



### COMPETENCIAS A DESARROLLAR

- Identificar la elaboración un medio de cultivo.
- Reconocer materiales y equipos de laboratorio utilizados para elaborar medios de cultivo.

### LECTURAS

#### LOS MEDIOS DE CULTIVO EN MICROBIOLOGÍA



Uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio. El material alimenticio en el que crecen los microorganismos es el **Medio de Cultivo** y el crecimiento de los microorganismos es el **Cultivo**. Se han preparado más de 10.000 medios de cultivo diferentes.

Para que las bacterias crezcan adecuadamente en un medio de cultivo artificial debe reunir una serie de condiciones como son: temperatura, grado de humedad y presión de oxígenos adecuados, así como un grado correcto de acidez o alcalinidad. Un medio de cultivo debe contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar exento de todo microorganismo contaminante.

La mayoría de las bacterias patógenas requieren nutrientes complejos similares en composición a los líquidos orgánicos del cuerpo humano. Por eso, la base de muchos medios de cultivo es una infusión de extractos de carne y Peptona a la que se añadirán otros ingredientes.



El agar es un elemento solidificante muy empleado para la preparación de medios de cultivo. Se licúa completamente a la temperatura del agua hirviendo y se solidifica al enfriarse a 40 grados. Con mínimas excepciones no tiene efecto sobre el crecimiento de las bacterias y no es atacado por aquellas que crecen en él.

La Gelatina es otro agente solidificante pero se emplea mucho menos ya que bastantes bacterias provocan su licuación.

En los diferentes medios de cultivo se encuentran numerosos materiales de enriquecimiento como hidratos de carbono, suero, sangre completa, bilis, etc. Los hidratos de Carbono se adicionan por dos motivos fundamentales: para incrementar el valor nutritivo del medio y para detectar reacciones de fermentación de los microorganismos que ayuden a identificarlos. El suero y la sangre completa se añaden para promover el crecimiento de los microorganismos menos resistentes.

También se añaden colorantes que actúan como indicadores para detectar, por ejemplo, la formación de ácido o como inhibidores del crecimiento de unas bacterias y no de otras (el Rojo Fenol se usa como indicador ya que es rojo en pH básico y amarillo en pH ácido. La Violeta de Genciana se usa como inhibidor ya que impide el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram-positivas).

#### Condiciones generales para el cultivo de microorganismos

El desarrollo adecuado de los microorganismos en un medio de cultivo se ve afectado por una serie de factores de gran importancia y que, en algunos casos, son ajenos por completo al propio medio.

#### 1- disponibilidad de nutrientes adecuados

Un medio de cultivo adecuado para la investigación microbiológica ha de contener, como mínimo, carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas. En muchos casos serán necesarias ciertas vitaminas y otras sustancias inductoras del crecimiento. Siempre han de estar presentes las sustancias adecuadas para ejercer de donantes o captadores de electrones para las reacciones químicas que tengan lugar. Todas estas sustancias se suministraban originalmente en forma de infusiones de carne, extractos de carne o extractos de



## GUÍA DE TRABAJO VIRTUAL

levadura. Sin embargo, la preparación de estas sustancias para su aplicación a los medios de cultivo provocaban la pérdida de los factores nutritivos lábiles.

Actualmente, la forma más extendida de aportar estas sustancias a los medios es utilizar peptona que, además, representa una fuente fácilmente asequible de nitrógeno y carbón ya que la mayoría de los microorganismos, que no suelen utilizar directamente las proteínas naturales, tienen capacidad de atacar los aminoácidos y otros compuestos más simples de nitrógeno presentes en la peptona.

Ciertas bacterias tienen necesidades nutritivas específicas por lo que se añade a muchos medios sustancias como suero, sangre, líquido ascítico, etc. Igualmente pueden ser necesarios ciertos carbohidratos y sales minerales como las de calcio, magnesio, manganeso, sodio o potasio y sustancias promotoras del crecimiento, generalmente de naturaleza vitamínica.

Muy a menudo se añaden al medio de cultivo ciertos colorantes, bien como indicadores de ciertas actividades metabólicas o bien por sus capacidades de ejercer de inhibidores selectivos de ciertos microorganismos.

### 2- consistencia adecuada del medio

Partiendo de un medio líquido podemos modificar su consistencia añadiendo productos como albúmina, gelatina o agar, con lo que obtendríamos medios en estado semisólido o sólido. Los medios solidificados con gelatina tienen el gran inconveniente de que muchos microorganismos no se desarrollan adecuadamente a temperaturas inferiores al punto de fusión de este solidificante y de que otros tienen la capacidad de licuarla.

