

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

MEDIOS DE CULTIVO

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. La diversidad metabólica de estos es tan grande que la variedad de medios de cultivo es enorme, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos, ni siquiera refiriendonos a las bacterias con exclusividad.

CONSTITUYENES HABITUALES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

A continuación se da una idea general sobre algunos de los constituyentes habituales de los medios de cultivo.

AGAR. Se utiliza como agente gelificante para dar solidez a los medios de cultivo. En el agar bacteriológico el componente dominante es un polisacárido que se obtiene de ciertas algas marinas y que presenta la indudable ventaja de que a excepción de algunos microorganismos marinos, no es utilizado como nutriente. Un gel de agar al 1-2% se licua alrededor de los 100°C y se gelifica alrededor de los 40°C, dependiendo de su grado de pureza.

EXTRACTOS. Su preparación consiste en que ciertos órganos o tejidos animales o vegetales (p.e. carne, hígado, cerebro, semillas, etc.) son extraídos con agua y calor y posteriormente concentrados hasta la forma final de pasta o polvo. Estos preparados deshidratados son a menudo empleados en la elaboración de los medios de cultivo. Los más utilizados son el extracto de carne, de levadura y el de malta.

PEPTONAS. Son mezclas complejas de compuestos orgánicos, nitrogenados y sales minerales, que se obtienen por digestión enzimática o química de proteínas animales o vegetales (soja caseína carne, etc.). Las peptonas son muy ricas en pépticos y aminoácidos, pero pueden ser deficientes en determinadas vitaminas y sales minerales.

FLUIDOS CORPORALES. Con frecuencia es necesario añadir a los medios de cultivo de algunos patógenos sustancias como sangre completa, sangre desfibrinada, plasma o suero sanguíneo, sobre todo para conseguir el primer aislamiento a partir del hospedador. La sangre no puede ser esterilizada, y por tanto debe de ser obtenida en condiciones asépticas directamente de un animal sano, y adicionada al medio de cultivo después de que este haya sido auto clavado. Los fluidos corporales no solo aportan factores de crecimiento sino que también aportan sustancias que neutralizan a inhibidores del crecimiento de algunas bacterias. Un ejemplo podría ser la catalasa presente en las células sanguíneas destruye el peróxido de hidrógeno que algunas bacterias que no poseen este enzima acumulan como producto del metabolismo del oxígeno.

SISTEMAS AMORTIGUADORES. Para mantener el pH dentro del rango óptimo del crecimiento bacteriano a veces, es necesario añadir algunos componentes al medio de cultivo. Debido a que la mayoría de las bacterias son neutrófilas, se suelen emplear sales del tipo de los fosfatos bisódicos o bipotásicos u otras sustancias como las peptonas para prevenir la desviación del pH.

INDICADORES DE PH. Con el objeto de poder detectar variaciones en el pH debido a fermentaciones u otros procesos, se hace necesario a veces añadir indicadores ácido-base que nos lo indiquen.

AGENTES REDUCTORES. Con el objetivo de crear en los medios de cultivo condiciones que permitan el desarrollo de los gérmenes microaerófilos o anaerobios se añaden estos agentes reductores siendo, los más empleados la cisteína y el tioglicolato entre otros.

AGENTES SELECTIVOS. La adición de determinadas sustancias a un medio de cultivo puede convertirlo en selectivo. Así, por ejemplo, la adición de cristal violeta, sales biliares, azida sódica, telurito potásico, antibióticos, etc., a la concentración adecuada hará que actúen como agentes selectivos frente a determinados microorganismos.

TIPOS DE MEDIOS DE CULTIVO

MEDIOS GENERALES. Son aquellos que permiten el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.

MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO. Son aquellos que favorecen el crecimiento de un determinado tipo de microorganismo sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento de los demás.

MEDIOS SELECTIVOS. Son aquellos que permiten el crecimiento de un tipo de microorganismos determinado, inhibiendo el desarrollo de los demás.

MEDIOS DIFERENCIALES. Son aquellos en los que se pone de manifiesto propiedades que un determinado tipo de microorganismos posee.

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

En la actualidad, la mayoría de los medios de cultivo se encuentran comercializados; normalmente bajo la forma de liofilizados a los que es preciso rehidratar. En estos casos la preparación del medio de cultivo se reduce sencillamente a pesar la cantidad deseada del mismo y disolverla en agua destilada siguiendo las instrucciones del fabricante. Las sustancias termolábiles, se esterilizan por filtración y se añaden al resto de los componentes después de que estos hayan sido previamente esterilizados en el autoclave y enfriados a temperatura ambiente ó a 40-50°C si se trata de medios con agar.

Antes de su esterilización los medios líquidos se reparten en los recipientes adecuados (tubos, matraces, etc.). Si es un medio sólido y se ha de distribuir en tubos ó en matraces será necesario fundir el agar en baño María u horno microondas, una vez fundido y homogenizado, se distribuye en caliente a los tubos ó matraces (no en placas Petri) se tapa y se esteriliza en el autoclave.

