

Medios de cultivo

Prof. Antonio Doménech



Macronutrientes

Elemento	Forma normal del nutriente en el ambiente	Forma suministrada en el medio de cultivo
Carbono (C)	CO ₂ , compuestos orgánicos	Glucosa, malato, acetato, piruvato, aminoácidos, extractos compuestos
Hidrógeno (H)	H ₂ O, compuestos orgánicos	H ₂ O, compuestos orgánicos
Oxígeno (O)	H ₂ O, O ₂ , compuestos orgánicos	H ₂ O, O ₂ , compuestos orgánicos
Nitrógeno (N)	NH ₃ , NO ₃ ⁻ , N ₂ , compuestos orgánicos nitrogenados	Inorgánico: NH ₄ Cl, (NH ₄) ₂ SO ₄ , KNO ₃ , N ₂
Fósforo (P)	PO ₄ ³⁻	KH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄
Azufre (S)	H ₂ S, SO ₄ ²⁻ , compuestos orgánicos con S, sulfuros metálicos (FeS, CuS, ZnS, NiS, etc.)	Na ₂ SO ₄ , Na ₂ S ₂ O ₃ , Na ₂ S, cisteína y otros compuestos orgánicos azufrados
Potasio (K)	K ⁺ en solución o como varias sales de K	KCl, KH ₂ PO ₄
Magnesio (Mg)	Mg ²⁺ en solución o como varias sales de Mg	MgCl ₂ , MgSO ₄
Sodio (Na)	Na ⁺ en solución, NaCl o como otras sales de Na	NaCl
Calcio (Ca)	Ca ²⁺ en solución, CaSO ₄ o como otras sales de Ca	CaCl ₂
Hierro (Fe)	Fe ²⁺ o Fe ³⁺ en solución, FeS, Fe(OH) ₃ o como otras sales de Fe	FeCl ₃ , FeSO ₄ , varias soluciones de hierro quelado (Fe ³⁺ EDTA, Fe ³⁺ citrato, etc.)



Características de los medios de cultivo

Definición

Un medio de cultivo es un conjunto de componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos.

Composición

- Macronutrientes.
- Micronutrientes o elementos traza.
- Factores de crecimiento.



Micronutrientes

Elemento	Función celular
Cromo (Cr)	Requerido en los mamíferos para el metabolismo de la glucosa. Se desconoce si los microorganismos lo requieren
Cobalto (Co)	Vitamina B ₁₂ ; transcarboxilasa (bacterias del ácido propiónico)
Cobre (Cu)	En la respiración, citocromo c oxidasa; en fotosíntesis, plastocianina y en algunas superóxido dismutasas
Manganeso (Mn)	Activador de muchas enzimas; presente en algunas superóxido dismutasas y en la enzima que rompe el agua en fototrofos oxigénicos
Molibdeno (Mo)	Algunas enzimas que contienen flavinas; nitrogenasas, nitrato reductasa, sulfito reductasa, DMSO-TMAO reductasas y algunas formato deshidrogenasas
Níquel (Ni)	La mayoría de las hidrogenasas; coenzima F ₄₃₀ de metanógenos, deshidrogenasa del monóxido de carbono y ureasa
Selenio (Se)	Formato deshidrogenasa; algunas hidrogenasas y el aminoácido seleniocisteína
Tungsteno (W)	Algunas formato deshidrogenasas y oxotransferasas de los hipertermófilos
Vanadio (V)	Vanadio nitrogenasa; bromo peroxidasa
Zinc (Zn)	Anhidrasa carbónica, alcohol deshidrogenasa, ARN y ADN polimerasa, y muchas proteínas que se unen al ADN
Hierro (Fe)	Citocromos, catalasas, peroxidasas, proteínas con hierro y azufre, oxigenasas y todas las nitrogenasas



Factores de crecimiento

Vitamina	Función
Ácido p-aminobenzoico	Precursor del ácido fólico
Ácido fólico	Metabolismo de compuestos de un carbono; transferencia de grupos metilo
Biotina	Biosíntesis de ácidos grasos; β -descarboxilaciones; algunas reacciones de fijación de CO_2
Cobalamina (B_{12})	Reducción y transferencia de restos monocarbonados; síntesis de desoxirribosa
Ácido lipoico	Transferencia de grupos acilo en la descarboxilación del piruvato y α -cetoglutarato
Ácido nicotínico (niacina)	Precursor del NAD^+ ; transferencia de electrones en reacciones de oxido-reducción
Ácido pantoténico	Precursor de la coenzima A; activación del acetilo y derivados acilados
Riboflavina	Precursor del FMN, FAD en flavoproteínas implicadas en transporte de electrones
Tiamina (B_1)	α -descarboxilaciones; transcetolasa
Vitaminas B_6	Transformaciones de aminoácidos y cetoácidos
Grupo Vitamina K	Transporte de electrones; síntesis de esfingolípidos
Hidroxamatos	Compuestos que unen hierro; solubilización y transporte del hierro al interior celular



Tipos de medios de cultivo

- Sólidos y líquidos.
- Medio definido (sintético) y medio complejo.
- Medio mineral o basal: compuestos inorgánicos.
- Medio mínimo: medio basal + 1 fuente de carbono.
- Medio rico: todos los requerimientos nutritivos.
- Medio de enriquecimiento.
- Medio selectivo.
- Medio diferencial.



