


	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha:</b> JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev. 02</b>
			<b>Hoja: 1 de 14</b>

# MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Puesto	QUÍMICO	JEFE DEL LABORATORIO	SUBDIRECTOR DE INVESTIGACIÓN
Firma			

	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha: JUN 15</b>
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev.02</b>
			<b>Hoja: 2 de 14</b>

## 1. Propósito

Definir y describir las técnicas para la preparación de medios de cultivo utilizados en el laboratorio de Infectología del CENIAQ del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, para el cultivo, aislamiento, pruebas de susceptibilidad y pruebas bioquímicas que se realizan en microorganismos de importancia clínica.

## 2. Alcance



El presente documento aplica y es de cumplimiento obligatorio para el personal del Laboratorio de Infectología

## 3. Responsabilidades

Jefe del Laboratorio de Infectología.- Vigilar y supervisar que el presente manual se cumpla en el área de preparación de medios de cultivo. Vigilar que se cuente con el personal, material y apoyo necesario para el cumplimiento de todos y cada uno de los procedimientos dentro del laboratorio de Infectología del Instituto Nacional de Rehabilitación.

Químicos y técnicos del área de preparación de medios de cultivo.- Aplicar la metodología aquí estipulada con carácter de obligatorio en la preparación de medios de cultivo

Químicos y Técnicos del Laboratorio de Infectología.- Apoyarse en todo el momento con el área de control de calidad de medios de cultivo, para la detección oportuna y solución de problemas que pudieran repercutir en el resultado.

	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha: JUN 15</b>
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev.02</b>
			<b>Hoja: 3 de 14</b>

#### 4. Políticas de operación y normas.

##### 4.1 Agar Sangre al 5%

Medio nutritivo no selectivo utilizado para cultivo y aislamiento de microorganismos no fastidiosos.




N°	Actividad
1	Pesar 40 g de Agar Soya Trypticaseína y disolver en 1000 mL de Agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
3	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
4	Una vez esterilizado, enfriar hasta 45 o 50 °C y agregar 5% de sangre estéril.
5	Agitar suavemente el matraz para evitar la formación de burbujas, y vaciar 20 mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
6	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.

##### 4.2 Agar MacConkey

Medio selectivo y diferencial, utilizado para cultivo y aislamiento de microorganismos Gram-negativos.

N°	Actividad
1	Pesar 50 g de Agar MacConkey y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente, y hervir durante 1 minuto.
3	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
4	Una vez esterilizado, enfriar hasta 45 o 50°C, y vaciar 20 mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
5	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.

##### 4.3 Agar Salmonella y Shigella

 	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha:</b> JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev.02</b>
			<b>Hoja: 4 de 14</b>

Medio selectivo y diferencial para cultivo y aislamiento de *Shigella* y *Salmonella*.

N°	Actividad
1	Pesar 60 g de Agar Salmonella Shigella y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente, y hervir durante 1 minuto.
3	No esterilizar en autoclave
4	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.




#### 4.4 Agar Gelosa Chocolate

Medio nutritivo no selectivo, utilizado para cultivo y aislamiento de microorganismos fastidiosos y de lento crecimiento, especialmente distintas especies de *Neisseria*. y *Haemophilus*.

N°	Actividad
1	Pesar 51 g de Agar Base Chocolate y disolver en 700 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente, y hervir durante 1 minuto.
3	En otro matraz disolver perfectamente sin calentar 6 g de hemoglobina deshidratada en 300 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
4	Esterilizar las dos preparaciones a 121 °C por 15 minutos.
5	Una vez esterilizado, enfriar hasta 45 o 50°C, y mezclar las dos preparaciones
6	Agregar 10 mL de de isovitalex reconstituido.
7	Agitar suavemente el matraz para evitar la formación de burbujas y vaciar 20mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
8	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar

#### 4.5 Agar Brucella

Medio selectivo utilizado para cultivo y aislamiento de *Brucella*

 	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha:</b> JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev.02</b>
			<b>Hoja: 5 de 14</b>

N°	Actividad
1	Pesar 43 g de Agar Brucella y disolver en 1000 mL de Agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
3	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
4	Una vez esterilizado, enfriar hasta 45 o 50 °C y agregar 5% de sangre estéril.
5	Agitar suavemente el matraz para evitar la formación de burbujas, y vaciar 20 mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
6	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.

#### 4.6 Agar Thayer Martin




Medio selectivo para cultivo y aislamiento de *Neisseria gonorrhoea* y *Neisseria meningitidis*.