Una vez finalizada la esterilización los medios se dejan enfriar a temperatura ambiente y en el caso de medios sólidos contenidos en tubos deberán, en su caso, inclinarse para que al solidificarse adopten la forma de agar inclinado ó pico de flauta (slant) si tal es su finalidad.

Las placas de Petri se preparan vertiendo el medio fundido y estéril dentro de ellas y en un ambiente aséptico (por ejemplo en la proximidad de la llama de un mechero Bunsen) es conveniente homogenizar el medio en el transcurso de la operación para evitar que el agar sedimente en el fondo del recipiente y no se distribuya por igual en todas las placas. También es posible conservar el medio destinado a preparar placas Petri solidificado y estéril en tubos que se fundirán al baño María en el momento de la preparación de las mismas.

Los caldos y medios sólidos pueden conservarse, una vez esterilizados, a temperatura ambiente pero para reducir su deshidratación y el consiguiente cambio en las concentraciones de sus componentes es preferible conservarlos a 4°C.

Cultivo de bacterias

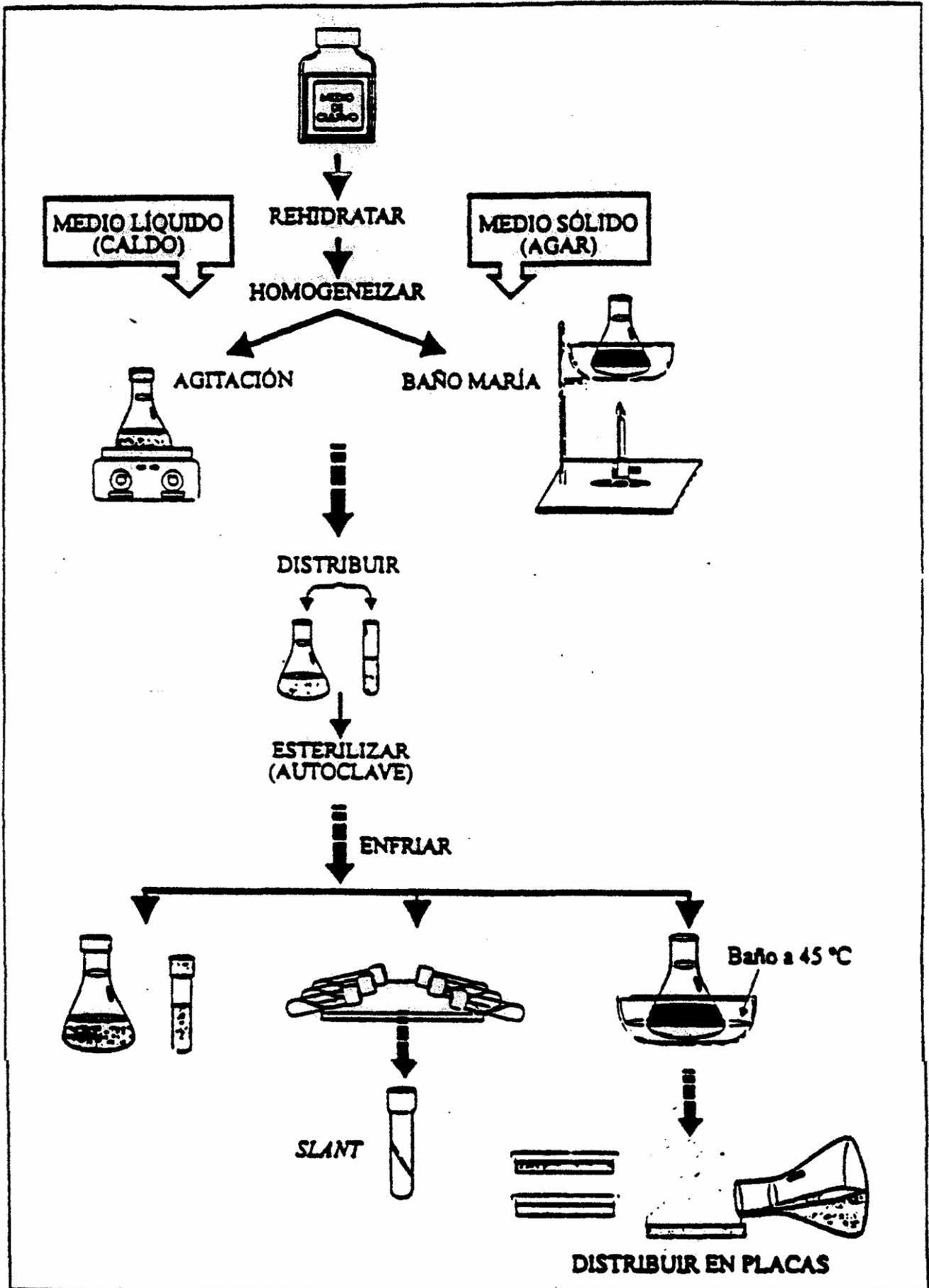


Fig. 2-1. Preparación de medios de cultivo.