. Fuentes de nitrógeno. Elemento esencial de las proteínas y de muchos otros compuestos celulares, la mayoría de los microorganismos pueden obtener nitrógeno a partir de amoníaco (NH_4).⁹
4. Minerales y oligoelementos. Actúan como cofactores enzimáticos.^{9,10}

5. Factores de crecimiento. Factores que se deben adicionar para favorecer el crecimiento ya que intervienen en pasos metabólicos intermediarios y los microorganismos no los producen (colesterol, vitaminas, etc.).⁹

Un medio de cultivo debe tener un buen aporte de nutrientes, un pH óptimo (6-8) y, además, tienen que existir una serie de condiciones ambientales que permitan el crecimiento de los microorganismos, tales como: ^{10,11}

1. Temperatura. El desarrollo de bacterias depende de reacciones químicas y la velocidad con que se efectúen estas reacciones está influida por la temperatura; por lo tanto, ésta puede en parte determinar la velocidad de crecimiento de los microorganismos. Las especies microbianas se clasifican en los siguientes grupos: Psicrótrofos, capaces de desarrollarse entre 20-35°C o menos. Mesofílicas, crecen a temperatura ambiental (rango de 30-45°C). Termofílicas, crecen a temperaturas de entre 45-70°C.¹³
2. Humedad. Para la mayoría de bacterias la humedad relativa óptima es de 70 a 80%.⁹
3. Atmósfera. Los gases que principalmente afectan el desarrollo microbiano son el oxígeno y el dióxido de carbono. Las bacterias presentan una respuesta amplia y variable al oxígeno libre clasificándose en 5 grupos: Aerobias, bacterias que se desarrollan en

presencia de oxígeno libre. Anaerobias, bacterias que se desarrollan en ausencia de oxígeno libre. Anaerobias facultativas, bacterias capaces de crecer en condiciones tanto de aerobiosis como de anaerobiosis. Anaerobios aerotolerantes, la condición óptima para su desarrollo es la anaerobiosis, aunque pueden permanecer viables en presencia de oxígeno. Microaerofílicas, requieren de una baja tensión de oxígeno y de 5 a 10% de dióxido de carbono.^{9,11}

Los medios de cultivo más utilizados en el análisis microbiológico de alimentos de acuerdo a su clasificación por características físicas: son los medios líquidos y sólidos.⁸

Los medios líquidos son aquellos que no contienen agar, envasados en tubos, botellas y matraces, se siembran por agitación de asa. Se emplean fundamentalmente para cultivar a los microorganismos y obtener grandes cantidades de los mismos, o bien para la producción de metabolitos específicos, estimular y promover la selección de algún o algunos microorganismos e impedir que otros se multipliquen, identificar al microorganismo estudiado mediante pruebas bioquímicas, diluir efectos tóxicos y observación de motilidad en preparaciones húmedas. El crecimiento en este medio se manifiesta por turbidez.^{8,9}

Los medios sólidos contienen 1.5% de agar, colocados en cajas Petri, botellas o tubos, se siembran por estría continua o picadura. Se utilizan para obtener colonias aisladas de microorganismos, para la realización de pruebas de

susceptibilidad a quimioterapéuticos y para guardar cepas bacterianas y micóticas.^{8,9}

En cuanto a su uso, los medios de cultivo pueden ser:

1. Medios de cultivo básicos o generales. Promueven el desarrollo de bacterias y hongos poco exigentes, contienen los mínimos requerimientos nutricionales. Son utilizados para análisis cuantitativos, conservación de cepas y muestreo del medio ambiente o superficie. Ejemplos: Agar Nutritivo, Agar Tripticasa Soya (TSA), Caldo Nutritivo, Agar Triptona Extracto de Levadura y Agar Sabouraud Dextrosa (SDA).⁸
2. Medios selectivos. Son medios que contienen sustancias inhibitorias que impiden total o parcialmente el desarrollo de algunos microorganismos no deseados, pero en una flora mixta permiten el aislamiento y recuperación del microorganismo o grupo de microorganismos de interés. Para poder inhibir el desarrollo de los microorganismos generalmente estos medios contienen: Colorantes, sales inorgánicas, sales biliares, antibióticos y/o detergentes. Ejemplos: Agar Mc Conkey (McC), Agar Bismuto Sulfito, Agar XLD, Agar Hektoen, Verde Brillante (VB), Micobiotic, Agar Manitol Sal (MSA), Caldo Lauril Sulfato de Sodio.^{8,9}
3. Medios enriquecidos. Son medios que estimulan la multiplicación de algún microorganismo determinado que requiere nutrimentos exigentes a través de factores de crecimiento e impiden o inhiben la reproducción

de otros. Generalmente contiene uno o más de los siguientes ingredientes: Sangre, suero, líquido ascítico, huevo, carne, vitaminas y aminoácidos específicos, entre otros. Ejemplos: Gelosa sangre, agar Sabouraud con ácido nicotínico, Agar Lowenstein-Jensen, Caldo Infusión Cerebro-Corazón.^{8,9}

4. Medios de enriquecimiento. Son líquidos y poseen efectos inhibitorios sobre ciertos géneros bacterianos, favoreciendo al mismo tiempo el desarrollo de otros que se encuentran en menor proporción en la muestra. Son medios muy utilizados para recuperar *Salmonella* y evitar otros microorganismos intestinales. Ejemplo: Caldo Rappaport-Vassiliadis, Caldo Tetrionato y Caldo Selenito.⁹
5. Medios diferenciales. Aquellos que contienen indicadores de ácido-base, redox, o sustancias que detectan cambios en el medio o en las características típicas de las colonias, con el fin de poder diferenciar géneros o especies de algunos microorganismos. Ejemplo: Agar MacConkey (McC), Agar Sangre, Verde Brillante (VB), Agar Manitol Sal (MSA), Agar Níger, Biggy, PPLO con acetato de talio y penicilina.^{8,9}
6. Medios para cultivar géneros anaeróbicos. Son medios de cultivo para aquellos microorganismo que requieran condiciones de anaerobiosis o de microaerofilia.⁷ Contienen una serie de sustancias reductoras (tioglicolato, sulfoxilatoformaldehído, cistina) que garantizan una anaerobiosis suficiente. Para su incubación se utilizan cámaras de

anaerobiosis. Ejemplo: Agar Reforzado para Clostridios (RCA), Agar Schaedler, Agar Sangre para Anaerobiosis¹⁴

7. Medios de cultivo para pruebas de antibiograma. Son medios de cultivo generales donde se colocarán en la superficie, una vez solidificado, uno o varios discos de antibióticos (placa de antibiograma) para probar su actividad contra el microorganismo sembrado. Ejemplo: Agar Müller-Hinton.⁸
8. Medios de transporte. Son medios utilizados para el transporte de las muestras desde el lugar de su recolección hasta el laboratorio. Estos medios impiden que se altere la proporción original de la flora microbiana y preservan la viabilidad de los microorganismos. Ejemplo: Stuart, Campythio, Carry-Blair, SSF.^{8,9}
9. Medios para filtración a través de membrana. Pueden ser líquidos o sólidos. En el primer caso, se preparan a la concentración usual y permiten el crecimiento de microorganismos presentes en la membrana. Los medios sólidos tienen un mínimo de agar para favorecer la difusión de nutrientes del medio de la membrana. Ejemplo: Agar Cromogénico para Coliformes (ACC), Agar M-Green.⁸

Algunos de los medios de cultivo necesitan ser esterilizados con el fin de obtener resultados confiables en el análisis microbiológico de alimentos, la esterilización es un proceso que destruye o elimina todo tipo de vida

(microorganismos y esporas) en el material o sustancia de que se trate, puede realizarse por métodos físicos y químicos.^{9,12}

Los métodos físicos de esterilización son:⁹

1. Calor húmedo (vapor a presión en autoclave a 121°C-15 libras-15 minutos).
2. Filtración (filtros planos y en forma de columna, filtros de membrana con poros de 0.8, 0.6, 0.45, 0.2 y 0.1 micromilímetros de diámetro).
3. Radiaciones ionizantes (rayos α , β , γ y x).
4. Radiaciones no ionizantes (rayos ultravioleta e infrarrojos).

Los métodos químicos sólo pueden tener efecto esterilizante cuando se utilizan apropiadamente en concentración efectiva, tiempo de exposición, pH, temperatura y naturaleza del microorganismo. Algunos ejemplos son: Formaldehído, cloro, glutaraldehído, óxido de etileno, peróxido de hidrógeno y ácido peracético.⁹

Los métodos más utilizados para esterilizar medios de cultivo, son los físicos: Calor húmedo (autoclave) ó filtración.¹⁰

Una vez estéril el medio de cultivo es importante tomar las debidas precauciones durante el manejo posterior, con la finalidad de excluir de él posibles contaminantes. Así, hay que tener presente que otros materiales que entren en contacto con el medio de cultivo estéril deben a su vez estar estériles.¹⁰

La técnica usada para evitar contaminantes durante la manipulación de cultivos y de medios de cultivo estériles se llama técnica aséptica.¹⁰

Los contaminantes aéreos constituyen el problema más común ya que el aire siempre contiene partículas de polvo que generalmente contienen comunidades de microorganismos.¹⁵

Cuando los recipientes se abren, deben ser manejados con mucho cuidado para evitar que el aire posiblemente contaminado entre en estos. Para evitar lo anterior se recomienda la utilización de desinfectantes (cloruro de benzalconio, cloro, formaldehído, ácido acético, ácido bórico, etanol) en superficies donde será colocado el medio de cultivo, encender el mechero y trabajar siempre al lado de éste en un diámetro de 30 cm. o radio de 15 cm., pasar la boca del recipiente que contenga medio líquido por el mechero (flameado) cada vez que se utilice.^{9,10,15}

Hecho lo anterior, se colocan las cajas Petri sobre la mesa y no se deben destapar sino hasta el momento que vayan a ser utilizadas. Es recomendable colocarse un cubre bocas cuando se realice el vaciado y evitar hablar en todo momento para no contaminar el medio de cultivo.¹⁶

Es conveniente mantener el mechero encendido y trabajar cerca del área estéril al momento del vaciado en las cajas de Petri, se debe levantar la tapa de la caja Petri con la mano izquierda, sin soltarla y sin retirarla demasiado de la base de la misma caja mientras que con la mano derecha tomar el matraz

que contiene el medio de cultivo y realizar el vaciado de aproximadamente 15 ml a 20 ml de agar por caja procurando que no se formen burbujas, posteriormente, se procede a tapar la caja inmediatamente.¹⁶

Si se forman burbujas, tomar el mechero y flamear el medio de cultivo sobre la superficie de la caja de Petri de manera rápida, se procede a tapar la caja.¹⁶

Se debe esperar a que el medio solidifique, se rotulan los medios de cultivo anotando la fecha de elaboración y con las iniciales del tipo de medio de cultivo. Si las placas no se van a utilizar el mismo día se sujetan con cinta y se colocan en el refrigerador de manera invertida para evitar que el vapor condensado caiga sobre el medio de cultivo y lo pueda contaminar.¹⁶

Cuando se vayan a utilizar los medios de cultivo preparados, será necesario secar las placas invertidas en estufa a 37°C. Antes de realizar el sembrado de microorganismos.¹⁶

II. JUSTIFICACIÓN

El uso de la tecnología facilita el proceso de enseñanza aprendizaje al permitir al usuario utilizar al mismo tiempo: texto, audio, imágenes y la lógica en un entorno multisensorial. La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, actualmente cuenta con la infraestructura, material y equipo para elaborar un manual multimedia; el cual pretende proporcionar información clara y concisa sobre la elaboración, características y funciones que tienen los siguientes medios: Agar Bismuto Sulfito, Agar XLD, Agar Entérico Hektoen, Agar Triptona-Extracto de Levadura, Caldo Lauril Sulfato de Sodio, Caldo Rappaport Vassiliadis, Caldo Infusión Cerebro-Corazón; así como desarrollar paso a paso su preparación, lo que servirá a los estudiantes y profesionales tener una visión precisa de cómo se deben de realizar y los resultados que pueden esperar.

III. HIPÓTESIS

La utilización de un manual multimedia de medios de cultivo para el análisis microbiológico de alimentos permitirá mejorar la calidad de la enseñanza y por ende un mayor grado de aprendizaje del alumno.

IV. OBJETIVOS

1. Producir un manual multimedia sobre la elaboración de medios de cultivo para análisis microbiológicos de alimentos.
2. Integrar la metodología y los procesos en la elaboración de medios de cultivo para análisis microbiológicos de alimentos.
3. Evaluar el grado de aprendizaje en un grupo de alumnos que utilizan el manual multimedia en comparación con otro que utilizará un manual tradicional.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Metodología y proceso para la elaboración de los medios de cultivo

Para determinar cuáles son los principales medios de cultivo utilizados en el análisis microbiológico de los alimentos, se revisaron las siguientes Normas Oficiales Mexicanas (NOM):

1. NOM-065-SSA1-1993, que establece las especificaciones sanitarias de los medios de cultivo. Generalidades;
2. NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para determinación de *Salmonella* en alimentos;
3. NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa;
4. NOM-115-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos;
5. NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.

Lo que permitió determinar que los medios de cultivo: Agar Bismuto Sulfito, Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato, Agar Entérico Hektoen, Agar Triptona-Extracto de Levadura, Caldo Lauril Sulfato de Sodio, Caldo Rappaport –Vassiliadis y Caldo Infusión Cerebro-Corazón, son los que comúnmente se utilizan en el análisis microbiológico de los alimentos. El modo de preparación, empleo e interpretación de resultados, de cada medio, se presentan en el anexo 1.

Agar Bismuto Sulfito (BS)

Es un agar selectivo para aislamiento y diferenciación de *Salmonella thyphimurium* y otras Salmonellas.¹⁴

Fundamento: El Verde brillante y el bismuto inhiben considerablemente a los microorganismos acompañantes (especialmente Gramm positivos). Las colonias de *Salmonella* spp H₂S-positivas presentan ennegrecimiento debido al sulfuro de hierro. La reducción de los iones bismuto a bismuto metálico produce brillo metálico alrededor de las correspondientes colonias.¹⁴

Su composición, por litro, es: Extracto de carne (5.0 gramos), peptona de carne (10.0 gramos), glucosa (5.0 gramos), hidrogenofosfato disódico (5.0 gramos), anhídrido sulfato ferroso (0.3 gramos), verde brillante (0.025 gramos), indicador sulfito-bismuto (8.0 gramos) y agar bacteriológico (20 gramos).^{14,17}

Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD)

Es un agar selectivo para el aislamiento y diferenciación de Enterobacterias patógenas (*Salmonella* spp). En combinación con un medio de enriquecimiento previo (Caldo Rappaport-Vassiliadis), el Agar XLD puede detectar un número notablemente mayor de *Salmonella* spp que con otros medios de cultivo.¹⁴

Fundamento: La degradación de la xilosa, lactosa y sacarosa a ácido, produce un viraje a amarillo del rojo fenol. El tiosulfato y el citrato férrico amónico muestran la formación de ácido sulfhídrico (H₂S-positivas) por la precipitación de sulfuro de hierro negro en las colonias. Los microorganismos que

descarboxilan la lisina, producen cadaverina y se reconocen por la presencia de un color rojo-purpúreo alrededor de las colonias (debido al aumento del pH). Las reacciones anteriores pueden presentarse de manera simultánea o sucesivamente, esto puede dar lugar a diversos matices de color del indicador de pH, o un viraje de amarillo a rojo en el transcurso de una incubación más prolongada.¹⁴

Su composición, por litro, es: Xilosa (3.75 gramos), L-lisina (5.0 gramos), lactosa (7.5 gramos), sacarosa (7.5 gramos), cloruro de sodio (5.0 gramos), extracto de levadura (3.0 gramos), rojo fenol (0.08 gramos), desoxicolato de sodio (2.5 gramos), citrato férrico-amónico (0.80 gramos), tiosulfato de sodio (6.8 gramos) y agar bacteriológico (15 gramos).^{14,17}

Agar Entérico Hektoen (HE)

Agar selectivo para la demostración y aislamiento de microorganismos intestinales patógenos, *Salmonella* spp y *Shigella* spp¹; de muestras de alimento.^{14,17}

Fundamento: El Agar Hektoen posee un alto efecto inhibitorio en la flora acompañante (Gramm positivas) de las muestras debido a las sales biliares presentes en el medio; por lo tanto, permite la obtención de altos rendimientos en *Salmonella* spp y *Shigella* sppⁱ, esto se debe a que la inhibición de estos microorganismos está disminuida por la adición de cantidades relativamente elevadas de peptona y carbohidratos.¹⁴

¹ En proceso de reconstrucción.