Constituyentes habituales

- Agentes gelificantes: agar.
- Extractos: levadura, carne, hígado, semillas...
- Peptonas: soja, carne, gelatina, caseína...
- Sistemas amortiguadores: fosfatos...
- Indicadores de pH: rojo neutro, cristal violeta, rojo de fenol...
- Agentes reductores: microaerofilia o anaerofilia.
- Agentes selectivos: sales biliares, antibióticos...



Medio definido y medio complejo

TABLA 5.4 Ejemplos de medios de cultivo para microorganismos con requerimientos nutricionales simples y complejos^a

Medio definido para <i>Escherichia coli</i>	Medio definido para <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Medio complejo tanto para <i>E. coli</i> como para <i>L. mesenteroides</i>
K_2HPO_4 7 g KH_2PO_4 2 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g MgSO_4 0.1 g CaCl_2 0.02 g Glucosa 4-10 g Elementos traza (Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo) de 2-10 μg cada uno Agua destilada 1 000 ml pH 7	K_2HPO_4 0.6 g KH_2PO_4 0.6 g NH_4Cl 3 g MgSO_4 0.1 g Glucosa 25 g Acetato sódico 20 g Aminoácidos (alanina, arginina, asparagina, aspartato, cisteína, glutamato, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina) 100-200 μg de cada uno Purinas y pirimidinas (adenina, guanina, uracilo, xantina) 10 mg de cada una Vitaminas (biotina, folato, ácido nicotínico, piridoxal, piridoxamina, piridoxina, riboflavina, tiamina, pantotenato, ácido p-aminobenzoico) 0,01-1 mg de cada una Elementos traza (véase la primera columna) 2-10 μg de cada uno Agua destilada 1 000 ml pH 7	Glucosa 15 g Extracto de levadura 5 g Peptona 5 g KH_2PO_4 2 g Agua destilada 1 000 ml pH 7
(a)		(b)

^aLas fotos son tubos del medio definido (a) y del medio complejo descrito (b). Nótese que el medio complejo está coloreado por los extractos orgánicos e hidrolizados que contiene. Fotos cedidas por Cheryl L. Broadie y John Vercillo, Southern Illinois University at Carbondale.



Manuales de medios de cultivo

Manual Básico de Microbiología • Medios de cultivo



Baird-Parker, Base de Agar

Se emplea para el aislamiento selectivo de *Estafilococos* en alimentos, productos farmacéuticos, productos cosméticos y otras muestras biológicas.

Sinónimos:
Medio O

Historia

Este medio fue puesto a punto por Baird-Parker en 1962. Medio reconocido por la USP y por la Ph. Eur., además, de otros organismos oficiales. Se ha demostrado que este medio es el menos inhibidor para los fines propuestos.

Fundamento

Se trata de una base a la que se deben añadir Emulsión de Yema de Huevo y Potasio Telurito. También se puede añadir Sulfametacina para inhibir el crecimiento de *Proteus*. Por la presencia del Lito Cloruro y el Potasio Telurito se inhibe el crecimiento de microorganismos no deseados. Por la presencia del Sodio Piruvato y la Glicina se favorece el crecimiento de los *Estafilococos*. A su vez el Potasio Telurito combinado con la acción de la yema de huevo permite diferenciar los *Estafilococos*. El *Staphylococcus aureus* da colonias negras, por la reducción del potasio telurito a telurio, rodeadas de un halo de transparencia debido a la actividad lecitinasa. Existe un paralelismo importante entre los coagulasa-positivos y la reacción desca con la yema de huevo y el telurito; es por lo que estas características se utilizan como indicativo de esta actividad. Para la demostración directa de *S. aureus* coagulasa-positivos puede suplementarse el medio con plasma de conejo en lugar de yema de huevo.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):			
Extracto de Carne	5,0	Extracto de Levadura	1,0
Glicina	12,0	Lito Cloruro	5,0
Digerido Pancreático de Caseína	10,0	Sodio Piruvato	10,0
Agar	20,0		
pH: 6,8±0,2			



Manuales de medios de cultivo

Preparación

Suspender 63 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar hasta 45°C y añadir 50 ml de Emulsión de Yema de Huevo-Telurito y, si se desea 50 mg/l de Sulfametacina. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

Modo de empleo

El medio de cultivo completo es opaco y debe utilizarse en los días siguientes a su preparación. Según Ph. Eur. sembrar homogéneamente en la superficie del medio, la proporción de 1 gr o 1 ml de muestra preincubada en caldo Soja Tryptona. Incubar a 35-37°C durante 18-72 horas. Las colonias sospechosas se confirmarán con la prueba de la coagulasa y desoxirribonucleasa.

