



CONVOCATORIA INNOVA-TIC 2024

MicroLab

Fichas Técnicas Medios de Cultivo

Caldo tioglicolato

El caldo tioglicolato se utiliza para el cultivo y aislamiento de bacterias anaeróbicas y microaerófilas facultativas y para simulaciones de procesos asépticos.

Modo de acción

En el caldo tioglicolato la glucosa la peptona de caseína y el extracto de levadura aportan los factores de crecimiento necesarios para el crecimiento bacteriano. Los agentes reductores son el tío gluconato y Lcistina que garantizan una anaerobiosis. Son adecuados incluso para anaerobios existentes y evitan la acumulación de peróxidos que son letales para algunos microorganismos. Los grupos sulfhidrilo de esta sustancia inactivan el arsénico el mercurio y otros compuestos de metales pesados.

Preparación

Suspender 29 g de caldo tioglicolato/L. Dispensar en tubos. Autoclave 15 min a 121 °C. El medio preparado es transparente y amarillento. El valor de pH a 25 °C está en el rango de 6.9 a 7.3.

Procedimiento experimental y evaluación

Inocular el medio de cultivo con el material de muestra teniendo cuidado de que la muestra llegue al fondo de los tubos. Para asegurar la anaerobiosis, en medio puede cubrirse con 1 cm de solución de parafina líquida o agar estéril.

Incubación: varios días a la temperatura óptima de incubación (30-35 °C) los anaerobios crecen en la parte inferior del cultivo. (1)



CONVOCATORIA INNOVA-TIC 2024

MicroLab

Fichas Técnicas Medios de Cultivo

Caldo Tetrionato

Modo de acción

El tetrionato y el exceso de tiosulfato suprime los microorganismos coliformes y otras bacterias acompañantes, mientras que todas las bacterias reductoras de tetrionato como salmonelas y Proteus pueden multiplicarse más o menos normalmente. En este medio se forman productos ácidos de descomposición de tetrionato, que son neutralizados por el carbonato de calcio.

Composición

Peptona de caseína 2,5; peptona de carne 2,5; mezcla de sales biliares 1,0; carbonato de calcio 10,0; tiosulfato de sodio 30,0. También se añadirá: yoduro de potasio 5,0; yodo 6,0; verde brillante 0,01.

Preparación

Suspender 46 g/L, calentar brevemente hasta ebullición y enfriar rápidamente. No esterilizar en autoclave. Antes de su uso, añada 20 ml de solución de yodo/yoduro de potasio por litro, si lo desea, 10 ml de solución de verde brillante al 0,1% por litro y, si es necesario, 0,04 g de novobiocina por litro. Evite calentar más. Al dispensar en medio preparado asegúrese de cualquier precipitado formado quede suspendido uniformemente. Preparación de la solución de yodo/ yoduro de potasio: Yodo 6 g; yoduro de potasio 5 g; agua destilada 20 ml. El caldo listo para usar debe prepararse y utilizarse el mismo día. El medio es turbio y verde con sedimento blanco (carbonato de calcio).

Procedimiento experimental y evaluación

Inocular masivamente el medio de cultivo con el material de muestra.

Incubación: 18-24 horas a 35 37 °C o 43 °C respectivamente. Los cultivos resultantes se someten luego a pruebas adicionales.(2)



CONVOCATORIA INNOVA-TIC 2024

MicroLab

Fichas Técnicas Medios de Cultivo

Caldo MULLER KAUFFMANN (tetrionato novobiocina)

Modo de acción

El tetrionato se produce a partir de tiosulfato añadiendo yodo al medio de cultivo. El tetrionato suprime el crecimiento de coliforme es y otras bacterias entéricas. Salmonella, Proteus y algunas otras especies de bacterias pueden reducir el tetrionato y no se inhiben.

Composición

Extracto de carne 4,3 g/L; digestión enzimática de caseína 8.6 g/L; NaCl bueno 2,6 g/L; Tiosulfato de sodio anhidro 30,5 g/l * 4,78 g/l Bilis de buey; verde brillante 0,0096 g/L; sal sódica de novobocina 0,04 g/L; agua 1000 ml/L; yoduro de potasio 5 g/L; yodo 4 g/L.

Preparación

Disolver 89,5 g en 1 L de agua purificada, calentar brevemente hasta ebullición. No esterilizar en autoclave. Después de enfriar, añadir 20 ml/L de solución de yodo y yoduro de potasio. Dispensar uniformemente cualquier precipitado. Dispensar en medio de manera aséptica en recipientes de capacidad adecuada para obtener las proporciones de la prueba, por ejemplo, cantidades de 10 ml en tubos. Evitar un mayor calentamiento. El medio preparado es turbio y verde con un sedimento blanco (carbonato de calcio). El valor de pH a 25 °C está en el rango de 7,8-8,2. Si el medio completo no se utiliza inmediatamente, se debe almacenar en un lugar oscuro a una temperatura entre +2 °C y +8 °C. El pH puede descender durante el almacenamiento debido a reacciones químicas. No utilice el medio completo si el pH cae por debajo de 7,0.