Contiene dos indicadores de pH: Azul de bromotimol y fucsina ácida, las colonias lactosa-positivas muestran una diferencia cromática frente a las colonias lactosa-negativas.¹⁴

El tiosulfato de sodio como sustancia reaccionante y el citrato férrico amónico, como indicador, muestran la formación de ácido sulfhídrico (H₂S-positivas) por la precipitación de sulfuro de hierro negro en las colonias.¹⁴

Su composición, por litro, es: Proteosa peptona (12.0 gramos), extracto de levadura (3.0 gramos), lactosa (12.0 gramos), sacarosa (12.0 gramos), salicina (2.0 gramos), sales biliares (9 gramos), cloruro de sodio (5.0 gramos), azul de bromitol (0.064 gramos), fucsina ácida (0.100 gramos), citrato férrico-amónico (1.5 gramos), tiosulfato de sodio (5.0 gramos) y agar bacteriológico (13.5 gramos).¹⁷

Agar Triptona Extracto de Levadura o Cuenta Estándar

Agar general para la cuenta de microorganismos aerobios en alimentos, el resultado se reporta en Unidades Formadoras de Colonias (UFC/gramos o mililitro).^{14,18}

Su composición, por litro, es: Extracto de levadura (2.5 gramos), triptona (5.0 gramos), dextrosa (1.0 gramos) y agar bacteriológico (15.0 gramos).¹⁸

Caldo Lauril Sulfato de Sodio (LSS)

Medio de cultivo selectivo para detección previa de coliformes en aguas, productos lácteos y alimentos.¹⁴

Fundamento: Posee una cantidad elevada de nutrientes y fosfatos que garantizan el rápido crecimiento y la intensa formación de gas, ésta se debe a la fermentación de la lactosa y puede detectarse con campanas de fermentación. El contenido de lauril sulfato inhibe el crecimiento de la flora acompañante indeseable, especialmente Gramm positivos.¹⁴

Su composición, por litro, es: Triptosa (20.0 gramos), lactosa (5.0 gramos), cloruro de sodio (5.0 gramos), lauril sulfato de sodio (0.1 gramos), fosfato dipotásico (2.75 gramos), fosfato monopotásico (2.75 gramos).^{14,20}

Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV)

Para el enriquecimiento selectivo de *Salmonella* spp, con excepción de *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* A, en alimentos.¹⁴

Fundamento: El verde de malaquita inhibe flora acompañante, incluyendo Gramm positivos y algunas enterobacterias (*Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* A), el clorhidrato de magnesio aumenta la presión osmótica del medio y la peptona en el medio de cultivo es para obtener un mejor crecimiento de *Salmonella* spp a 43°C. La reducción del pH a 5.2 mejora la selectividad.^{14,17}

Su composición, por litro, es: Peptona (4.5 gramos), clorhidrato de magnesio (28.6 gramos), cloruro de sodio (7.2 gramos), fosfato de potasio dihidrogenado (1.26 gramos), fosfato de dipotásico hidrogenado (0.18 gramos), verde de malaquita (0.036 gramos).^{14,17}

Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI)

Medio líquido enriquecido. Utilizado para realizar las pruebas de coagulasa y termonucleasa en el “Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* de los alimentos” y en el procedimiento de identificación bioquímica de *Salmonella* spp.^{17,19}

Fundamento: La infusión cerebro de ternera, infusión corazón de res y peptona, son la fuente de carbono, nitrógeno y vitaminas. Glucosa es el carbohidrato fermentable, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el fosfato disódico otorga capacidad amortiguadora.¹⁴

Su composición, por litro, es: Infusión cerebro de ternera (200.0 mililitros), infusión corazón de res (250.0 mililitros), peptona (10.0 gramos), cloruro de sodio (5.0 gramos), fosfato disódico (2.5 gramos) y glucosa (2 gramos).^{17,19}

Producción del Manual Multimedia

Se elaboró un guión literario (Anexo 2) considerando una introducción, el proceso de elaboración de los siguientes medios de cultivo: Agar Bismuto Sulfito, Agar XLD, Agar Entérico Hektoen, Agar Triptona-Extracto de levadura,

Caldo Lauril Sulfato de Sodio, Caldo Rappaport –Vassiliadis y Caldo Infusión Cerebro-Corazón; y el crecimiento bacteriano que se espera en cada uno.

Con base en el guión se grabó el sonido y las imágenes (video y/o fotografía) de cada uno de los medios de cultivo, se utilizó: Una lámpara de luz fría, una cámara de video digital (AG-DVC20P, Panasonic®), una cinta de 60 minutos DV y la estación de trabajo Dell® Precision 390. La edición se realizó con el programa *Adobe Premier Elements 3.0*². Así como su integración en un DVD (Digital Versatil Disk).

El manual se escribió utilizando el programa *Microsoft Word 2003*³, posteriormente se transfirió a formato PDF (Portable Document Format) con el programa *Adobe Acrobat 8.0*⁴ para después, ya en formato PDF, incorporarle el video conforme a cada medio de cultivo.

Manual Tradicional

Se utilizó el documento PDF anterior, sólo que sin el video.

Evaluación del manual multimedia

Grupos experimentales: Se reclutaron 60 estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, los cuales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos de similar número y composición. El primer grupo recibió la proyección del manual multimedia (MM) sobre el medio de cultivo llamado, Caldo Infusión Cerebro-Corazón; mientras el segundo grupo

² *Adobe Systems Incorporated*. San Jose, California, U.S.A.

³ *Microsoft*. Redmond, Washington, U.S.A.

⁴ *Adobe Systems Incorporated*. San José, California, U.S.A.

recibió una plática utilizando como apoyo el manual tradicional (MT), sobre el medio de cultivo antes mencionado. Posteriormente se les pidió a ambos grupos elaborarlo.

Evaluaciones inicial y final: A ambos grupos se les aplicó un cuestionario previo, sin ningún tipo de manual sobre la elaboración del medio de cultivo antes citado; posteriormente se llevó a cabo la proyección y plática correspondiente (MM y MT) para elaborar el Caldo Infusión Cerebro-Corazón. Finalmente ambos grupos fueron re-evaluados con el mismo cuestionario. Al finalizar las evaluaciones, aquellos alumnos que trabajaron con MT se les proyectó el MM y se les pidieron sus comentarios.

El cuestionario consistió en 10 preguntas (Anexo 3), contenía los pasos en desorden para elaborar el Caldo Infusión Cerebro-Corazón, se les pidió que los re-ordenaran y en base a esto se obtuvo la calificación de cada estudiante.

Análisis estadístico: A los datos obtenidos a partir de las evaluaciones, inicial y final, se les aplicaron pruebas para determinar distribución normal (prueba de Shapiro-Wilk, sesgo y de curtosis) y se obtuvieron sus medidas de resumen (tendencia central y dispersión) en las evaluaciones previa y posterior, de cada grupo (MM y MT). En virtud de no presentar normalidad se realizó la “Prueba de signos para dos muestras pareadas”. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa *Stata 9*⁵.

⁵ *Stata Corporation*, College Station. Texas, U.S.A.

VI. RESULTADOS

Se elaboró un manual multimedia (Anexo 4), que contiene:

1. Portada.
2. Índice.
3. Prólogo.
4. Introducción.
5. Medio de cultivo Bismuto Sulfito.
6. Medio de cultivo XLD.
7. Medio de cultivo Entérico Hektoen.
8. Medio de cultivo Agar Triptona Extracto de Levadura o Cuenta Estándar.
9. Medio de cultivo Lauril Sulfato de Sodio.
10. Medio de cultivo Rappaport-Vassiliadis.
11. Medio de cultivo Infusión Cerebro-Corazón.
12. Ciclo de Esterilización y su control.
13. Control de Calidad en los medios de cultivo.

Un DVD (Anexo 5) con el video del proceso de elaboración de los medios de cultivo ya mencionados, y que contiene:

1. Menú.
2. Introducción (1 min. 30 seg.).
3. Medio de cultivo Bismuto Sulfito (4 min. 47 seg.).
4. Medio de cultivo XLD, (5 min. 52 seg.).
5. Medio de cultivo Entérico Hektoen, (5 min. 51 seg.).
6. Medio de cultivo Triptona Extracto de Levadura ó Cuenta Estándar (4 min. 48 seg.).
7. Medio de cultivo Lauril Sulfato de Sodio (4 min. 39 seg.).
8. Medio de cultivo Rappaport-Vassiliadis (4 min. 06 seg.).

9. Medio de cultivo Infusión Cerebro-Corazón (3 min. 21 seg.).
10. Ciclo de Esterilización y su control (1 min. 41 seg.).
11. Control de Calidad en los medios de cultivo (1 min. 29 seg.).

Evaluación del aprendizaje

Se reclutaron a 60 alumnos, 30 de ellos recibieron una plática con manual tradicional (MT) y 30 con el manual multimedia (MM). La estadística descriptiva para cada uno de los grupos se muestra en el Cuadro 1, antes y después de la evaluación.

Cabe destacar que de los 60 sujetos, 7 (11.66%) tenían experiencia en la elaboración de medios de cultivo y los 53 restantes (88.33%), no la tenían.

Cuadro 1

Estadística Descriptiva

Grupo	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Evaluación inicial					
Alumnos con manual tradicional (MT)	3.43	1.81	3	1	7
Alumnos con manual multimedial (MM)	3.7	2.30	3	1	8
Total	3.56	2.06	3	1	8
Evaluación final					
Alumnos con manual tradicional (MT)	5.03	1.77	5	2	8
Alumnos con manual multimedial (MM)	6.23	1.610	6	3	10
Total	5.63	1.78	6	2	10

Los resultados de las evaluaciones iniciales y finales para cada alumno, por tipo de manual, se muestran en el anexo 6.

Evaluación inicial

En el grupo del MT, tres sujetos tenían experiencia en elaborar medios de cultivo y que trabajaron con el manual tradicional, sólo dos obtuvieron calificación aprobatoria (6 y 7). De los 30 sujetos evaluados en este grupo (MT), seis obtuvieron calificación >6 (20%) y el resto (24) entre 1 y 5.

En el grupo del MM, cuatro sujetos tenían experiencia en elaborar medios de cultivo, sólo dos obtuvieron calificación aprobatoria (6 y 7). De los 30 sujetos evaluados, siete obtuvieron calificación >6 (23.33%) y el resto (23) entre 1 y 5.

Evaluación final

En el grupo del MT, de los tres sujetos que tenían experiencia en elaborar medios de cultivo, mantuvieron constante su calificación (7 y 7). De los 30 sujetos evaluados en este grupo (MT), doce obtuvieron calificación >6 (40%).

En el grupo del MM, de los cuatro sujetos que tenían experiencia en elaborar medios de cultivo, sólo los dos mantuvieron constante su calificación (7 y 8). De los 30 sujetos evaluados en este grupo, diecinueve obtuvieron calificación >6 (63.33%).

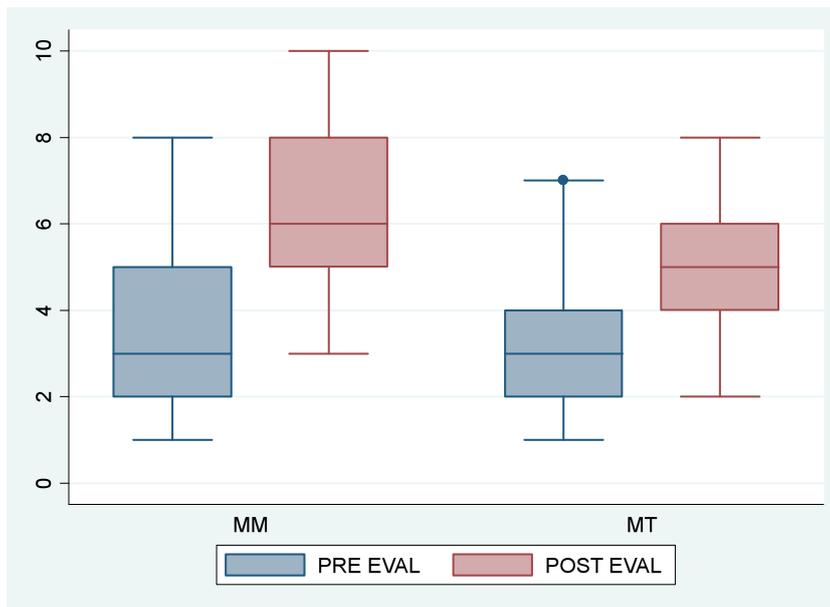
Prueba Estadística

Al realizar la Prueba de signos para dos muestras pareadas (Cuadro 2 y Figura 1), la diferencias de las evaluaciones inicial y final, tanto de manual tradicional como de manual multimedia, muestra una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 2

Prueba del signo para dos muestras pareadas			
Signo	Observaciones	Suma de rangos	Esperados
positivo	60	1830	915
negativo	0	0	915
Cero	0	0	0
Total	60	1830	1830
	varianza sin ajustar	18452.5	
	Ajuste por lazos		-1123.75
	ajuste por cero		0
	ajuste varianza	17328.75	
	Ho: grupo=0		
	Z =6.951		
	Prob > z	0.00000	

Figura 1. Diagrama de Caja de la Comparación entre grupos.



Características subjetivas.

Los comentarios de aquellos que trabajaron con el manual tradicional, se orientan hacia confusión y omisión de detalles (material, procedimientos), así como de falta de seguridad en lo que se está realizando (Anexo 7).

Quince individuos que vieron la proyección del manual multimedia comentaron que facilita el procedimiento de elaboración de medios de cultivo, catorce mostraron gusto por dicho manual, a diez les permitió hacer más rápido y con mayor seguridad el medio, siete ven la ventaja de poder repetir el video en caso de no haber entendido, nueve piensan que ambos métodos (MT y MM) deben fusionarse para mejorar la enseñanza y uno, opina, que deben darse videos en las prácticas de laboratorio.

Todos los comentarios fueron positivos respecto al uso del manual multimedia.

VII. DISCUSIÓN

Existen pocas publicaciones que comparen los sistemas tradicionales de enseñanza contra el sistema multimedia.⁴ Sin embargo, las Tecnologías de la Información y la Comunicación (TIC's) se han incorporado a las universidades de manera rápida para satisfacer las necesidades que tiene ésta ante la sociedad.²¹

En la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, el uso de sistemas multimedia es cada vez mayor, Departamentos como: Nutrición Animal y Patología General y Sistémica, utilizan este tipo de sistemas para mejorar el proceso enseñanza-aprendizaje.⁴

Cuevas y López²¹, señalan que el uso de las TIC's, facilitan la realización de actividades y la comunicación con otras personas, ya que brindan un rápido y fácil acceso a una gran cantidad de información e interactividad con ésta.