Actualmente los medios sólidos son de uso universal, por su versatilidad y comodidad, pero hay también gran cantidad de medios líquidos cuyo uso está ampliamente extendido en el laboratorio.

### 3- presencia (o ausencia) de oxígeno y otros gases

Gran cantidad de bacterias pueden crecer en una atmósfera con tensión de oxígeno normal. Algunas pueden obtener el oxígeno directamente de variados sustratos. Pero los microorganismos anaerobios estrictos sólo se desarrollarán adecuadamente en una atmósfera sin oxígeno ambiental. En un punto intermedio, los microorganismos microaerófilos crecen mejor en condiciones atmosféricas parcialmente anaerobias (tensión de oxígeno muy reducida), mientras los anaerobios facultativos tienen un metabolismo capaz de adaptarse a cualquiera de las citadas condiciones.

### 4- condiciones adecuadas de humedad

Un nivel mínimo de humedad, tanto en el medio como en la atmósfera, es imprescindible para un buen desarrollo de las células vegetativas microbianas en los cultivos. Hay que prever el mantenimiento de estas condiciones mínimas en las estufas de cultivo a 35-37°C proporcionando una fuente adecuada de agua que mantenga la humedad necesaria para el crecimiento de los cultivos y evitar así que se deseque el medio.

### 5- Luz ambiental

La mayoría de los microorganismos crecen mucho mejor en la oscuridad que en presencia de luz solar. Hay excepciones evidentes como sería el caso de los microorganismos fotosintéticos.

### 6- pH

La concentración de iones hidrógeno es muy importante para el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de ellos se desarrollan mejor en medios con un pH neutro, aunque los hay que requieren medios más o menos ácidos. No se debe olvidar que la presencia de ácidos o bases en cantidades que no impiden el crecimiento bacteriano pueden sin embargo inhibirlo o incluso alterar sus procesos metabólicos normales.

### 7- Temperatura

Los microorganismos mesófilos crecen de forma óptima a temperaturas entre 15 y 43°C. Otros como los psicrófilos crecen a 0°C y los termófilos a 80°C o incluso a temperaturas superiores (hipertemófilos). En líneas generales, los patógenos humanos crecen en rangos de temperatura mucho más cortos, alrededor de 37°C, y los saprofitos tienen rangos más amplios.

### 8- Esterilidad del medio



## GUÍA DE TRABAJO VIRTUAL

Todos los medios de cultivo han de estar perfectamente estériles para evitar la aparición de formas de vida que puedan alterar, enmascarar o incluso impedir el crecimiento microbiano normal del o de los especímenes inoculados en dichos medios. El sistema clásico para esterilizar los medios de cultivo es el autoclave (que utiliza vapor de agua a presión como agente esterilizante)

### *La evolución de los medios de cultivo*

Podemos decir que la microbiología empieza su verdadero desarrollo como ciencia en el momento en que se descubre el microscopio y comienza la observación de los primeros microorganismos, pero es indudable que la puesta a punto de los medios de cultivo y la utilización del agar como solidificante, marcan dos importantes puntos de inflexión en su evolución.

La primera noticia de la utilización de medios de cultivo nos llega del micólogo Brefeld, que consiguió aislar y cultivar esporas de hongos en medios sólidos realizados a base de gelatina.

Sin embargo este sistema no era adecuado para las bacterias (por su menor tamaño) y no fue hasta el año 1878 cuando Lister popularizó un método enfocado al cultivo puro basado en diluciones seriadas en un medio líquido.

**Koch** realizó sus investigaciones utilizando en un primer momento rodajas de patata como soporte nutritivo sólido, pero no tardó en recurrir al caldo de carne líquido, diseñado por Loeffler, al que, en 1881, añadió gelatina, logrando un medio sólido transparente ideal para la observación de la morfología macroscópica de las colonias microbianas.

En el año 1882 tiene lugar uno de los grandes avances de la microbiología en relación con los medios de cultivo: el médico alemán Walter Hesse introduce el agar-agar (polisacárido extraído de algas rojas) como solidificante.

En 1887 un ayudante de Koch llamado Petri, comienza a utilizar placas de cristal planas, que se llaman desde entonces placas de Petri, para sustituir a las clásicas bandejas de vidrio cubiertas con campanas que se usaban hasta entonces.