Procedimiento experimental y evaluación

De que el caldo se equilibre a temperatura ambiente si se almacenó una temperatura más baja. A partir del cultivo obtenido en caldo MKTTn se inoculan medios sólidos. Para algunos productos puede ser necesario incubar el medio durante 24 horas adicionales y luego seguir el mismo procedimiento de siembra descrito anteriormente. Está permitido almacenar el medio después de la incubación a una temperatura de +2 °C a +8 °C durante un máximo de 72h.(3)



CONVOCATORIA INNOVA-TIC 2024

MicroLab

Fichas Técnicas Medios de Cultivo

Agar MacCONKEY

Agar selectivo para el aislamiento de Salmonellas, Shigellas y bacterias coliformes, a partir de heces, orina, alimentos, aguas residuales, etc. según McCONKEY.

Modo de acción

Las sales biliares y el Violeta cristal inhiben considerablemente la flora gram-positiva. La lactosa, junto con el indicador de pH Rojo neutro, sirve para la comprobación de la degradación de dicho azúcar.

Composición (g/litro)

Peptona de gelatina 17,0; peptona de caseína 1,5; peptona de carne 1,5; cloruro sódico 5,0; lactosa 10,0; mezcla de sales biliares 1,5; Rojo neutro 0,03, Violeta cristal 0,001; Agar-agar 13,5.

Preparación y conservación Mac CONKEY (500 g / 5 kg)

Utilizable hasta la fecha de caducidad cuando se almacena en lugar seco y perfectamente cerrado entre +15 y +25° C. Proteger de la luz. Una vez abierto, el contenido del frasco puede utilizarse hasta la fecha de caducidad siempre que se almacene en lugar seco y perfectamente cerrado entre +15 y +25°C. Disolver 50 g/litro, esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C) y verter en placas. pH: 7,1 ± 0,2 a 25°C. (4)



CONVOCATORIA INNOVA-TIC 2024

MicroLab

Fichas Técnicas Medios de Cultivo

Agar Sangre

Agar sangre base mejorado para el cultivo de patógenos y otros microorganismos.

Composición (g/litro)

Sustrato nutritivo (extracto de levadura, peptona, hidrolizado de hígado) 23,0;
sodio cloruro 5,0; agar agar 12,0.

Preparación y conservación

Utilizable hasta la fecha de caducidad cuando el frasco se conserva en lugar seco y perfectamente cerrado entre +15 y +25°C. Proteger de la luz. Una vez abierto, el contenido del frasco puede utilizarse hasta la fecha de caducidad siempre que se conserve en lugar seco y perfectamente cerrado entre +15 y +25°C.

Disolver 40 g/litro en agua desmineralizada y autoclavar (15 min. a 121°C). Enfriar a 45 - 50°C y añadir entre un 5 y un 8 % de sangre desfibrinada estéril, teniendo cuidado de no formar burbujas (asegurar la adecuada aireación de la sangre). Mezclar suavemente y verter en placas. pH: $7,4 \pm 0,2$ a 25°C.

Empleo e interpretación Inocular las placas

Incubar bajo condiciones óptimas, usualmente 24 horas a 35 °C en condiciones aerobias (Cl. perfringens en anaerobiosis). Comprobar las reacciones de hemólisis. (5)



CONVOCATORIA INNOVA-TIC 2024

MicroLab

Fichas Técnicas Medios de Cultivo

Agar de patata y dextrosa

Este medio de cultivo cumple con las recomendaciones de la Asociación Americana de Salud Pública para alimentos y la Farmacopea de los Estados Unidos.

Modo de acción

La infusión de carbohidratos y papa promueve el crecimiento de levaduras y mohos, mientras que el bajo valor e pH inhibe parcialmente el crecimiento de la flora bacteriana acompañante. Si el medio se va a utilizar para recuentos de hongos, el pH debe ajustarse a aproximadamente 3,5. Los hongos crecen en este medio y desarrollan una morfología típica.

Preparación

Suspender 39g/l, autoclave (15 min a 121 °C). El valor del pH a 25°C está en el rango de 5,4-5,8. Si es necesario ajustar el pH a 3,5, añada aproximadamente 14 ml de una solución estéril de ácido tartárico al 10%.

Procedimiento experimental y evaluación

Inocular mediante el método de vertido en placa o esparciendo la muestra sobre la superficie del medio de cultivo.

Incubación: hasta 5 días a 28 °C en atmósfera aeróbica

El procedimiento experimental depende del propósito para el cual se utiliza el medio. El producto puede utilizarse para muestreo hasta la fecha de caducidad si se almacena en posición vertical protegido de la luz y debidamente sellado a entre +15 °C y +25 °C

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido se puede utilizar hasta la fecha de caducidad si se conserva en un lugar fresco y bien cerrado. (6)