La comunicación es la transmisión de conocimientos que implican la existencia de un emisor y de un receptor, lo que se considera la base de la enseñanza.²¹

En el diseño eficiente de la enseñanza se requiere activar la motivación, informar al alumno del objetivo, dirigir la atención, estimular el recuerdo, proveer una guía, mejorar la retención, promover la transferencia del conocimiento, estimular el desempeño y proporcionar retroalimentación. La retroalimentación es a menudo el factor más importante a cuidar, ya que la acción sin retroalimentación es improductiva para el estudiante.^{4,22}

Los programas de cómputo pueden ser interactivos y, al mismo tiempo, retroalimentar al estudiante ya que el medio puede reaccionar a las acciones del estudiante, entre otros el autodirigir su aprendizaje, revisar el material a la velocidad y horario que eligiesen, recapitular información y regresar si es necesario.^{4,21}

Otras de las ventajas de un sistema interactivo o multimedia es que:⁴

- El alumno puede hacer asociaciones y comparaciones, así como observar aspectos que no son posibles con sólo el texto.
- Los alumnos requieren muy poca instrucción previa para utilizar el programa.
- La información que se presenta, es la misma para todos.
- La mayoría piensa que es agradable y no aburrido.

Sin embargo, la desventaja principal en el uso de estos sistemas es el tener acceso a una computadora.

En cuanto a las ventajas del manual multimedia que se desarrolló, destacan:

- Mejor manejo del instrumental y equipo de laboratorio.
- Disminuyen las dudas con respecto a la elaboración de los medios, ya que se observa paso a paso el proceso.
- Es un video de apoyo educativo.
- Mayor seguridad en la realización del proceso de elaboración de los medios.

Entre las desventajas del manual multimedia, se pueden citar:

- Tener acceso a una computadora para poder utilizarlo.
- Se limita la interacción del usuario.
- Se pierde la interacción tangible entre objeto-individuo.

Con respecto a la evaluación del aprendizaje, mejoró notablemente gracias al uso de manual multimedia, en las calificaciones obtenidas por los alumnos que utilizaron este recurso. Además Los comentarios vertidos sobre el manual multimedia, resultaron alentadores y satisfactorios.

VIII. CONCLUSIONES

- El uso de un manual multimedia permitió aumentar el conocimiento y algunas habilidades de los alumnos en la elaboración de medios de cultivo.
- El uso de sistemas multimedia, facilita el proceso enseñanza-aprendizaje del alumno, al permitir interactuar con la información.
- Sirve como apoyo y material didáctico al profesor que esté interesado en el tema.
- El uso de enseñanza asistida por sistemas multimedia, resultó bastante atractivo, fácil e interesante para la mayoría de los sujetos.

Bibliografía.

1. Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO). Las tecnologías de la información y la comunicación en la formación docente: Guía de planificación. Montevideo: Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO). División de Educación Superior. 2004.
2. Cabero AJ *et al.*: Diseño y evaluación de un material multimedia y telemático para la formación y perfeccionamiento del profesorado universitario para la utilización de las nuevas tecnología aplicadas a la docencia [en línea] 2002 [Citada en 2007 Feb 15] Disponible en: <http://tecnologiaedu.us.es/bibliovir/libros.htm>
3. Gutiérrez Martín A. Educación Multimedia y Nuevas Tecnologías. Madrid: Ediciones de la Torre. 1999.
4. Valero EG. La enseñanza asistida por multimedia en el entrenamiento para el diagnóstico de tuberculosis. Tesis de Maestría en Ciencias Veterinarias. México (DF): FMVZ, UNAM. 1995
5. Fehlhaver K y Janetschke P. Higiene Veterinaria de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1995.
6. Smoot LM y Pierson MD. Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. Washington: ASM Press, 1997.
7. The Royal Society of Chemistry Adams. Food Microbiology. EUA (Illinois), 1996.
8. D.O.F. 12-12-95. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-065-SSA1-1993, que establece las especificaciones sanitarias de los medios de cultivo. Generalidades.

9. Facultad de Medicina y Zootecnia. Manual de prácticas de laboratorio de Bacteriología y Micología Veterinaria. México (DF): FMVZ, UNAM. 2003.
10. Gaviño G, Juárez LC, Figueroa TH. Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo. 2ª ed. México: Limusa Noriega Editores, 2000
11. Manual de prácticas de laboratorio de Microbiología. Departamento de Microbiología y Salud Pública, Facultad de Odontología. Universidad Autónoma de Baja California. 2005
12. Levinson EW y Jawets E. Microbiología e Inmunología: Autoevaluación y repaso. 2ª ed. México: El Manual Moderno, 2000
13. Forsythe SJ y Hayes PR. Higiene de los Alimentos, Microbiología y HACCP. 2ª ed. Zaragoza: Acribia, 2007
14. Manual de medios de cultivo Merck. Barcelona: E. Merck, 1990
15. Gardner JF y Peel MN. Introduction to Sterilization and Desinfectation. USA: Churchill Livingstone, 1986
16. Manual de prácticas de laboratorio de Microbiología. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias y Tecnología. Universidad de Colima. 2005
17. D.O.F. 22-09-95. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para determinación de Salmonella en alimentos
18. D.O.F. 12-12-95. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa

19. D.O.F. 25-09-95. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-115-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos
20. D.O.F. 16-02-95. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable
21. Cuevas GL y López SG. Estudio cualitativo del uso de las TIC en la enseñanza de la enfermería, en *Gestión Sindical AAPAUNAM*. Noviembre-Diciembre 2008, No. 116-117, año 19, pag. 40-45
22. Álvarez R. *Educación para la salud*. México: El Manual Moderno, 1995

ANEXO I

Modo de Preparación, Empleo e Interpretación

Agar Bismuto Sulfito (BS)

Ingredientes	Cantidad
Extracto de carne	5 grs.
Mezcla peptonas	10 grs.
Glucosa	5 grs.
Fosfato disódico (anhídrido)	5 grs.
Sulfato ferroso (anhídrido)	0.3 grs.
Sulfito de bismuto	8 grs.
Verde brillante	0.025 grs.
Agar	20 grs.
Agua destilada	1000 ml.

Preparación: Suspender los ingredientes mencionados anteriormente o 53.5 gramos de medio deshidratado en un litro de agua destilada, mezclar bien, dejar reposar por 15 minutos y calentar hasta la ebullición con agitación frecuente para disolver las sustancias insolubles, el pH del medio es 7.6 ± 0.2 ; se forma un precipitado que no llega a disolverse. Enfriar hasta unos 45-50°C y distribuir en cajas de Petri estériles en cantidades de 15-20 ml distribuyendo el precipitado propio del medio. El medio de cultivo no debe esterilizarse ya que afecta su selectividad.¹⁷

El aspecto de las placas es opaco, de color verde pálido y deben usarse el mismo día de su preparación. En caso de coloración parda el medio de cultivo no debe utilizarse.^{14,17}

El medio de cultivo, recién preparado, es muy inhibitorio y, por este motivo, se recomienda su uso en casos de contaminación intensa. Por lo general el brillo

metálico de las colonias aparece en este medio sólo al cabo de 48 horas. La selectividad del medio disminuye 48 horas después de su preparación a 4°C de almacenamiento, siendo entonces adecuado para la investigación de material ligeramente contaminado. En este caso, el brillo metálico aparece ya al cabo de poco tiempo de incubación.^{14,17}

Empleo e interpretación. Sembrar finamente la superficie de las placas, por estría, con el material objeto de prueba o con el procedente de un cultivo enriquecimiento (Caldo Rappaport-Vassiliadis). La incubación es aproximadamente de 48 horas a 37°C. Con frecuencia, al cabo de 18 horas puede reconocerse ya un ennegrecimiento de las colonias de *Salmonella* pero todavía ningún brillo metálico. Dicho brillo metálico aparece algunas horas después, según lo antiguo que sea el medio de cultivo.^{14,17}

Colonias	Microorganismos
<p>Cafés, grises o negras; con o sin brillo metálico. Generalmente el medio circundante (halo) es café tornándose posteriormente negro.</p> <p>Algunas cepas producen colonias verdes sin la formación de halo oscuro.</p>	<p><i>Salmonella</i> spp</p>
<p>Centro negro, borde claro, precipitado negro con brillo metálico alrededor de las colonias (“ojos de conejo” u “ojo</p>	<p><i>Salmonella typhimurium</i>, <i>Salmonella enteritidis</i>.</p>

de pez”).	
Pequeñas, verdes hasta pardas, a veces mucosas.	Bacterias coliformes.

Tomado de: Manual de medios de cultivo Merck. Barcelona: E. Merck, 1990 y Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para determinación de Salmonella en alimentos.

Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD).

Ingredientes	Cantidad
Xilosa	3.75 grs.
L-lisina	5 grs.
Lactosa	7.5 grs.
Sacarosa	7.5 grs.
Cloruro de sodio	5 grs.
Extracto de levadura	3 grs.
Rojo fenol	0.08 grs.
Agar	15 grs.
Desoxicolato de sodio	2.5 grs.
Citrato férrico-amónico	0.8 grs.
Tiosulfato de sodio	6.8 grs
Agua destilada	1000 ml.

Preparación: Suspender los ingredientes mencionados anteriormente o 57 gramos de medio deshidratado en un litro de agua destilada, mezclar bien, dejar reposar por 15 minutos y calentar en baño de agua a 55°C hasta completa disolución; el sobrecalentamiento produce una precipitación que altera la reactividad del medio y puede mostrar colonias muy pequeñas, el pH del medio es 6.9 ± 0.2. Enfriar hasta unos 45-50°C y distribuir en cajas de Petri estériles en cantidades de 15-20 ml. El medio de cultivo no debe esterilizarse ya que afecta su selectividad.¹⁷

El aspecto de las placas es de color rojo brillante y claro, si no han de utilizarse el mismo día se deben guardar en refrigeración a 4°C.^{14,17}

Empleo e interpretación. Sembrar finamente la superficie de las placas, por estría, con el material objeto de prueba o con el procedente de un cultivo de enriquecimiento (Caldo Rappaport-Vassiliadis). La incubación es aproximadamente de 48 horas a 37°C.¹⁴

Colonias	Microorganismos
Amarillas, con zona amarilla alrededor, opacas; con halo de precipitación.	<i>Escherichia coli</i>
Transparentes, del mismo color que el medio.	<i>Salmonella</i> spp.
Anaranjadas, ligeramente opacas.	<i>Salmonella typhi</i> (cepas xilosa positivas).

Tomado de: Manual de medios de cultivo Merck. Barcelona: E. Merck, 1990 y Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para determinación de Salmonella en alimentos.

Agar Entérico Hektoen (HE).

Ingredientes	Cantidad
Proteosa peptona	12 grs.
Extracto de levadura	3 grs.
Lactosa	12 grs.
Sacarosa	12 grs.
Salicina	2 grs.
Sales biliares	9 grs.
Cloruro de sodio	5 grs.
Tiosulfato de sodio	5 grs.
Citrato amónico férrico	1.5 grs.

Azul de bromitol	0.064 grs.
Fuscina básica	0.1 grs.
Agar	13.5 grs.
Agua destilada	1000 ml.

Preparación: Suspender los ingredientes mencionados anteriormente o 76 gramos de medio deshidratado en un litro de agua destilada, mezclar bien, dejar reposar por 15 minutos y calentar hasta la ebullición con agitación frecuente para disolver las sustancias insolubles, el pH del medio es 7.5 \pm 0.2. Enfriar hasta unos 45-50°C y distribuir en cajas de Petri estériles en cantidades de 15-20 ml. El medio de cultivo no debe esterilizarse ya que afecta su selectividad.¹⁷

El aspecto de las placas es de color azul-verdoso y claras, si no han de utilizarse el mismo día se deben guardar en refrigeración a 4°C.^{14,17}

Empleo e interpretación. Sembrar finamente la superficie de las placas, por estría, con el material objeto de prueba o con el procedente de un cultivo de enriquecimiento (Caldo Rappaport-Vassiliadis). La incubación es aproximadamente de 18-24 horas a 37°C.¹⁴

Colonias	Microorganismos
Verde-azuladas con o sin centro negro. Algunas veces pueden parecer negras.	<i>Salmonella</i> spp.
De color salmón, con halo de	Coliformes

precipitado.

Tomado de: Manual de medios de cultivo Merck. Barcelona: E. Merck, 1990 y Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para determinación de Salmonella en alimentos.

Agar Triptona Extracto de Levadura.

Ingredientes	Cantidad
Extracto de levadura	3 grs.
Triptona	5 grs.
Dextrosa	1 grs.
Agar	15 grs.
Agua destilada	1000 ml.

Preparación: Suspender los ingredientes mencionados anteriormente o 24 gramos de medio deshidratado en un litro de agua destilada, mezclar bien, dejar reposar por 15 minutos y calentar hasta la ebullición con agitación frecuente para disolver las sustancias insolubles, el pH del medio es 7.0 \pm 0.2; una vez disuelto, esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos a 15 libras de presión. Terminado el proceso de esterilización, enfriar hasta unos 45-50°C y mantenerlo a esta temperatura hasta antes de su uso. El medio no debe fundirse más de una vez. Distribuir en cajas de Petri estériles en cantidades de 15-20 ml o bien, en frascos de dilución.¹⁸

El aspecto de las placas son incoloras y claras, si no han de utilizarse el mismo día se deben guardar en refrigeración a 4°C.^{14,18}

Empleo e interpretación. Sembrar, casi siempre, por el procedimiento de vertido en placas.¹⁴

Colonias	Microorganismos
Crema	<i>Enterococos faecalis</i>

Tomado de: Manual de medios de cultivo Merck. Barcelona: E. Merck, 1990.

Caldo Lauril Sulfato de Sodio (LSS).

Ingredientes	Cantidad
Triptosa	20 grs.
Lactosa	5 grs.
Cloruro de sodio	5 grs.
Lauril sulfato de sodio	0.1 grs.
Fosfato dipotásico	0.275 grs.
Fosfato monopotásico	0.275 grs.
Agua destilada	1000 ml

Preparación: Suspender los ingredientes mencionados anteriormente o 35.6 gramos de medio deshidratado en un litro de agua destilada, mezclar bien, dejar reposar por 15 minutos y calentar hasta la ebullición con agitación frecuente para disolver las sustancias insolubles, el pH del medio es 6.8 ± 0.2 ; una vez disuelto distribuir 10 mililitros de medio en tubos con campanas de fermentación y rosca. El medio de cultivo debe esterilizarse en autoclave a 121°C durante 15 minutos a 15 libras de presión.^{14,20}

El aspecto de los tubos es ámbar claro, se deben mantener a $25-30^{\circ}\text{C}$ o en estufa de incubación a $35-37^{\circ}\text{C}$, de otra forma generalmente floclula o forma precipitado.¹⁴

Empleo e interpretación. Sembrar por agitación con el material objeto de prueba. El crecimiento de coliformes se muestra por turbidez del medio y formación de gas.¹⁴

Producción de gas	Microorganismos
Positivo (+)	<i>Enterobacter aerogenes</i>
Positivo (+)	<i>Escherichia coli</i>
Negativo (-)	<i>Salmonella typhimurium</i>
Negativo (-)	<i>Staphylococcus aureus</i>

Tomado de: Manual de medios de cultivo Merck. Barcelona: E. Merck, 1990

Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV).