Beijerinck y Winogradsky, que desde de 1888 realizaron sus investigaciones sobre las bacterias quimioautótrofas (utilización de nitrógeno y azufre sobre todo) tuvieron gran importancia en el desarrollo de los medios selectivos y de enriquecimiento. Diseñaron este tipo de medios de tal forma que su especial composición química favorecía el crecimiento de ciertos tipos de microorganismos que, en función de sus procesos metabólicos, eran los únicos capaces de utilizar para su desarrollo ciertos nutrientes del medio.

En 1892 Würtz impulsó el uso de los medios diferenciales, incorporando indicadores de pH a la composición de ciertos medios con lo cual se podía observar la producción de ácidos en la fermentación en ciertos microorganismos.

## TIPOS BÁSICOS DE MEDIOS DE CULTIVO

**Atendiendo a su estado físico:** líquidos, semisólidos, sólidos,

**Atendiendo a su utilidad práctica:**

**Medios para aislamientos primarios:** Para usos generales: no selectivos, para cultivo de una amplia variedad de organismos difíciles de hacer crecer. A menudo están enriquecidos con materiales como: sangre, suero, Hemoglobina, FX, FV, glutamina, u otros factores accesorios para el crecimiento de las bacterias (Agar Sangre, Schaeffer, etc)

**Selectivos:** (pueden ser de moderada o de alta selectividad) se añaden sustancias que inhiban el crecimiento de ciertos grupos de bacterias, permitiendo a la vez el crecimiento de otras. Variando las sustancias añadidas, se varía el tipo y grado de selectividad (Mac Conkey, Kanamicina-Vancomicina)

**Enriquecidos:** ralentizan/suprimen el crecimiento de la flora competitiva normal potenciando el cultivo y crecimiento deseado (Selenito, medio con Vitamina K).



# INSTITUTO UNIVERSITARIO DE CALDAS

"Dignificando la escuela transformamos el mundo"

## GUÍA DE TRABAJO VIRTUAL

Para aislamientos especializados: formulaciones nutritivas especiales que satisfacen requerimientos de grupos específicos de bacterias, ayudando a su identificación (Lowenstein).

### Medios para identificación:

Diferenciales: formulaciones especiales en las que se estudian las peculiaridades fisiológicas (nutrición y respiración sobre todo) específicas de las bacterias. Seleccionando los medios adecuados se puede llegar a la identificación de casi cualquier bacteria (Oxidación-Fermentación)<sup>1</sup>.

## ACTIVIDADES

### ACTIVIDAD 1

De la lectura anterior elaborar un mapa conceptual, los mapas conceptuales deben ser diferente de cada estudiante puesto que todos tenemos posturas diferentes respecto a la lectura. Todo el trabajo debe ser a mano y en el cuaderno.

### ACTIVIDAD 2

Elaborar un video e informe de laboratorio sobre la elaboración de un medio de cultivo casero de acuerdo a la siguiente práctica video: **Preparación de medios de cultivo** de la de la Fundación EPM. Link: <https://www.youtube.com/watch?v=hAVWmlf8No4>

Recuerde que el informe de laboratorio contiene: debe ser en el cuaderno a mano.

Portada, fecha, titulo, objetivos, procedimiento, resultados, análisis de resultados y bibliografía.

## CRITERIOS DE EVALUACIÓN Y PLAZOS DE ENTREGA

La valoración de esta actividad se realizara mediante el envío del archivo resuelto en formato pdf o mediante la opción compartir al siguiente correo electrónico: [andreaalvarezmbyq@gmail.com](mailto:andreaalvarezmbyq@gmail.com). El archivo debe tener como nombre el nombre completo del estudiante y el grado, por ejemplo: [andreaalvarezmorales- labortorio-11-5.pdf](#)

Las actividades en el cuaderno le tomas fotos y después las pones en Word en un buen tamaño y definición, lo guardas con el nombre completo del estudiante y el grado, por ejemplo: [andreaalvarezmorales-labortorio-11-5.docx](#), por ultimo cuando tengas el archivo terminado y listo, das clic en archivo, guardar como, le pones el nombre y en tipo de archivo buscas pdf, para finalizar guardar. Este archivo de pdf es el que me debes enviar.



## FECHA DE ENTREGA

La fecha máxima para enviar la guía desarrolla es el día viernes 30 de abril 2:00 pm.

## INFORMACIÓN DE CONTACTO

### DOCENTE 1

- Nombre: Andrea Álvarez Morales
- Grupos: Laboratorio 11-5.
- Correo: [andreaalvarezm1997@gmail.com](mailto:andreaalvarezm1997@gmail.com)
- Celular: 3008828024

<sup>1</sup> <http://www.microidmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioMedios.htm>