Reactivos Auxiliares

Emulsión de Yema de Huevo-Telurito (Aditivo) CULTIMED (Cód. 414723) • RPF, Suplemento (ISO-FDIS 6888-2) (Aditivo) CULTIMED (Cód. 416272) • Sulfametacina (Cód. A19276)

Bibliografía

J. App. Bact., 27: 78-82 (1964) • J. App. Bact., 25: 12-19 (1962) • USP 30 (2007) • Ph. Eur. 6.0 (2008) • ISO 6888-1:1999 Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for enumeration of coagulase-positive staphylococci. Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.



Manuales de medios de cultivo

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino

Solubilidad: total

Color: tostado claro

pH: 6,8±0,2

Control microbiológico

Los siguientes resultados fueron obtenidos a partir de cepas patrón, después de incubación a temperatura de 35-37°C y observados a las 24-48 horas, y añadidos 50 ml de Emulsión de Yema de Huevo-Telurito.

Microorganismos	Desarrollo	Color de la Colonia	Halos de Licitinasas	Inóculo ufc	Recuperación %
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Leve-inhibido	Marrón	–	> 10 ⁵	≥30
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Leve-Buena	Negro	–	> 10 ³ – 10 ⁶	≥30
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Buena	Negro	+	> 10 ³ – 10 ⁶	≥30
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Buena	Negro	+	> 10 ³ – 10 ⁶	≥30
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	Buena	Marrón	–	> 10 ³ – 10 ⁶	≥30



Manuales de medios de cultivo

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino

Solubilidad: total

Color: tostado claro

pH: 6,8±0,2

Control microbiológico

Los siguientes resultados fueron obtenidos a partir de cepas patrón, después de incubación a temperatura de 35-37°C y observados a las 24-48 horas, y añadidos 50 ml de Emulsión de Yema de Huevo-Telurito.

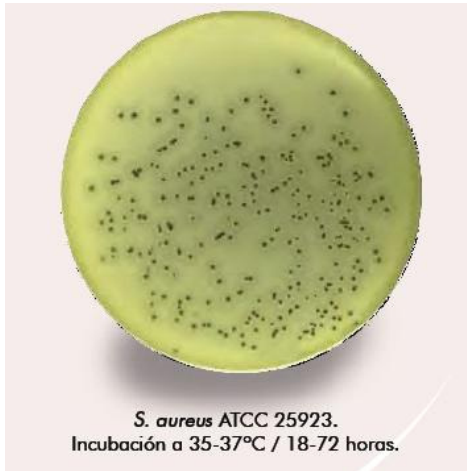
Microorganismos	Desarrollo	Color de la Colonia	Halos de Licitinasas	Inóculo ufc	Recuperación %
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Leve-inhibido	Marrón	–	> 10 ⁵	≥30
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Leve-Buena	Negro	–	> 10 ³ – 10 ⁶	≥30
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Buena	Negro	+	> 10 ³ – 10 ⁶	≥30
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Buena	Negro	+	> 10 ³ – 10 ⁶	≥30
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	Buena	Marrón	–	> 10 ³ – 10 ⁶	≥30

Presentaciones

Código	Envase	Presentación	Unidad caja estándar	Precio
413744.1208	100 g		6	
413744.1210	500 g		6	
413744.0914	5 kg			
453744.0922	20 placas de Ø 90 mm			
493744.0922	10 frascos x 90 ml			
433744.0922	30 placas de contacto			

Símbolos de envases

Envase de polietileno Cubo de polipropileno con asa Caja

[illegible]

Medio de cultivo	Citrato de Simmons	McConkey	Hierro de Kliger	Baird Parker	Triptosa-Sulfito-Cicloserina (TSC)
<i>Escherichia coli</i>					
<i>Salmonella</i> spp.					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>					
<i>Clostridium perfringens</i>					
<i>Staphylococcus aureus</i>					

Organismo	Medio	Grupo
<i>Escherichia coli</i>	Mc Conkey	1
<i>Salmonella</i> spp.	Mc Conkey	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Citrato de Simmons	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cetrimide	4
<i>Clostridium perfringens</i>	TSC	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird Parker	6

Medio	Water & Beverages	Meat & Fish Industry	Dairy products	Bakery	Processed Foods	Beer industry	Waste Water	Cosmetic Industry	Pharmaceutical industry
Acetate differential Agar	Grupo 1								
BCP Glucose Agar									
Fecal Coliforms Broth Base	Grupo 2								
Koser Citrate Broth									
Mannitol Nitrate Motility Medium	Grupo 3								
Mio Medium									
MR-VP Medium	Grupo 4								
Sim Medium									
Tryptone Byle Salts Agar	Grupo 5								
TTC Chapman Agar									
Urea Indol Broth	Grupo 6								
VRBG									