Ingredientes solución	Cantidad
Triptona	5 grs.
Cloruro de sodio	8 grs.
Fosfato de potasio dihidrogenado	1.6 grs.
Clorhidrato de magnesio	40 grs.
Oxalato de verde de malaquita	0.04 grs.
Agua Destilada	1000 ml.

Preparación: Suspender los ingredientes mencionados anteriormente o 41.8 gramos de medio deshidratado en un litro de agua destilada, mezclar bien, dejar reposar por 15 minutos y calentar hasta la ebullición con agitación frecuente para disolver las sustancias insolubles, el pH del medio es 5.2 \pm 0.2; una vez disuelto distribuir 10 mililitros de medio en tubos con rosca. El medio de cultivo debe esterilizarse en autoclave a 121°C durante 15 minutos a 15 libras de presión.¹⁴

El aspecto de los tubos es de azul claro a oscuro sin precipitado, si no han de utilizarse el mismo día se deben guardar en refrigeración a 4°C.^{14,17}

Empleo e interpretación. Sembrar por agitación con el material objeto de prueba o procedente de un enriquecimiento previo en agua peptona (tamponada) y se incuba hasta 24 horas a 43°C, las colonias crecidas se siembran sobre medios selectivos.¹⁴

El crecimiento en este medio se da por turbidez.¹⁴

Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI).

Ingredientes	Cantidad
Infusión cerebro ternera	200 ml.
Infusión corazón de res	200 ml.
Peptona	10 grs.
Cloruro de sodio	5 grs.
Fosfato disódico	2.5 grs.
Glucosa o dextrosa	2.5 grs.
Agua destilada	1000 ml.

Preparación: Suspender los ingredientes mencionados anteriormente o 37 gramos de medio deshidratado en un litro de agua destilada, mezclar bien, dejar reposar por 15 minutos y calentar hasta la ebullición con agitación frecuente para disolver las sustancias insolubles, el pH del medio es 7.4 ±.0.2; una vez disuelto distribuir 10 mililitros de medio en tubos con rosca. El medio de cultivo debe esterilizarse en autoclave a 121°C durante 15 minutos a 15 libras de presión.^{14,19}

El aspecto de los tubos es ámbar claro sin precipitado, si no han de utilizarse el mismo día se deben guardar en refrigeración a 4°C.^{14,19}

Empleo e interpretación. Sembrar por agitación con el material objeto de prueba. El crecimiento se muestra por turbidez del medio.¹⁴

ANEXO 2

Guión Técnico

Presentación	
VIDEO	AUDIO
Foto de biblioteca central UNAM-CU	Loc. Universidad Nacional Autónoma de México.
Foto de Escudo de la FMVZ-UNAM-CU	Loc. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Foto de marquesina del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública	Loc. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, presentan:
Carátula de power point	Loc. Producción de un manual multimedia sobre la elaboración de medios de cultivo para el análisis microbiológico de los alimentos.
Toma a presentador	Loc. El uso de la tecnología facilita el proceso enseñanza-aprendizaje al permitir al usuario utilizar al mismo tiempo: texto, audio, imágenes y lógica en un entorno multisensorial. El manual busca proporcionar información clara y concisa sobre la elaboración, características y funciones que tienen los siguientes medios: Agar Bismuto-Sulfito, Agar XLD, Agar Entérico Hektoen, Agar Triptona extracto de levadura o Cuenta Estándar, Caldo Lauril Sulfato de Sodio, Caldo Rappaport-Vassiliadis y Caldo Infusión Cerebro-Corazón. Así como, desarrollar paso a paso su proceso de elaboración que servirá a los estudiantes y profesionales a tener una visión más precisa de cómo se deben realizar.

Agar Bismuto Sulfito (BS)	
VIDEO	AUDIO
Carátula de power point	Loc. Elaboración de Agar Bismuto Sulfito.
Fotos de placas con agar Bismuto Sulfito	Loc. El medio de cultivo Bismuto Sulfito es un medio selectivo, es decir,

	<p>contiene sustancias inhibitorias que impide total o parcialmente el desarrollo de algunos microorganismos no deseados. En una flora mixta permite el aislamiento y recuperación del microorganismo o grupo de microorganismos de interés.</p>
<p>Fotos de placas con agar Bismuto Sulfito y de colonias de <i>Salmonella</i> spp en el agar Bismuto Sulfito.</p>	<p>Loc. Con este medio de cultivo es posible aislar varias especies de <i>Salmonella</i> de muestras de alimentos.</p>
<p>Fotos de Bismuto Sulfito. Toma del material a utilizar para elaborar el medio de cultivo</p>	<p>Loc. Para elaborar el Agar Bismuto Sulfito necesitaremos: Balanza digital, espátula, matraz Erlenmeyer de 500 mililitros, Probeta graduada de 250 mililitros, parrilla, baño de agua, potenciómetro, propipeta de 2 mililitros, pipetas de 1 mililitro y 10 cajas de Petri estériles.</p>
<p>Presentación, en lista, del material a utilizar.</p>	<p>Loc. Así mismo, utilizaremos: Extracto de carne, mezcla de peptonas, glucosa, fosfato disódico, sulfato ferroso al 7.5%, sulfito de bismuto, verde brillante al 0.625%, agar bacteriológico y 248 mililitros de agua destilada.</p>
<p>Toma a los diferentes recipientes con los ingredientes a utilizar.</p>	<p>Loc. Una vez listo el material, procedemos a pesar los ingredientes en la balanza para preparar 250 mililitros de medio.</p>
<p>Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 1.25 gramos de extracto de carne.</p>
<p>Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 2.5 gramos de mezcla de peptonas.</p>
<p>Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 1.25 gramos de glucosa.</p>
<p>Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 1.25 gramos de fosfato disódico.</p>
<p>Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. Y 2 gramos de sulfito de bismuto.</p>
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 500 ml</p>	<p>Loc. En un matraz Erlenmeyer de 500</p>

<p>y a la probeta graduada de 250 ml mientras se vierte el agua destilada en el matraz Erlenmeyer. Toma a los ingredientes mientras se vierten al matraz Erlenmeyer.</p>	<p>mililitros agregamos 125 mililitros de agua destilada e incorporamos: 1.25 gramos de extracto de carne, 2.5 gramos de mezcla de peptonas, 1.25 gramos de glucosa, 1.25 gramos de fosfato disódico y 2 gramos de sulfito de bismuto.</p>
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer mientras se vierte el agua restante. Toma al tubo con verde brillante. Toma al tubo con sulfato ferroso. Toma mientras se vierten las soluciones.</p>	<p>Loc. Posteriormente adicionamos poco a poco los 123 mililitros restantes de agua destilada hasta completar 248 mililitros. Se agrega un mililitro de sulfato ferroso al 7.5% y un mililitro de verde brillante al 0.625% completando 250 mililitros. Se debe mezclar cuidadosamente, cabe señalar que el matraz Erlenmeyer debe ser del doble del volumen a utilizar.</p>
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 500 ml con todos los ingredientes mencionados y reposando.</p>	<p>Loc. Se debe permitir la hidratación y disolución de los ingredientes, que no haya grumos. Se deja reposar por 15 minutos y se disuelve completamente.</p>
<p>Toma al envase con agar bacteriológico, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente. Toma al matraz Erlenmeyer en la parrilla. Toma de matraz Erlenmeyer en la parrilla mientras se calienta.</p>	<p>Loc. Una vez disueltos los ingredientes, se agregan 5 gramos de agar bacteriológico y se hierve hasta su completa disolución, éste se ve translucido cuando esta completamente disuelto, se debe agitar frecuentemente y cuidar que cuando hierva, éste no se derrame.</p>
<p>Toma al matraz Erlenmeyer mientras se mete al baño de agua. Toma al potenciómetro mientras se hace la prueba con éste mismo.</p>	<p>Loc. Una vez disuelto el medio, se quita de la parrilla y se enfría a 45°C en un baño de agua; una vez frío se ajusta el pH, éste debe ser 7.6[±] 0.2. De no ser así ajustar con hidróxido de sodio 1 N o ácido clorhídrico 1N.</p>
<p>Toma de matraz Erlenmeyer en el Baño de agua. Acercamiento a temperatura</p>	<p>Loc. Una vez ajustado el pH se introduce de nuevo en el baño de agua a 45°C para evitar que se solidifique.</p>
<p>Toma a autoclave</p>	<p>Loc. Este medio no debe esterilizarse en autoclave porque el sobrecalentamiento afecta su selectividad</p>

<p>Toma al presentador mientras limpia el área de trabajo y el encendido del mechero. Toma al presentador mientras vierte el medio de cultivo a las cajas Petri</p>	<p>Loc. Una vez que el medio es puesto en el baño de agua, desinfectamos el área de trabajo con cloro al 3%, encendemos el mechero, acomodamos las cajas Petri estériles y solo así comenzamos a verter aproximadamente 25 mililitros del medio en las mismas. Este vertido se debe hacer en condiciones asépticas, con la finalidad de evitar contaminación y posible alteración de resultados o del mismo agar. Se debe tener cuidado que el medio de cultivo no escurra ni por las paredes del matraz ni por las de la caja. Se debe evitar la formación de burbujas y coágulos.</p>
<p>Toma a las cajas Petri, donde el medio ya se solidificó, toma etiquetando las placas.</p>	<p>Loc. El aspecto de las placas es opaco, de color verde pálido y deben usarse el mismo día de su preparación. Si la coloración es parda no debe utilizarse. Una vez solidificadas se deben voltear para evitar contaminación por condensación de agua y etiquetar con el nombre del medio y fecha de elaboración del mismo. Se recomienda realizar control de calidad en los medios ya preparados.</p>
<p>Fotos a cajas Petri con colonias en crecimiento de <i>Salmonella</i> spp</p>	<p>Loc. <i>Salmonella</i> spp en este medio crece en colonias de color negras o verdes, después de 24 horas es posible observar un color metálico en las colonias.</p>

Agar Entérico Hektoen (HE)	
VIDEO	AUDIO
<p>Carátula de power point, fotos de agar HE y de colonias de <i>Salmonella</i> sp en HE.</p>	<p>Loc. El medio de cultivo Entérico Hektoen es un medio selectivo, es decir, contiene sustancias inhibitorias que impide total o parcialmente el desarrollo de algunos microorganismos no deseados. En una flora mixta permite el aislamiento y recuperación del microorganismo o grupo de microorganismos de interés.</p>

<p>Fotos de agar HE. Toma del material a utilizar para elaborar el medio de cultivo</p>	<p>Con este medio de cultivo es posible aislar varias especies de <i>Salmonella</i> y <i>Escherichia coli</i> de muestras de alimentos.</p>
<p>Presentación, en lista, del material a utilizar.</p>	<p>Loc. Para elaborar el Agar Entérico Hektoen necesitaremos: Balanza digital, matraz Erlenmeyer de 500 mililitros, Probeta graduada de 250 mililitros, espátula, baño de agua, parrilla, potenciómetro, propipeta de 2 mililitros, pipetas de 1 mililitro y 10 cajas de Petri estériles.</p>
<p>Toma a los diferentes recipientes con los ingredientes a utilizar.</p>	<p>Loc. Así mismo, utilizaremos: Proteosa peptona, extracto de levadura, lactosa, sacarosa, salicina, sales biliares, cloruro de sodio, tiosulfato de sodio, citrato férrico-amónico al 37.5%, azul de bromitol al 1.6%, fuscina básica al 2.5%, agar bacteriológico y 247 mililitros de agua destilada.</p>
<p>Toma a los diferentes recipientes con los ingredientes a utilizar.</p>	<p>Loc. Una vez listo el material, procedemos a pesar los ingredientes en la balanza para preparar 250 mililitros de medio.</p>
<p>Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 3 gramos de proteosa peptona.</p>
<p>Toma al envase con extracto de levadura, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 0.75 gramos de extracto de levadura.</p>
<p>Toma al envase con lactosa, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 3 gramos de lactosa.</p>
<p>Toma al envase con sacarosa, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 3 gramos de sacarosa.</p>
<p>Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 0.5 gramos de salicina.</p>
<p>Toma al envase con sales biliares, así mismo a la balanza digital cuando se</p>	<p>Loc. 2.25 gramos de sales biliares.</p>

<p>esta pesando el ingrediente</p>	
<p>Toma al envase con cloruro de sodio, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 1.25 gramos de cloruro de sodio.</p>
<p>Toma al envase con tiosulfato de sodio de sodio, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. Y 1.25 gramos de tiosulfato de sodio.</p>
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 500 ml y a la probeta graduada de 250 ml mientras se vierte el agua destilada en el matraz Erlenmeyer. Toma a los ingredientes mientras se vierten al matraz Erlenmeyer.</p>	<p>Loc. En un matraz Erlenmeyer de 500 mililitros agregamos 125 mililitros de agua destilada e incorporamos: 3 gramos de proteosa peptona, 0.75 gramos de extracto de levadura, 3 gramos de lactosa, 3 gramos de sacarosa, 0.5 gramos de salicina, 2.25 gramos de sales biliares, 1.25 gramos de cloruro de sodio y 1.25 gramos de tiosulfato de sodio.</p>
<p>Toma a la probeta graduada de 250 ml mientras se vierte el agua destilada en el matraz Erlenmeyer.</p>	<p>Loc. Posteriormente adicionamos poco a poco los 122 mililitros restantes de agua destilada hasta completar 247 mililitros. Se agrega un mililitro de citrato férrico-amónico al 37.5%, un mililitro de azul de bromotimol al 1.6% y un mililitro de fuscina básica al 2.5% completando 250 mililitros. Se debe mezclar cuidadosamente, cabe señalar que el matraz Erlenmeyer debe ser del doble del volumen a utilizar.</p>
<p>Toma al tubo con citrato férrico-amónico. Toma al tubo con azul de bromotimol. Toma al tubo con fuscina básica.</p>	
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 500 ml con el medio ya preparado. Toma al Matraz Erlenmeyer de 500 ml con todos los ingredientes mencionados</p>	<p>Loc. Se debe permitir la hidratación y disolución de los ingredientes, que no haya grumos. Se deja reposar por 15 minutos y se disuelve completamente.</p>
<p>Toma al envase con agar bacteriológico, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente. Toma al matraz Erlenmeyer en la parrilla mientras se calienta.</p>	<p>Loc. Una vez disueltos los ingredientes, se agregan 3.375 gramos de agar bacteriológico. Se hierve hasta su completa disolución, éste se ve translucido cuando esta completamente disuelto, se debe agitar frecuentemente y cuidar que cuando hierva, éste no se derrame.</p>
<p>Toma al matraz Erlenmeyer mientras</p>	<p>Loc. Una vez disuelto el medio, se</p>

