

3.6: Preparación de medios de cultivo

Medio de Cultivo

Es un complejo de sustancias que aportan nutrientes en concentraciones óptimas que permiten un buen desarrollo de los microorganismos.

Diseño de los medios de cultivo

La composición química de las células refleja cuáles son los principales materiales requeridos para el crecimiento. El agua representa entre el 80 y 90 % del peso total y es, así, el principal nutriente. La materia sólida de las células contiene hidrógeno y oxígeno (proveniente del agua), carbono, nitrógeno, fósforo y azufre. Estos seis elementos se conocen como **macronutrientes** ya que se requieren en altas concentraciones (en g/litro) y bajo una forma orgánica o inorgánica, según el microorganismo. Los elementos como el potasio, magnesio, calcio y hierro, deben proporcionarse en cantidades de mg/litro e incluirse como sales. Los requerimientos de manganeso, cobre, cobalto y zinc son muy pequeños y están presentes como contaminantes de los componentes principales y son conocidos como **elementos traza**.



Figure 3.6.1: (CC-BY; Este Libre)

Para diseñar un medio de cultivo adecuado debe considerarse:

- No incorporar nutrientes en exceso, mucho de los cuales resultarían inhibidores de crecimiento o tóxicos.
- Las actividades metabólicas de la población microbiana en crecimiento, llegarán a cambiar el medio ambiente hasta hacerlo muy desfavorable (acumulación de metabolitos orgánicos tóxicos, agotamiento del oxígeno, cambio de pH).

Tabla 3.6.1: Los medios de cultivos se clasifican en:

Clasificación	Definición	Características
Según su origen	Comerciales	Se adquieren en forma deshidratada, se agrega agua, se mide el pH y se esteriliza.
	Preparados en el laboratorio	Son aquellos preparados en el laboratorio a partir de sus ingredientes básicos.
Según su consistencia	Líquidos	No presentan agentes solidificantes y permiten aumentar el número de microorganismos.
	Semisólidos	Presentan la característica de contener agar en baja concentración (0,2%). Se utilizan para conocer el comportamiento de los microorganismos frente al oxígeno y su movilidad.
	Sólidos	Son medios que tienen agar como agente solidificante (al 1-2%) y se utilizan con el objetivo de aislar un microorganismo.

Clasificación	Definición	Características
Según su composición	Comunes	Son medios a los que no se adicionan sustancias que aporten factores de crecimiento y se utilizan para el aislamiento de microorganismos poco exigentes. Ejemplo: agar nutritivo.
	Sintéticos o definidos	Son medios en los que se conoce cuanti y cualitativamente cada uno de sus componentes.
	Complejos	Son medios en los que no se conoce cuanti y cualitativamente algunos de sus componentes, como extracto de levadura, peptona, hidrolizado de caseína, extracto de carne, etc. Ejemplo: Medio Manitol-Salado.
	Enriquecidos	Son medios a los que se le adicionan componentes como sangre, leche, yema de huevo, etc. Estos aportan factores de crecimiento (vitaminas, cofactores) que permiten el crecimiento de microorganismos exigentes desde el punto de vista nutricional. Ejemplo: Agar Sangre
	Naturales	Son medios preparados a partir de sustancias naturales. Ejemplo: agar papa, agar zanahoria.
Según su finalidad	Selectivos	Permiten el crecimiento de un microorganismo de interés en una muestra inhibiendo al resto, a través de la adición de diversas sustancias como cloruro de sodio, sales biliares, colorantes, etc., que actúan inhibiendo el crecimiento microbiano. Ejemplo: Medio Eosina-Azul de Metileno (EMB).
	Diferenciales	Permiten distinguir grupos de microorganismos poniendo en evidencia diferencias en la actividad metabólica a través de la incorporación de distintas sustancias, principalmente azúcares. Ejemplo: Medio Eosina-Azul de Metileno (EMB).
	De Enriquecimiento	Permiten la multiplicación de los microorganismos de interés desfavoreciendo la microbiota acompañante.

Preparación de Medios de Cultivo

- La preparación del material de vidrio en el laboratorio microbiológico es de fundamental importancia. Se lava con detergente y se enjuaga con agua corriente varias veces y agua destilada para eliminar todo residuo de sustancia orgánica o inorgánica. El recipiente destinado a la preparación de medios debe ser suficientemente grande para permitir una adecuada homogeneización del medio de cultivo (no agregar agua más allá de 2/3 de su capacidad).
- En el caso de medios comerciales, se pesa el medio deshidratado y se agrega aproximadamente la mitad de la cantidad de agua necesaria, se agita para lograr una suspensión homogénea y se añade el agua restante. En los medios preparados a partir de sus constituyentes básicos, se debe lograr la disolución completa de cada uno de ellos con agua destilada, antes de incorporar el siguiente componente.
- Cuando se requieren cantidades trazas de un nutriente puede ser necesario la preparación de soluciones concentradas y posterior adición de un volumen adecuado de dicha solución al medio de cultivo.
- Los medios de cultivo sólidos poseen agar como agente solidificante. Su disolución completa se realiza a baño de María y se visualiza cuando al agitar el medio no se adhiere ninguna partícula a la pared interna del recipiente y la solución viscosa es homogénea. El agar de buena calidad no altera el pH del medio. Debe incorporarse después de los demás constituyentes, una vez medido el pH.
- En la preparación de los medios de cultivo debe considerarse que ciertos cationes (calcio y hierro) forman complejos insolubles con los fosfatos dificultando la observación o cuantificación del desarrollo microbiano. Este fenómeno se evita con la preparación y esterilización de las soluciones concentradas de las sales de hierro y calcio y su posterior adición al medio esterilizado y enfriado.
- El pH del medio desciende después de la esterilización por autoclave. Este descenso depende de la composición del medio, de la temperatura del medio en el momento de la medición y del tratamiento del medio de cultivo durante su preparación (disolución, esterilización). Es recomendable el uso de un aparato medidor de pH (peachímetro) o de cintas indicadoras de pH.

La corrección del pH se logra por adición al medio de cultivo de un volumen conocido de una solución de hidróxido de sodio o ácido clorhídrico 1 N o 0,1 N.

- El fraccionamiento del medio debe realizarse tan pronto como sea posible.

Fuentes de error en la preparación de medios de cultivo

Las posibles fuentes de error son:

- Selección inadecuada del medio de cultivo o uso inapropiado.
- Adición de un volumen incorrecto de agua o utilización de agua corriente con impurezas.
- Adición de menor cantidad de agar al medio, lo cual se manifiesta por la no solidificación correcta del mismo.
- Utilización de balanzas inadecuadas cuyo margen de error altera la composición del medio.
- Distribución errónea del volumen del medio que puede resultar inapropiado para su utilización.
- Disolución insuficiente del agar. Al distribuir el medio agarizado en recipientes (tubos) dan como resultado tubos con medio que no logran solidificar.
- La esterilización a temperaturas elevadas y/o durante períodos de tiempo largos, puede ocasionar el deterioro de algunos constituyentes.
- Los residuos adheridos al vidrio pueden inhibir algunos microorganismos exigentes particularmente a los virus.

This page titled [3.6: Preparación de medios de cultivo](#) is shared under a [not declared](#) license and was authored, remixed, and/or curated by [María M. Reynoso, Carina E. Magnoli, Germán G. Barros y Mirta S. Demo](#).