<p>se mete al baño de agua. Toma al potenciómetro mientras se hace la prueba con éste mismo.</p>	<p>quita de la parrilla y se enfría a 45°C en un baño de agua; una vez frío se ajusta el pH, éste debe ser 7.5[±] 0.2. De no ser así ajustar con hidróxido de sodio 1 N o ácido clorhídrico 1N.</p>
<p>Toma de matraz Erlenmeyer en el Baño de agua. Acercamiento a temperatura</p>	<p>Loc. Una vez ajustado el pH se introduce de nuevo en el baño de agua a 45°C para evitar que se solidifique.</p>
<p>Toma a autoclave.</p>	<p>Loc. Este medio no debe esterilizarse en autoclave.</p>
<p>Toma al presentador mientras limpia el área de trabajo y el encendido del mechero.</p>	<p>Loc. Una vez que el medio es puesto en el baño de agua, desinfectamos el área de trabajo con cloro al 3%, encendemos el mechero, acomodamos las cajas Petri estériles y solo así comenzamos a verter aproximadamente 25 mililitros del medio en las mismas. Este vertido se debe hacer en condiciones asépticas, con la finalidad de evitar contaminación y posible alteración de resultados o del mismo agar. Se debe tener cuidado que el medio de cultivo no escurra ni por las paredes del matraz ni por las de la caja. Se debe evitar la formación de burbujas y coágulos.</p>
<p>Toma al presentador mientras vierte el medio de cultivo a las cajas Petri</p>	<p>Loc. El aspecto de las placas es verde. Una vez solidificadas se deben voltear para evitar contaminación por condensación de agua y etiquetar con el nombre del medio y fecha de elaboración del mismo. Se recomienda realizar control de calidad en los medios ya preparados.</p>
<p>Toma a las cajas Petri, donde el medio ya se solidificó. Toma etiquetando las placas</p>	<p>Loc. El aspecto de las placas es verde. Una vez solidificadas se deben voltear para evitar contaminación por condensación de agua y etiquetar con el nombre del medio y fecha de elaboración del mismo. Se recomienda realizar control de calidad en los medios ya preparados.</p>
<p>Fotos de caja Petri con colonias en crecimiento de <i>Salmonella</i> spp y <i>Escherichia coli</i></p>	<p>Loc. <i>Salmonella typhimurium</i> en este medio crece en colonias de color verde-azuladas con o sin centros negros. Por otra parte, <i>Escherichia coli</i> crece en colonia de color salmón, algunas veces con precipitado biliar.</p>

Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD)	
VIDEO	AUDIO
Carátula de power point, fotos de XLD y de colonias de <i>Salmonella</i> spp en XLD	Loc. El medio de cultivo XLD es un medio selectivo, es decir, contiene sustancias inhibitorias que impide total o parcialmente el desarrollo de algunos microorganismos no deseados, en una flora mixta permite el aislamiento y recuperación del microorganismo o grupo de microorganismos de interés. Con este medio de cultivo es posible aislar varias especies de <i>Salmonella</i> de muestras de alimentos.
Toma del material a utilizar para elaborar el medio de cultivo. Fotos de XLD	Loc. Para elaborar el Agar XLD necesitaremos: Balanza digital, matraz Erlenmeyer de 500 ml, Probeta graduada de 250 ml, potenciómetro, espátula, baño de agua, propipeta de 2 mililitros, pipetas de 1 mililitro y 10 cajas de Petri estériles.
Presentación, en lista, del material a utilizar.	Loc. Así mismo, utilizaremos: Xilosa, L-lisina, lactosa, sacarosa, cloruro de sodio, extracto de levadura, rojo fenol al 2%, desoxicolato de sodio, citrato férrico-amónico al 37.5%, tiosulfato de sodio, agar bacteriológico y 248.5 mililitros de agua destilada.
Toma a los diferentes recipientes con los ingredientes a utilizar.	Loc. Una vez listo el material, procedemos a pesar los ingredientes en la balanza para preparar 250 mililitros de medio.
Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. 0.9375 gramos de xilosa.
Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. 1.25 gramos de L-lisina.
Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. 1.875 gramos de lactosa.
Toma al envase con sacarosa, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. 1.875 gramos de sacarosa.

<p>Toma al envase con cloruro de sodio, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 1.25 gramos de cloruro de sodio.</p>
<p>Toma al envase con extracto de levadura, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 0.75 gramos de extracto de levadura</p>
<p>Toma al envase con desoxicolato de sodio, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. 0.625 gramos de desoxicolato de sodio</p>
<p>Toma al envase con tiosulfato de sodio, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. Y 1.7 gramos de tiosulfato de sodio</p>
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 500 ml y a la probeta graduada de 250 ml mientras se vierte el agua destilada en el matraz Erlenmeyer</p>	<p>Loc. En un matraz Erlenmeyer de 500 mililitros agregamos 125 mililitros de agua destilada e incorporamos: 0.9375 gramos de xilosa, 1.25 gramos de L-lisina, 1.875 gramos de lactosa, 1.875 gramos de sacarosa, 1.25 gramos de cloruro de sodio, 0.75 gramos de extracto de levadura, 0.625 gramos de desoxicolato de sodio y 1.7 gramos de tiosulfato de sodio</p>
<p>Toma a la probeta graduada de 250 ml mientras se vierte el agua destilada en el matraz Erlenmeyer. Toma al tubo con rojo fenol y al tubo con citrato férrico-amónico, mientras se vierten las soluciones.</p>	<p>Loc. Posteriormente adicionamos poco a poco los 123.5 mililitros restantes de agua destilada hasta completar 248.5 mililitros. Se agrega 1 mililitro de rojo fenol al 2% y 0.5 mililitro de citrato férrico-amónico al 37.5% completando 250 mililitros. Se debe mezclar cuidadosamente. Cabe señalar que el matraz Erlenmeyer debe ser del doble del volumen a utilizar.</p>
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 500 ml con todos los ingredientes mencionados</p>	<p>Loc. Se debe permitir la hidratación y disolución de los ingredientes, que no haya grumos. Se deja reposar por 15 minutos y se disuelve completamente.</p>
<p>Toma al envase con agar bacteriológico, así mismo a la balanza</p>	<p>Loc. Una vez disueltos los ingredientes, se agregan 3.75 gramos</p>

<p>digital cuando se esta pesando el ingrediente. Toma a el matraz Erlenmeyer en la parrilla. Toma de matraz Erlenmeyer en la parrilla mientras se calienta.</p>	<p>de agar bacteriológico y se hierva hasta su completa disolución, éste se ve translucido cuando esta completamente disuelto, se debe agitar frecuentemente y cuidar que cuando hierva, éste no se derrame.</p>
<p>Toma al matraz Erlenmeyer mientras se mete al baño de agua. Toma al potenciómetro mientras se hace la prueba con éste mismo.</p>	<p>Loc. Una vez disuelto el medio, se quita de la parrilla y se enfría a 45°C en un baño de agua; una vez frío se ajusta el pH, éste debe ser 6.9[±] 0.2. De no ser así ajustar con hidróxido de sodio 1 N o ácido clorhídrico 1N.</p>
<p>Toma de matraz Erlenmeyer en el Baño de agua. Acercamiento a temperatura</p>	<p>Loc. Una vez ajustado el pH se introduce de nuevo en el baño de agua a 45°C para evitar que se solidifique.</p>
<p>Toma al autoclave</p>	<p>Loc. Este medio no debe esterilizarse en autoclave porque el sobrecalentamiento produce una precipitación, la reactividad del medio puede ser satisfactoria pero las colonias suelen ser muy pequeñas.</p>
<p>Toma al presentador mientras limpia el área de trabajo y el encendido del mechero. Toma al presentador mientras vierte el medio de cultivo a las cajas Petri</p>	<p>Loc. Una vez que el medio es puesto en el baño de agua, desinfectamos el área de trabajo con cloro al 3%, encendemos el mechero, acomodamos las cajas Petri estériles y solo así comenzamos a verter aproximadamente 25 ml del medio en las mismas, distribuyendo de manera homogénea el precipitado propio del medio, esto se logra agitándolo de manera suave antes de verter en cada caja. Este vertido se debe hacer en condiciones asépticas, con la finalidad de evitar contaminación y posible alteración de resultados o del mismo agar. Se debe tener cuidado que el medio de cultivo no escurra ni por las paredes del matraz ni por las de la caja. Se debe evitar la formación de burbujas y coágulos.</p>
<p>Toma a las cajas Petri, donde el medio ya se solidificó. Toma etiquetando las placas</p>	<p>Loc. El aspecto de las placas es claro y de color rojo brillante. Una vez solidificadas se deben voltear para</p>

<p>Foto a cajas Petri con colonias en crecimiento de <i>Salmonella</i> spp</p>	<p>evitar contaminación por condensación de agua y etiquetar con el nombre del medio y fecha de elaboración del mismo. Si no han de utilizarse el mismo día de su preparación, se deben almacenar en refrigeración de 2-8°C. Se recomienda realizar control de calidad en los medios ya preparados.</p> <p>Loc. <i>Salmonella</i> spp en este medio crece en colonias de color rojo con o sin centros negros.</p>
--	---

Agar Triptona Extracto de Levadura o Agar Cuenta Estándar	
VIDEO	AUDIO
<p>Carátula de power point, fotos con agar triptona extracto de levadura o cuenta estándar.</p>	<p>Loc. El medio de cultivo Triptona Extracto de Levadura o Cuenta Estándar es un medio general, es decir, promueve el desarrollo de bacterias y hongos poco exigentes, contiene los mínimos requerimientos nutricionales. Es utilizado para análisis cuantitativos, conservación de cepas y muestreo del medio ambiente o superficie.</p>
<p>Fotos de <i>Enterococos faecalis</i> en agar triptona extracto de levadura o agar cuenta estándar.</p>	<p>Loc. Con este medio de cultivo es posible cuantificar microorganismos aerobios de muestras de alimentos.</p>
<p>Fotos de agar triptona extracto de levadura o cuenta estándar en frascos. Toma del material a utilizar para elaborar el medio de cultivo</p>	<p>Loc. Para elaborar el Agar Triptona Extracto de Levadura o Cuenta Estándar necesitaremos: Balanza digital, matraz Erlenmeyer de 500 mililitros, Probeta graduada de 250 mililitros, parrilla, espátula, potenciómetro, baño de agua, autoclave, 3 frascos de dilución y 10 cajas de Petri estériles.</p>
<p>Presentación, en lista, del material a utilizar.</p>	<p>Loc. Así mismo, utilizaremos: Extracto de levadura, triptona, dextrosa, agar bacteriológico y 250 mililitros de agua destilada.</p>
<p>Toma a los diferentes recipientes con los ingredientes a utilizar</p>	<p>Loc. Una vez listo el material, procedemos a pesar cada uno de los</p>

<p>Toma al envase con extracto de levadura, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p> <p>Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente (triptona). Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente (dextrosa)</p> <p>Toma a la probeta graduada de 250 ml mientras se vierte el agua destilada en el matraz Erlenmeyer e incorporando los ingredientes</p> <p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 500 ml con todos los ingredientes mencionados, toma vertiendo el agua destilada faltante.</p> <p>Toma vertiendo el agar bacteriológico a el matraz Erlenmeyer en la parrilla. Toma de matraz Erlenmeyer en la parrilla mientras se calienta.</p> <p>Toma al matraz Erlenmeyer mientras se mete al baño de agua. Toma al potenciómetro mientras se hace la prueba con éste mismo.</p>	<p>ingredientes en la balanza para preparar 250 ml de medio.</p> <p>Loc. Debemos pesar 0.625 gramos de extracto de levadura.</p> <p>Loc. Además, 1.25 gramos de triptona y 0.25 gramos de dextrosa.</p> <p>Loc. Una vez pesados los ingredientes, preparamos el matraz Erlenmeyer de 500 mililitros, agregamos 125 mililitros de agua destilada e incorporamos: 0.625 gramos de extracto de levadura, 1.25 gramos de triptona y 0.25 gramos de dextrosa. Se debe mezclar cuidadosamente. Cabe señalar que el matraz Erlenmeyer debe ser del doble del volumen a utilizar.</p> <p>Loc. Los 125 mililitros restantes de agua destilada se agregan poco a poco hasta completar los 250 mililitros. Se debe permitir la hidratación y disolución de los ingredientes, que no haya grumos. Se deja reposar por 15 minutos y se disuelve completamente.</p> <p>Loc. Una vez disueltos los ingredientes, se agregan 3.75 gramos de agar bacteriológico y se hierve hasta su completa disolución, éste se ve translucido cuando esta completamente disuelto, se debe agitar frecuentemente y cuidar que cuando hierva, éste no se derrame.</p> <p>Loc. Una vez disuelto el medio, se quita de la parrilla y se enfría a 45°C en un baño de agua; una vez frío se ajusta el pH, éste debe ser 7.0⁺. 0.2. De no ser así ajustar con hidróxido de sodio 1 N o ácido clorhídrico 1N.</p>
--	---

<p>Toma a los frascos de dilución mientras se vierte el medio de cultivo.</p>	<p>Loc. Una vez ajustado el pH, se vierten aproximadamente 80 mililitros del mismo en cada frasco de dilución.</p>
<p>Toma al autoclave, acercamiento a la perilla de presión cuando esta haya llegado a niveles establecidos.</p>	<p>Loc. Una vez vertido el medio en los frascos, se introducen al autoclave a esterilizar con vapor a 15 libras de presión por 15 minutos.</p>
<p>Toma a los frascos de dilución sobre la mesa de trabajo y en el baño de agua.</p>	<p>Loc. Se deben sacar del autoclave y dejarlos enfriar a 45°C en baño de agua. Si el medio no se va a utilizar inmediatamente, se debe dejar solidificar en los frascos de dilución, seguido de etiquetar con el nombre del medio y fecha de elaboración del mismo, posteriormente refrigerar a 4°C. El medio de cultivo no se puede fundir más de una vez.</p>
<p>Toma al presentador mientras limpia el área de trabajo y el encendido del mechero.</p>	<p>Loc. Si se ocupa en el momento el medio, una vez que ya se enfrío, desinfectamos el área de trabajo con cloro al 3%, encendemos el mechero, acomodamos las cajas Petri estériles y solo así comenzamos a verter aproximadamente 25 mililitros del medio en las mismas, se debe agitar de manera suave antes de verter en cada caja. Este vertido se debe hacer en condiciones totalmente asépticas, con la finalidad de evitar contaminación y posible alteración de resultados o del mismo agar. Se debe evitar la formación de burbujas y coágulos.</p>
<p>Toma al presentador mientras vierte el medio de cultivo a las cajas Petri</p>	<p>Loc. Si se ocupa en el momento el medio, una vez que ya se enfrío, desinfectamos el área de trabajo con cloro al 3%, encendemos el mechero, acomodamos las cajas Petri estériles y solo así comenzamos a verter aproximadamente 25 mililitros del medio en las mismas, se debe agitar de manera suave antes de verter en cada caja. Este vertido se debe hacer en condiciones totalmente asépticas, con la finalidad de evitar contaminación y posible alteración de resultados o del mismo agar. Se debe evitar la formación de burbujas y coágulos.</p>
<p>Toma a las cajas Petri, donde el medio ya se solidificó. Toma mientras se etiqueta.</p>	<p>Loc. El aspecto de las placas y frascos es amarillo translúcido. Una vez solidificadas las placas se deben voltear para evitar contaminación por condensación de agua y etiquetar con el nombre del medio y fecha de elaboración del mismo. Se recomienda realizar control de calidad en los medios ya preparados.</p>
<p>Fotos a cajas Petri con colonias en crecimiento de <i>Enterococcus faecalis</i></p>	<p>Loc. <i>Enterococcus faecalis</i> en este medio crece en colonias de color crema.</p>

Caldo Lauril Sulfato de Sodio (LSD)	
VIDEO	AUDIO
Carátula de power point, fotos del caldo LSD	Loc. El medio de cultivo Lauril Sulfato de Sodio es un medio selectivo, es decir, contiene sustancias inhibitorias que impide total o parcialmente el desarrollo de algunos microorganismos no deseados, en una flora mixta permite el aislamiento y recuperación del microorganismo o grupo de microorganismos de interés.
Fotos de caldo LSD con colonias de <i>E. coli</i>	Loc. Con este medio de cultivo es posible cuantificar coliformes totales y fecales de muestras de alimentos y agua.
Fotos de caldo LSD. Toma del material a utilizar para elaborar el medio de cultivo	Loc. Para elaborar el Caldo Lauril Sulfato de Sodio necesitaremos: Balanza digital, matraz Erlenmeyer de 250 mililitros, Probeta graduada de 100 mililitros, parrilla, espátula, potenciómetro, propipeta de 10 y 2 mililitros, pipetas de 1 mililitro, pipeta de 10 mililitros, gradilla, autoclave y 10 tubos con campana de fermentación y rosca.
Presentación, en lista, del material a utilizar.	Loc. Así mismo, utilizaremos: Triptosa, lactosa, cloruro de sodio, lauril sulfato de sodio al 1%, fosfato dipotásico, fosfato monopotásico y 99 mililitros de agua destilada.
Toma a los diferentes recipientes con los ingredientes a utilizar.	Loc. Una vez listo el material, procedemos a pesar los ingredientes en la balanza para preparar 100 ml de medio.
Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. 2 gramos de triptosa.
Toma a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. 0.5 gramos de lactosa.
Toma al envase con cloruro de sodio, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. 0.5 gramos de cloruro de sodio.
Toma al envase con fosfato	Loc. 0.275 gramos de fosfato

<p>dipotásico, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>dipotásico.</p>
<p>Toma al envase con fosfato monopotásico, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente</p>	<p>Loc. Y 0.275 gramos de fosfato monopotásico.</p>
<p>Toma a la probeta graduada de 100 ml mientras se vierte el agua destilada en el matraz Erlenmeyer</p>	<p>Loc. En un matraz Erlenmeyer de 250 mililitros agregamos 50 mililitros de agua destilada e incorporamos: 2 gramos de triptosa, 0.5 gramos de lactosa, 0.5 gramos de cloruro de sodio, 0.275 gramos de fosfato dipotásico y 0.275 gramos de fosfato monopotásico.</p>
<p>Toma a la probeta graduada de 100 ml mientras se vierte el agua destilada faltante en el matraz Erlenmeyer. Toma al tubo con lauril sulfato de sodio mientras se vierte.</p>	<p>Loc. Posteriormente agregamos poco a poco los 49 mililitros restantes de agua destilada hasta completar 99 mililitros. Se agrega un mililitro de lauril sulfato de sodio al 1% completando los 100 mililitros. Cabe señalar que el matraz Erlenmeyer debe ser del doble del volumen a utilizar.</p>
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 250 ml con todos los ingredientes mencionados.</p>	<p>Loc. Se debe permitir la hidratación y disolución de los ingredientes, que no haya grumos. Se deja reposar por 15 minutos y se disuelve completamente.</p>
<p>Toma a el matraz Erlenmeyer en la parrilla.</p>	<p>Loc. Una vez incorporados todos los ingredientes se calienta el medio hasta su completa disolución, se debe agitar frecuentemente.</p>
<p>Toma de matraz Erlenmeyer en la parrilla mientras se calienta</p>	<p>Loc. Todos los caldos se ven siempre translucidos, solo se debe cuidar que el medio cuando hierva no se derrame.</p>
<p>Toma a potenciómetro ajustando el pH</p>	<p>Loc. Una vez disueltos los ingredientes, se deja enfriar el medio a 45°C, posteriormente se ajusta el pH, éste debe ser 6.8[±] 0.2. De no ser así ajustar con hidróxido de sodio 1N o ácido clorhídrico 1N.</p>

<p>Toma vertiendo el medio de cultivo en los tubos</p>	<p>Loc. Una vez ajustado el pH del medio, se coloca sobre la mesa de trabajo y se procede a colocar la pipeta en la propipeta, una vez hecho esto, se toman 10 ml de medio y se vierten en tubos con campana de fermentación y con rosca, se cierran; las roscas no deben quedar apretadas.</p>
<p>Fotos de <i>E. coli</i> en caldo LSD</p>	<p>Loc. La función de la campana de fermentación es observar la producción de gas debido a la fermentación de la lactosa.</p>
<p>Toma al autoclave. Se hará un acercamiento a la perilla de presión cuando esta haya llegado a niveles establecidos.</p>	<p>Loc. Una vez vertido el medio en los frascos, se introducen al autoclave a esterilizar con vapor a 15 libras de presión por 15 minutos.</p>
<p>Toma de los tubos con el medio esterilizado en la mesa de trabajo.</p>	<p>Loc. Pasados los 15 minutos, se deben sacar los tubos del autoclave y dejarlos enfriar a temperatura ambiente.</p>
<p>Toma a los tubos introduciéndolos a la incubadora</p>	<p>Loc. Una vez que ya se enfriaron los tubos, estos ya están listos para utilizarse y deben colocarse en la incubadora a 35-37°C, de otra forma el caldo generalmente forma precipitados.</p>
<p>Toma a los tubos en la gradilla</p>	<p>Loc. Los tubos se deben etiquetar con el nombre del medio y fecha de elaboración del mismo. Se recomienda realizar control de calidad en los medios ya preparados.</p>
<p>Fotos de caldo LSD</p>	<p>Loc. El aspecto del medio es ámbar claro o ligeramente opalescente.</p>
<p>Fotos a tubos con colonias en crecimiento de <i>E. coli</i> y <i>Enterobacter aerogenes</i></p>	<p>Loc. <i>E. coli</i> y <i>Enterobacter aerogenes</i> son positivos a este caldo, producen gas y ácido ya que fermentan la lactosa.</p>

Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV)	
VIDEO	AUDIO
Carátula de power point. Fotos de RV	Loc. El medio de cultivo Rappaport-Vassiliadis es un medio de enriquecimiento, es decir, poseen efectos inhibitorios sobre ciertos géneros bacterianos, favoreciendo a el mismo tiempo el desarrollo de otros que se encuentran en menor proporción en la muestra.
Fotos de RV y caldo RV con <i>Salmonella</i>	Loc. Con este medio de cultivo es posible aislar <i>Salmonella typhimurium</i> de muestras de alimentos.
Fotos de RV. Toma del material a utilizar para elaborar el medio de cultivo	Loc. Para elaborar el Caldo Rappaport-Vassiliadis necesitaremos: Balanza digital, matraz Erlenmeyer de 250 mililitros, Probeta graduada de 100 mililitros, parrilla, espátula, potenciómetro, propipeta de 2 y 10 mililitros, pipetas de 1 mililitro, pipeta de 10 ml, gradilla, autoclave y 10 tubos con rosca.
Presentación, en lista, del material a utilizar.	Loc. Así mismo, utilizaremos: Triptona, clorhidrato de magnesio al 40%, cloruro de sodio, fosfato de potasio dihidrogenado, verde de malaquita al 0.4% y 100 mililitros de agua destilada.
Toma a los diferentes recipientes con los ingredientes a utilizar	Loc. Una vez listo el material, procedemos a pesar cada uno de los ingredientes en la balanza para preparar 111 mililitros de medio.
Toma al envase con peptona, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. 0.5 gramos de triptona.
Toma al envase con cloruro de sodio, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. 0.8 gramos de cloruro de sodio.
Toma al envase con fosfato de potasio dihidrogenado, así mismo a la balanza digital cuando se esta pesando el ingrediente	Loc. Y 0.16 gramos de fosfato de potasio dihidrogenado .

<p>Toma a la probeta graduada de 100 ml mientras se vierte el agua destilada en el matraz Erlenmeyer</p>	<p>Loc. En un matraz Erlenmeyer de 250 mililitros agregamos 50 mililitros de agua destilada e incorporamos: 0.5 gramos de triptona, 0.8 gramos de cloruro de sodio, y 0.16 gramos de fosfato de potasio dihidrogenado.</p>
<p>Toma vertiendo el agua destilada faltante. Toma al tubo con clorhidrato de magnesio. Toma al tubo con verde de malaquita</p>	<p>Loc. Posteriormente adicionamos poco a poco los 50 mililitros restantes de agua destilada. Después los 10 mililitros de clorhidrato de magnesio al 40% y el mililitro de verde de malaquita al 0.4% completando los 111 mililitros. Se debe mezclar cuidadosamente, cabe señalar que el matraz Erlenmeyer debe ser del doble del volumen a utilizar.</p>
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 250 ml con todos los ingredientes mencionados en la mesa de trabajo</p>	<p>Loc. Se debe permitir la hidratación y disolución de los ingredientes, que no haya grumos. Se deja reposar por 15 minutos y se disuelve completamente.</p>
<p>Toma al presentador que coloca el matraz Erlenmeyer en la parrilla.</p>	<p>Loc. Una vez incorporados todos los ingredientes se calienta el medio hasta su completa disolución, se debe agitar frecuentemente.</p>
<p>Toma de matraz Erlenmeyer en la parrilla mientras se calienta</p>	<p>Loc. Todos los caldos se ven siempre translucidos, solo se debe cuidar que el medio cuando hierva no se derrame.</p>
<p>Toma de matraz en la mesa de trabajo</p>	<p>Loc. Una vez disueltos los ingredientes, se deja enfriar el medio a 45°C.</p>
<p>Toma a potenciómetro ajustando el pH</p>	<p>Loc. Posteriormente se ajusta el pH, éste debe ser 5.2[±] 0.2. De no ser así ajustar con hidróxido de sodio 1N o ácido clorhídrico 1N.</p>
<p>Toma al presentador mientras vierte el medio de cultivo en los tubos. Fotos de tubos LSD</p>	<p>Loc. Una vez ajustado el pH del medio, se coloca sobre la mesa de trabajo y se procede a colocar la pipeta en la propipeta, una vez hecho esto, se toman 10 mililitros de medio y se vierten en tubos con rosca, se cierran; las roscas no deben quedar apretadas.</p>

Toma del autoclave, acercamiento a la perilla de presión cuando esta haya llegado a niveles establecidos.	Loc. Una vez vertido el medio en los tubos, se introducen al autoclave a esterilizar con vapor a 15 libras de presión por 15 minutos.
Toma de los tubos con el medio esterilizado en la mesa de trabajo	Loc. Pasados los 15 minutos, se deben sacar los tubos del autoclave y dejarlos enfriar a temperatura ambiente.
Toma a los tubos en mesa de trabajo	Loc. Una vez que ya se enfriaron los tubos ya están listos para utilizarse. Se deberán guardar en refrigeración a 4°C los tubos que no han de usarse en el momento. Se deben etiquetar con el nombre del medio y fecha de elaboración del mismo. Se recomienda realizar control de calidad en los medios ya preparados.
Toma a los tubos dentro del refrigerador	Loc. El aspecto del medio es de azul claro a oscuro.
Foto a tubos con colonias en crecimiento de <i>Salmonella</i> spp	Loc. El crecimiento bacteriano en este medio es por turbidez.

Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI)	
VIDEO	AUDIO
Carátula de power point y tubos con BHI.	Loc. El medio de cultivo Cerebro Corazón es un medio enriquecido, es decir, posee un gran número de factores de crecimiento; generalmente contienen en su formulación extractos biológicos poco usuales. Con este medio de cultivo es posible aislar microorganismos patógenos muy exigentes de muestras de alimentos.
Fotos de BHI. Toma del material a utilizar para elaborar el medio de cultivo	Loc. Para elaborar el Caldo Infusión Cerebro Corazón: Balanza digital, matraz Erlenmeyer de 250 ml, Probeta graduada de 100 ml, parrilla, potenciómetro, propipeta de 10 mililitros, pipeta de 10 mililitros, gradilla, autoclave y 10 tubos con rosca.

<p>Acercamiento al envase donde se encuentra el medio deshidratado para preparar el caldo</p>	<p>Loc. Se necesitan 37 gramos de medio deshidratado para 1000 mililitros de agua destilada, como solo elaboraremos 100 mililitros de medio, utilizaremos 3.7 gramos de medio deshidratado.</p>
<p>Toma al presentador, así como a la balanza digital.</p>	<p>Loc. Una vez listo el material, procedemos a pesar los 3.7 gramos en la balanza para 100 mililitros de medio.</p>
<p>Toma al Matraz Erlenmeyer de 250 ml vertiendo el agua destilada e incorporando el medio deshidratado.</p>	<p>Loc. Una vez pesado el medio, agregamos 50 mililitros de agua destilada e incorporamos los 3.7 gramos de medio deshidratado al matraz Erlenmeyer, se debe mezclar cuidadosamente. Cabe señalar que el matraz Erlenmeyer debe ser del doble del volumen a utilizar.</p>
<p>Toma a la probeta graduada de 100 ml mientras se vierte el agua destilada restante. Toma al matraz Erlenmeyer en mesa de trabajo</p>	<p>Loc. Los 50 mililitros restantes de agua destilada se agregan poco a poco, se debe permitir la hidratación y disolución del medio antes de calentarlo, que no haya grumos. Se deja reposar por 15 minutos y se disuelve completamente.</p>
<p>Toma al matraz Erlenmeyer en la parrilla.</p>	<p>Loc. Una vez incorporados todos los ingredientes se calienta el medio hasta su completa disolución, se debe agitar frecuentemente.</p>
<p>Toma al matraz Erlenmeyer en la parrilla mientras se calienta. Toma a matraz mientras se agita</p>	<p>Loc. Todos los caldos se ven siempre translucidos, solo se debe cuidar que el medio cuando hierva no se derrame.</p>
<p>Toma a potenciómetro ajustando el pH</p>	<p>Loc. Una vez disueltos los ingredientes, se deja enfriar el medio a 45°C, posteriormente se ajusta el pH, éste debe ser 7.4[±] 0.2. De no ser así ajustar con hidróxido de sodio 1N o ácido clorhídrico 1N. Normalmente los medios preparados ya vienen con el pH establecido.</p>
<p>Toma al presentador mientras vierte el medio de cultivo en los tubos. Fotos</p>	<p>Loc. Una vez ajustado el pH del medio, se coloca sobre la mesa de</p>

de tubos BHI	trabajo y se procede a colocar la pipeta en la propipeta, una vez hecho esto, se toman 10 mililitros de medio y se vierten en tubos rosca, se cierran; las roscas no deben quedar apretadas.
Toma del autoclave, acercamiento a la perilla de presión cuando esta haya llegado a niveles establecidos.	Loc. Una vez vertido el medio en los frascos, se introducen al autoclave a esterilizar con vapor a 15 libras de presión por 15 minutos.
Toma de los tubos con el medio esterilizado en la mesa de trabajo.	Loc. Pasados los 15 minutos, se deben sacar los tubos del autoclave y dejarlos enfriar a temperatura ambiente.
Fotos de BHI y toma a los tubos introduciéndolos al refrigerador	Loc. Una vez enfriados los tubos, se deben etiquetar con el nombre del medio, fecha de elaboración del mismo y deben ser colocados en refrigeración a 2-8°C. Se recomienda realizar control de calidad en los medios ya preparados.
Fotos de BHI	Loc. El aspecto del medio es ámbar claro sin precipitado.
Fotos a los tubos BHI con crecimiento bacteriano.	Loc. El crecimiento bacteriano en este medio es por turbidez.

Ciclo de Esterilización y su Control.	
Carátula de power point. Toma de autoclave	Loc. La esterilización con autoclave es el método más utilizado para eliminar microorganismos y esporas en medios de cultivo. Su principio se basa en aplicar vapor a 15 libras de presión por 15 minutos, con esto se asegura que el equipo llega a 121°C y por lo tanto hay destrucción total de toda forma de vida.
Toma de autoclave	Loc. Para corroborar el ciclo de esterilización, se colocan 2 ampolletas, como indicador biológico en un vaso de precipitados dentro del autoclave en los sitios donde la esterilización es más desfavorable. Cabe resaltar que los 15 minutos de

<p>Toma a ampollitas Sterikon® introduciéndolas a baño de agua.</p>	<p>esterilización comienzan a partir de que llegue el equipo a 15 libras de presión y a 121°C.</p> <p>Loc Los indicadores biológicos son una de las muchas maneras de corroborar el ciclo de esterilización; una vez que se completo la esterilización, las ampollitas se introducen en un baño de agua a 55°C por 48 horas; como control incubar una ampollita no esterilizada.</p>
<p>Toma a temperatura y acercamiento a las ampollitas Sterikon®</p>	<p>Loc. Las ampollitas contienen esporas de <i>Geobacillus stearothermophilus</i> que experimentan destrucción total con calentamiento en vapor a no menos de 121°C con una presión de 15 libras por 15 minutos. Con tiempos y temperaturas menores las esporas sobreviven.</p>
<p>Fotos de ampollitas Sterikon® esterilizadas y no esterilizadas</p>	<p>Loc. Una esterilización adecuada nos mostrará una ampollita color violeta rojizo y transparente, ya que las esporas fueron destruidas. Una esterilización inadecuada, así como el control, nos mostrará una ampollita color amarilla-naranja y turbia, demostrando el crecimiento de dichas esporas.</p>

Control de Calidad en los Medios.	
<p>Carátula de power point, fotos de XLD, BS, HE y ecométricos de HE.</p>	<p>Loc. Para asegurar la calidad del medio preparado, el usuario debe efectuar un mínimo de pruebas de control que incluyan tanto determinaciones físicas como biológicas.</p>
<p>Carátula de power point, fotos de LSD, BHI y RV. Fotos de XLD, BS, HE</p>	<p>Loc. El primer punto a evaluar es el aspecto del medio preparado, para el caso de los caldos éstos no deben presentar turbidez ni precipitación y que el color no sea distinto al indicado. Para los agares se debe evaluar la solidificación, así como el color.</p>

<p>Carátula de power point, acercamiento a potenciómetro</p>	<p>Loc. El segundo punto a evaluar es el pH, éste debe ser comprobado mediante el potenciómetro.</p>
<p>Fotos de incubadora con agares y caldos</p>	<p>Loc. El tercer punto a evaluar es la esterilidad, se procede a incubar el 4% del total del lote al menos 24 horas antes de su uso a 37°C y 25°C por 24 horas. El resultado esperado es que no exista crecimiento alguno.</p>
<p>Fotos de agar cuenta estándar, caldo BHI, TSI, agar sangre, XLD, HE, BS, caldo lactosado</p>	<p>Loc. El cuarto punto a evaluar es la funcionalidad o evaluación biológica, se realizan para comprobar el crecimiento en medios nutritivos, las reacciones deseadas en los medios para pruebas bioquímicas, el crecimiento de microorganismos típicos en los medios diferenciales, el crecimiento de los microorganismos deseados y la inhibición de los microorganismos indeseables en medios selectivos o de enriquecimiento, la mayor recuperación de microorganismos en los medios de preenriquecimiento, la formación y el aspecto de las colonias en los medios sólidos.</p>
<p>Fotos de Rojo Violeta Bilis con <i>E. coli</i>, XLD y BS con <i>Salmonella</i></p>	<p>Loc. Este tipo de evaluación, debido a su complejidad, no es práctica efectuarla con la misma periodicidad. Las pruebas deben realizarse toda vez que el aspecto o pH del medio no corresponda con lo indicado.</p>

Anexo 3

Cuestionario de Evaluación

ID _____

ELABORACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.

Objetivo. Evaluar el conocimiento de la metodología para elaborar el medio de cultivo BHI.

1. ¿Tienes experiencia en elaboración de medios de cultivo?

Si: _____ No: _____

2. Ordena de forma adecuada, del 1 al 10, los pasos a seguir para elaborar el Caldo Infusión Cerebro-Corazón (BHI).

___ Ajustar pH a 7.4 ± 0.2 .

___ Agregar 15 mL, poco a poco.

___ Vaciar medio deshidratado al matraz Erlenmeyer y agregar los 15 mL restantes.

___ Agitar levemente.

___ Dejar hidratar y reposar por cinco minutos.

___ Pesar 1.1 gramos de medio deshidratado para 30 mililitros de caldo.

___ Calentar el caldo hasta completa disolución.

___ Introducir en autoclave a $121^{\circ}\text{C}/15 \text{ lb}/15 \text{ min}$.

___ Dejar enfriar a temperatura ambiente.

___ Verter 10 mililitros de caldo en cada tubo con rosca.

GRACIAS

Calificación _____

ANEXO 4

Manual Multimedia

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de
Medicina
Veterinaria y
Zootecnia

Departamento
de medicina
preventiva y
salud pública

Manual multimedia
sobre la
elaboración
de medios de cultivo
para el análisis
microbiológico de los
alimentos

ÍNDICE	pág.
1. Prólogo	3
2. Introducción	4
3. Agar Bismuto Sulfito	8
4. Agar XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato)	10
5. Agar Entérico Hektoen	12
6. Agar Triptona Extracto de Levadura	14
7. Caldo LSD (Lauril Sulfato de Sodio)	16
8. Caldo Rappaport-Vassiliadis	18
9. Caldo Infusión Cerebro-Corazón	20
10. Ciclo de Esterilización	22
11. Control de Calidad en los Medios	23
12. Bibliografía	26

PRÓLOGO

El propósito de este manual es proporcionar a los alumnos una guía general para la elaboración de algunos medios de cultivo utilizados en el análisis microbiológico de los alimentos, basándose en la normatividad vigente. Su desarrollo es parte de la tesis “Producción de un manual multimedia sobre la elaboración de medios de cultivo para el análisis microbiológico de los alimentos” y funciona como base para evaluar un manual tradicional contra un manual multimedia.

Sabiendo que el Médico Veterinario Zootecnista incursiona cada vez más en el área de la Inocuidad y Calidad de los alimentos de Origen Animal, este manual pretende brindar una plataforma para su desarrollo profesional en dicha área.

INTRODUCCIÓN

El principal objetivo del análisis microbiológico de los alimentos es el determinar la cifra total de microorganismos patógenos, microorganismos indicadores y aquellos responsables de la putrefacción (proteolítica o lipolítica).⁵

Es necesario entonces, contar con un criterio microbiológico para determinar si un alimento es de buena o de mala calidad evaluando la inocuidad del mismo, el seguimiento de buenas prácticas de manufactura, la vida de anaquel y la utilidad de un alimento o ingrediente para cierto propósito.⁶

Para llevar a cabo el análisis microbiológico y comprobar la inocuidad de los alimentos, se utilizan los medios de cultivo que contienen material nutritivo y sirven para recuperar, multiplicar y aislar los microorganismos que pueden estar contaminando el producto.⁴ Cuenta con fuentes de energía, fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, minerales y factores de crecimiento que ayudan a los requerimientos nutricionales del microorganismos.^{7,8} Generalmente se presenta desecado en forma de polvo fino o granular, pero también puede presentarse hidratado y preparado.⁴ Otra forma de preparar medios de cultivo es pesando los ingredientes de manera individual.

Los medios de cultivo más utilizados en análisis microbiológico de alimentos de acuerdo a su clasificación por características físicas, son los medios líquidos y sólidos.⁴

En cuanto a su uso, los medios de cultivo pueden ser:

1. Medios de cultivo básico o generales. Promueven el desarrollo de bacterias y hongos poco exigentes, contienen los mínimos requerimientos nutricionales. Son utilizados para análisis cuantitativos, conservación de cepas y muestreo del medio ambiente o superficie. Ejemplos: Agar Nutritivo, Agar Tripticasa Soya (TSA), Caldo Nutritivo, Agar Triptona Extracto de Levadura y Agar Sabouraud Dextrosa (SDA).⁴
2. Medios selectivos. Son medios que contienen sustancias inhibitorias que impiden total o parcialmente el desarrollo de algunos microorganismos no deseados, pero en una flora mixta permiten el aislamiento y recuperación del microorganismo o grupo de microorganismos de interés. Para poder inhibir el desarrollo de los microorganismos generalmente estos medios contienen: Colorantes, sales inorgánicas, sales biliares, antibióticos y/o detergentes. Ejemplos: Agar Mc Conkey (McC), Agar Bismuto Sulfito, Agar XLD, Agar Hektoen, Verde Brillante (VB), Micobiotic, Agar Manitol Sal (MSA), Caldo Lauril Sulfato de Sodio.^{4,7}
3. Medios enriquecidos. Son medios líquidos que estimulan la multiplicación de algún microorganismo determinado que requiere nutrientes exigentes a través de factores de crecimiento e impiden o inhiben la reproducción de otros. Generalmente contiene uno o más de los siguientes ingredientes: Sangre, suero, líquido ascítico, huevo, carne, vitaminas y aminoácidos específicos, entre otros. Ejemplos: Gelosa sangre, agar Sabouraud con ácido nicotínico, Agar Lowenstein-Jensen, Caldo Infusión Cerebro-Corazón.^{4,7}

4. Medios de enriquecimiento. Son líquidos y poseen efectos inhibitorios sobre ciertos géneros bacterianos, favoreciendo el mismo tiempo el desarrollo de otros que se encuentran en menor proporción en la muestra. Son medios muy utilizados para *Salmonella* y evitar otros microorganismos intestinales. Ejemplo: Caldo Rappaport-Vassiliadis, Caldo Tetrionato y Caldo Selenito.⁷

5. Medios diferenciales. Aquellos que contienen indicadores de ácido-base, redox, o sustancias que detectan cambios en el medio o en las características típicas de las colonias, con el fin de poder diferenciar géneros o especies de algunos microorganismos. Ejemplo: Agar Mac Conkey (McC), Agar Sangre, Verde Brillante (VB), Agar Manitol Sal (MSA), Agar Níger, Biggy, PPLO con acetato de talio y penicilina.^{4,7}

6. Medios para cultivar géneros anaeróbicos. Son medios de cultivo para aquellos microorganismo que requieran condiciones de anaerobiosis o de microaerofilia.⁷ Contienen una serie de sustancias reductoras (tioglicolato, sulfoxilatoformaldehído, cistina) que garantizan una anaerobiosis suficiente. Para su incubación se utilizan cámaras de anaerobiosis.⁹

7. Medios de cultivo para medir la potencia de los antibióticos. Son medios de cultivo selectivos donde se colocará dentro de éstos, una vez solidificado, uno o varios antibióticos (placa de antibiograma) para probar su efectividad contra el microorganismo sembrado.⁴

8. Medios de transporte. Son medios utilizados para el transporte de las muestras desde el lugar de su colección hasta el laboratorio. Estos medios impiden que se altere la proporción original de la flora microbiana, preservan la viabilidad de los microorganismos. Ejemplo: Stuart, Campythio, Carry-Blair, SSF.^{4,7}

9. Medios para filtración a través de membrana. Pueden ser líquidos o sólidos. En el primer caso, se preparan a la concentración usual y permiten el crecimiento de microorganismos presentes en la membrana. Los medios sólidos tienen un mínimo de agar para favorecer la difusión de nutrientes del medio de la membrana.⁴



- **Agar Bismuto Sulfito (medio selectivo para *Salmonella* spp).**^{1,9}

Ingredientes	Cantidad
Extracto de carne	1.25 grs.
Mezcla peptonas	2.5 grs.
Glucosa	1.25 grs.
Fosfato disódico (anhídrido)	1.25 grs.
Sulfato ferroso (anhídrido)	0.075 grs.
Sulfito de bismuto	2 grs.
Verde brillante	0.00625 grs.
Agar	5 grs.
Agua destilada	250 ml.

1. Suspender los ingredientes en un matraz Erlenmeyer con 250 ml de agua destilada. Dejarlo reposar por 5 minutos.
2. Calentar hasta su completa disolución agitando frecuentemente. Ajustar el pH que debe de ser 7.6 ± 0.2 .

3. Una vez que se enfría el medio a 45°C, verter aproximadamente 15-20 ml en cajas de petri estériles distribuyendo de manera homogénea el precipitado propio del medio. Dejar solidificar.
4. El aspecto de las placas es opaco, de color verde pálido y deben usarse el mismo día de su preparación. Si la coloración es parda no deben utilizarse.
5. El medio no debe esterilizarse en autoclave porque el sobrecalentamiento afecta su selectividad. Almacenarse en refrigeración de 2-8°C.

Apariencia de colonias después de incubado.

Salmonella spp. Negra o verde



- **Agar XLD. Xilosa-Lisina-Desoxicolato (medio selectivo para *Salmonella* spp).**^{1,9}

Ingredientes	Cantidad
Xilosa	0.9375 grs.
L-lisina	1.25 grs.
Lactosa	1.875 grs.
Sacarosa	1.875 grs.
Cloruro de sodio	1.25 grs.
Extracto de levadura	0.75 grs.
Rojo fenol	0.02 grs.
Agar	3.75 grs.
Desoxicolato de sodio	0.625 grs.
Citrato férrico-amónico	0.2 grs.
Tiosulfato de sodio	1.7 grs
Agua destilada	250 ml.

1. Suspende los ingredientes en un matraz Erlenmeyer con 250 ml de agua destilada. Déjalo reposar por 5 minutos.

2. Calentar hasta su completa disolución agitando frecuentemente. Ajustar el pH que debe de ser 6.9 ± 0.2 .
3. Una vez que se enfría el medio a 45°C , verter aproximadamente 15-20 ml en cajas de petri estériles. Dejar solidificar
4. El aspecto de placas es claro y de color rojo brillante.
5. No se debe esterilizar, el sobrecalentamiento produce una precipitación. La reactividad del medio puede ser satisfactoria pero las colonias suelen ser muy pequeñas.
6. Almacenarse en refrigeración de $2-8^{\circ}\text{C}$.

Apariencia de colonias después de incubado.

Salmonella spp. Roja con o sin centros negros.



- **Agar Entérico Hektoen (medio selectivo para *Salmonella* spp).**^{1,9}

Ingredientes	Cantidad
Proteosa peptona	3 grs.
Extracto de levadura	0.75 grs.
Lactosa	3 grs.
Sacarosa	3 grs.
Salicina	0.5 grs.
Sales biliares	2.25 grs.
Cloruro de sodio	1.25 grs.
Tiosulfato de sodio	1.25 grs.
Citrato amónico férrico	0.375 grs.
Azul de bromitol	0.016 grs.
Fuscina básica	0.025 grs.
Agar	3.375 grs.
Agua destilada	250 ml.

1. Suspender los ingredientes en un matraz Erlenmeyer con 250 ml de agua destilada. Dejarlo reposar por 5 minutos.
2. Calentar hasta su completa disolución agitando frecuentemente. Ajustar el pH que debe de ser 7.5 ± 0.2 .
3. Una vez que se enfría el medio a 45°C , verter aproximadamente 15-20 ml en cajas de petri estériles. Dejar solidificar
4. El aspecto de placas es verde. No se debe esterilizar.
5. Almacenarse en refrigeración de $2-8^{\circ}\text{C}$.

Apariencia de colonias después de incubado.

Salmonella typhimurium. Verde-azuladas con o sin centro negro.

E. coli. Salmón rodeadas algunas veces con precipitado biliar.



- **Agar Triptona Extracto de Levadura (medio general para mesófilos aerobios).²**

Ingredientes	Cantidad
Extracto de levadura	0.625 grs.
Triptona	1.25 grs.
Dextrosa o Glucosa	0.25 grs.
Agar	3.75 grs.
Agua destilada	250 ml.

1. Suspender los ingredientes en un matraz Erlenmeyer con 250 ml de agua destilada. Dejarlo reposar por 5 minutos.
2. Calentar hasta su completa disolución agitando frecuentemente. Ajustar el pH que debe de ser 7.0 \pm 0.2.
3. Una vez disuelto, esterilizar en una autoclave a 121°C durante 15 minutos.
4. Una vez que se enfría el medio a 45°C, verter aproximadamente 15-20 ml del medio en cajas petri estériles. Dejar solidificar
5. Enfriar a temperatura ambiente con las cajas cerradas y almacenar en refrigeración (2-8°C) si no se utilizan inmediatamente.

Apariencia de colonias después de incubado.

Enterococos faecalis da colonias color crema.



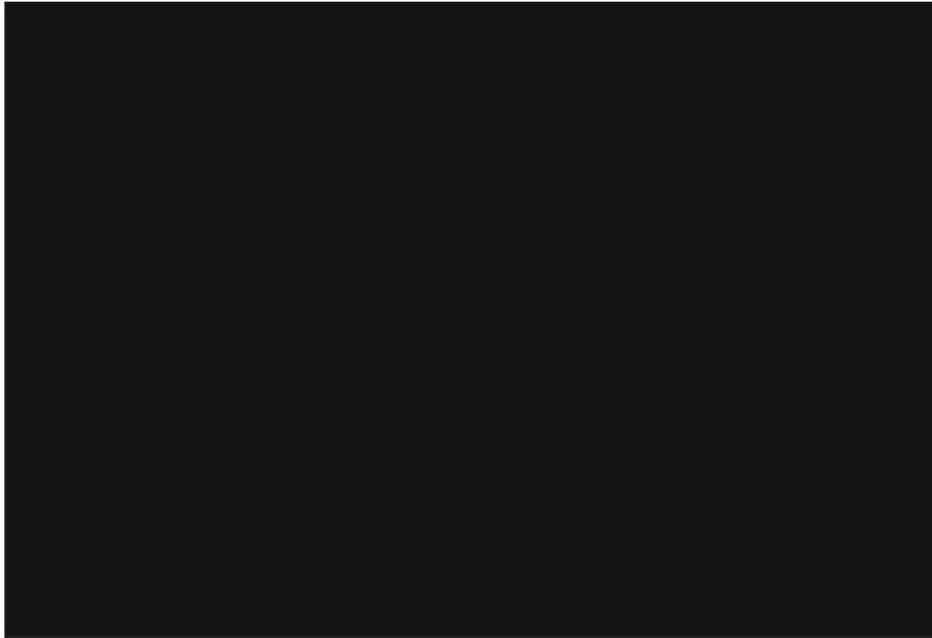
- **Caldo LSD. Lauril Sulfato de Sodio (medio selectivo para coliformes totales y fecales).**^{3,9}

Ingredientes	Cantidad
Triptosa	2 grs.
Lactosa	0.5 grs.
Cloruro de sodio	0.5 grs.
Lauril sulfato de sodio	0.01 grs.
Fosfato dipotásico	0.0275 grs.
Fosfato monopotásico	0.0275 grs.
Agua destilada	100 ml

1. Suspender los ingredientes en un matraz Erlenmeyer con 100 ml de agua destilada. Dejarlo reposar por 5 minutos
2. Hervir hasta total disolución.
3. Ajustar el pH que debe de ser 6.8.
4. Una vez disuelto, distribuir en tubos (10 ml c/u) con campana de fermentación y esterilizar en autoclave por 15 minutos a 121°C.
5. Mantener a 25-30°C o en incubadora a 35-37°C, de lo contrario formará precipitado.
6. El color normal del medio es ámbar claro o ligeramente opalescente.

Apariencia del medio después de incubado.

Turbio. *Enterobacter aerogenes* y *E. coli* son positivos a este caldo, producen gas.



- **Caldo Rappaport-Vassiliadis (medio enriquecimiento *Salmonella* spp).¹**

Ingredientes solución A	Cantidad
Triptona	0.5 grs.
Cloruro de sodio	0.8 grs.
Fosfato de potasio dihidrogenado	0.16 grs.

Disolver los componentes en 100 ml de agua destilada previamente caliente (70°C).

Ingredientes solución B	Cantidad
Clorhidrato de magnesio	4 grs.

Disolver el cloruro de magnesio en 10 ml de agua destilada.

Ingredientes solución C	Cantidad
Oxalato de verde de malaquita	0.004 grs.

Disolver el oxalato de verde de malaquita en 1 ml de agua destilada. Conservar en frasco ámbar a temperatura ambiente.

1. En un matraz Erlenmeyer verter los 100 mililitros de la solución A, los 10 mililitros de la solución B y el mililitro de la solución C. Dejarlo reposar por 5 minutos.
2. Ajustar el pH que debe de ser 5.2.
3. Distribuir en tubos (10 ml c/u) y esterilizar en autoclave por 15 minutos a 121°C.
4. Dejar enfriar y guardar en refrigeración a 2°C.
5. El color del medio es azul claro.

Apariencia del medio después de incubado.

Turbio. Especial para enriquecimiento de *Salmonella*



- **Caldo Infusión Cerebro-Corazón (medio enriquecido para microorganismos exigentes).**^{1,4}

Ingredientes	Cantidad
Infusión cerebro ternera	20 grs.
Infusión corazón de res	20 grs.
Peptona	1 grs.
Cloruro de sodio	0.5 grs.
Fosfato disódico	0.25 grs.
Glucosa o dextrosa	0.2 grs.
Agua destilada	100 ml.

1. Suspender los ingredientes en un matraz Erlenmeyer con 100 ml de agua destilada. Dejarlo reposar por 5 minutos
2. Hervir hasta total disolución.
3. Ajustar el pH que debe de ser 7.4.
4. Una vez disuelto, distribuir en tubos (10 ml c/u) y esterilizar en autoclave por 15 minutos a 121°C.
5. Dejar enfriar y guardar en refrigeración a 2°C.
6. El color normal del medio es ambar claro.

Apariencia del medio después de incubado.

El crecimiento se da por turbidez.



- **Ciclo de Esterilización.**¹⁰

La esterilización con autoclave es el método más utilizado para eliminar microorganismos y esporas en medios de cultivo. Su principio se basa en aplicar vapor a 15 libras de presión por 15 minutos, con esto se asegura que el equipo llega a 121°C y por lo tanto hay destrucción total de toda forma de vida.



- **Control de calidad en los medios.**¹⁰

La exactitud de un informe de laboratorio depende de manera importante, de la calidad de los medios y reactivos que se emplearon en el análisis y del cuidado que se tuvo en su preparación y empleo; es por eso que el usuario debe efectuar un mínimo de pruebas de control que incluyan tanto determinaciones físicas como biológicas para corroborar lo anterior.

El primer punto a evaluar es el aspecto del medio preparado, ciertas características pueden ser indicativas de algunos errores técnicos, de la calidad inadecuada de algún ingrediente o de la preparación incorrecta de los recipientes que los contengan. Para el caso de los caldos éstos no deben presentar turbidez ni precipitación; su existencia puede indicar una mala calidad del agua, el uso de recipientes sucios, el sobrecalentamiento durante su preparación o un ajuste de pH incorrecto.

Para los agares se debe evaluar la solidificación: Un punto de solidificación muy alto puede indicar que se ha pesado demasiado medio de cultivo o que la calidad y cantidad del agar no es la requerida por la fórmula. Una estabilidad muy baja del gel es indicativa que se empleó menos medio del requerido, que el medio no se disolvió completamente, que sufrió un sobrecalentamiento durante su preparación, que el agar es de calidad pobre o se empleó en cantidades insuficientes.

Si el color de un medio es distinto al habitual, puede ser indicativo de un ajuste inadecuado de pH o sobrecalentamiento durante su preparación.

El segundo punto a evaluar es el pH, éste debe ser comprobado mediante el potenciómetro. Un pH incorrecto puede ser indicativo del empleo de agua no neutra, del uso de recipientes de vidrio alcalinos, del sobrecalentamiento durante su preparación, de la hidrólisis de componentes o de la falta de homogeneización.

El tercer punto a evaluar es la esterilidad, se procede a incubar el 4% del total del lote al menos 24 horas antes de su uso a 37°C y 25°C por 24 horas. El resultado esperado es que no haya crecimiento alguno. La presencia de contaminación en un lote de medio preparado puede indicar no sólo una esterilización deficiente, sino también contaminación post-esterilización, ya sea durante el envasado o por el empleo de complementos contaminados que se agreguen a las bases.

El cuarto punto a evaluar es la funcionalidad o evaluación biológica, se realizan para comprobar el crecimiento en medios nutritivos, las reacciones deseadas en los medios para pruebas bioquímicas, el crecimiento de microorganismos típicos en los medios diferenciales, el crecimiento de los microorganismos deseados y la inhibición de los microorganismos indeseables en medios selectivos o de enriquecimiento, la mayor recuperación de microorganismos en los medios de preenriquecimiento, la formación y el aspecto de las colonias en los medios sólidos. Este tipo de evaluación, debido a su complejidad, no es práctica efectuarla con la misma periodicidad. Las pruebas deben realizarse toda vez que el aspecto o pH del medio no corresponda con lo indicado.



Bibliografía.

1. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para determinación de Salmonella en alimentos.
2. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
3. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
4. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-065-SSA1-1993, que establece las especificaciones sanitarias de los medios de cultivo. Generalidades.
5. Fehlhaber K y Janetschke P. Higiene Veterinaria de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1995.
6. Smoot LM y Pierson MD. Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. Washington: ASM Press, 1997.
7. Facultad de Medicina y Zootecnia. Manual de prácticas de laboratorio de Bacteriología y Micología Veterinaria. México (DF): FMVZ, UNAM. 2003.
8. Manual de prácticas de laboratorio de Microbiología. Departamento de Microbiología y Salud Pública, Facultad de Odontología. Universidad Autónoma de Baja California. 2005.
9. Manual de medios de cultivo Merck. Barcelona: E. Merck, 1990.
10. Báez JG, Quiñones RE. Manual de recomendaciones generales para la preparación y control de calidad de medios de cultivo. México (DF): Secretaria de Salud, Laboratorio Nacional de Salud Pública. 1994.

ANEXO 5

DVD

ANEXO 6

Evaluaciones de los alumnos antes y después con manual multimedia (MM).

ID	EXPERIENCIA	PRE MM	POST MM	MM
1	0	1	3	2
2	0	4	5	1
3	0	1	8	7
4	0	3	4	1
5	1	6	7	1
6	0	1	6	5
7	0	2	6	4
8	0	3	8	5
9	0	8	8	0
10	0	6	8	2
11	0	2	6	4
12	1	7	8	1
13	0	8	8	0
14	0	2	7	5
15	0	2	4	2
16	1	3	5	2
17	1	4	5	1
18	0	4	4	0
19	0	8	8	0
20	0	8	10	2
21	0	5	5	0
22	0	2	6	4
23	0	4	7	3
24	0	4	7	3
25	0	3	6	3
26	0	2	5	3
27	0	3	7	4
28	0	1	6	5
29	0	3	5	2
30	0	1	5	4

ID: Número progresivo de identificación.

Experiencia en elaboración de medios de cultivo: 0=sin, 1=con.

Pre MM: Evaluación (de 0 a 10) del grupo antes de recibir la proyección multimedia.

Post MM: Evaluación (de 0 a 10) del grupo después de recibir la proyección multimedia.

MM: Aumento en la evaluación asociado al entrenamiento por multimedia.

Evaluaciones de los sujetos antes y después de la plática con manual tradicional (MT).

ID	EXPERIENCIA	PRE MT	POST MT	MT
31	0	3	8	5
32	0	4	8	4
33	0	2	6	4
34	0	6	6	0
35	0	2	6	4
36	0	2	3	1
37	1	4	5	1
38	0	2	2	0
39	1	6	7	1
40	0	4	5	1
41	0	2	4	2
42	1	7	7	0
43	0	1	4	3
44	0	3	3	0
45	0	4	8	4
46	0	3	4	1
47	0	4	4	0
48	0	3	5	2
49	0	3	3	0
50	0	1	3	2
51	0	2	3	1
52	0	7	7	0
53	0	6	7	1
54	0	5	5	0
55	0	2	6	4
56	0	6	6	0
57	0	1	2	1
58	0	3	5	2
59	0	1	4	3
60	0	4	5	1

ID: Número progresivo de identificación.

Experiencia en elaboración de medios de cultivo: 0=sin, 1=con.

Pre MT: Evaluación (de 0 a 10) del subgrupo antes de recibir la plática de manual tradicional.

Post MT: Evaluación (de 0 a 10) del subgrupo después de recibir la plática de manual tradicional.

MT: Aumento en la evaluación asociado al entrenamiento por plática de manual tradicional.

ANEXO 7

Comentarios

“Me pareció una manera muy práctica de entender el procedimiento, es muy explícito y creo que sería de gran ayuda para el plan de estudios si los protocolos de las prácticas de laboratorio se nos dieran en forma de videos como el que vimos. Creo que cumple el objetivo de hacer más fácil la enseñanza del método y en general me gusto mucho”.

“El video es muy descriptivo así que después de verlo, la hoja fue más fácil de contestar”.

“El video nos ayudó a aprendernos los procedimientos para un medio, nos sirvió mucho ver la forma en que se realiza cada paso para no cometer los errores cotidianos que puedan llegar a pasar”.

“Creo que el video está bien explicado, fácil de comprender y tiene las imágenes para poder entender mejor. No le cambiaría nada, así está bien hecho”.

“Pienso que a diferencia de los manuales tradicionales, el manual multimedia sólo es un complemento para ver físicamente el proceso. El tenerlo por escrito me parece más rápido, la ventaja del manual multimedia es que se puede repetir las veces que quieras”.

“El manual multimedia es mejor ya que puedes repetirlo las veces que quieras y necesites. Además identificas el material con verlo. Es más práctico y los alumnos aprenden mejor”.

“Es una buena idea lo del manual multimedia, es muy práctico, así no solo lees lo que vas a hacer, sino que también vez como se hace y como debe quedar; y es más fácil la elaboración del cultivo”.

“El uso del manual multimedia facilita el entendimiento y permite realizar el medio de manera más rápida y con la seguridad que no falta ningún paso. El manual tradicional omite detalles que desorientan y no permiten tener la seguridad de lo que se está haciendo”.

“Manual multimedia y manual tradicional deberían fusionarse y obtener de cada uno lo mejor”.

“En el manual multimedia está mejor detallado todo el procedimiento ya que si no estás familiarizado con la preparación del medio de cultivo, el video muestra como verter el agua, como pesar, como debe quedar, etc; así es más fácil y rápido realizar el procedimiento, sin duda el ver primero como se hace, te facha las cosas a diferencia si sólo lo leyeras”.

“Definitivamente el manual multimedia supera por mucho al manual tradicional porque primero te va indicando y mostrando el material y procedimiento a comparación del manual tradicional que no te muestra el material a utilizar. Por

otra parte, el manual multimedia se presta a confusión en las indicaciones por lo que representa un riesgo para obtener buenos resultados”.

“El manual multimedia es más explícito, ya que observas paso a paso lo que se debe hacer y es más fácil recordar el proceso que se debe llevar a cabo”.

“Yo pienso que el manual multimedia es mejor que el manual tradicional, ya que al verlo te das una idea de cómo tiene que ser el procedimiento. Es buena idea poder repetir el video”.

“Es un video claro y conciso de lo que se debe hacer, el único inconveniente es que debes de verlo más de una vez para que te aprendas los pasos”.

“El manual multimedia es mucho más explícito y por lo tanto, más fácil de entender, ya que además del audio, el estar