N°	Actividad
1	Pesar 51 g de Agar Base Chocolate y disolver en 700 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
3	En otro matraz disolver perfectamente sin calentar 6 g de hemoglobina deshidratada en 300 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
4	Esterilizar las dos preparaciones a 121 °C por 15 minutos.
5	Una vez esterilizado, enfriar hasta 45 o 50°C ,y mezclar las dos preparaciones
6	Agregar 10mL del inhibidor VCN reconstituido.
7	Agitar suavemente el matraz para evitar la formación de burbujas, y vaciar 20mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
8	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.

#### 4.7 Agar Mueller Hinton

Medio utilizado para realizar pruebas de susceptibilidad con microorganismos de rápido crecimiento por el método de Kirby-Bauer.

N°	Actividad
----	-----------

 	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha: JUN 15</b>
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev.02</b>
			<b>Hoja: 6 de 14</b>

<b>1</b>	Pesar 38 g de Agar Müeller Hinton y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
<b>3</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>4</b>	Una vez esterilizado, enfriar hasta 45 o 50°C, y vaciar 20 mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
<b>5</b>	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.

#### 4.8 Agar Müeller Hinton con Sangre al 5%



Medio utilizado para realizar pruebas de susceptibilidad con microorganismos fastidiosos y de lento crecimiento por el método de Kirby-Bauer.

N°	Actividad
<b>1</b>	Pesar 38 g de Agar Müeller Hinton y disolver en 1000mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
<b>3</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>4</b>	Una vez esterilizado enfriar hasta 45 o 50°C, y agregar 5% de sangre estéril.
<b>5</b>	Agitar suavemente el matraz para evitar la formación de burbujas, y vaciar 20 mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
<b>6</b>	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.

#### 4.9 Agar Feniletalcohol con sangre al 5%

Medio selectivo utilizado para cultivo y aislamiento de microorganismos Gram-positivos

N°	Actividad
<b>1</b>	Pesar 42.5 g de Agar Feniletalcohol y disolver en 1000mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
<b>3</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>4</b>	Una vez esterilizado enfriar hasta 45 o 50°C y agregar 5% de sangre estéril.
<b>5</b>	Agitar suavemente el matraz para evitar la formación de burbujas, y vaciar 20 mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
<b>6</b>	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.

	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		Código: PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		Fecha: JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		Rev.02
			Hoja: 7 de 14

#### 4.10 Agar Dextrosa Sabouraud en placa

Medio nutritivo utilizado principalmente para el cultivo de hongos patógenos y no patógenos.

N°	Actividad
1	Pesar 65 g de Agar Dextrosa Sabouraud y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
3	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
4	Una vez esterilizado enfriar hasta 45 o 50°C, y vaciar 20mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
5	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.

#### 4.11 Agar Dextrosa Sabouraud en pico de flauta




Medio nutritivo utilizado principalmente para el cultivo de hongos patógenos y no patógenos.

N°	Actividad
1	Pesar 65 g de Agar Dextrosa Sabouraud y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
3	Colocar 7 mL en tubos de 16x150mm y colocar un tapón con gasa.
4	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
5	Inmediatamente después de esterilizar, inclinar los tubos aproximadamente a un ángulo de 30 grados.
6	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.12 Agar Dextrosa Sabouraud con antibiótico

Medio selectivo utilizado para el aislamiento de hongos patógenos y no patógenos.

N°	Actividad
1	Pesar 65 g de Agar Dextrosa Sabouraud y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere preparar menor volumen, realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.

 	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		Código: PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		Fecha: JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		Rev.02
			Hoja: 8 de 14

<b>3</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>4</b>	Una vez esterilizado enfriar hasta 45 o 50°C, y agregar 1 ampolleta de Cefotaxima y 1 ampolleta de Ofloxacino.
<b>5</b>	Agitar suavemente el matraz para evitar la formación de burbujas, y vaciar 20 mL aproximadamente del medio en cada placa estéril.
<b>6</b>	Dejar gelificar el medio e invertir las placas posteriormente, para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio, etiquetar y almacenar.

#### 4.13 Medio para prueba de Descarboxilasas, LOA

Medio utilizado para medir la capacidad de los microorganismos de descarboxilar algunos aminoácidos.




N°	Actividad
<b>1</b>	Pesar 10.5g de la Base de Mueller Descarboxilasa y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada sin sobrecalentar y agregar 10g de L-LISINA.
<b>2</b>	Pesar 10.5g de la base de Mueller Descarboxilasa y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada sin sobrecalentar y agregar 10g de L-ORNITINA.
<b>3</b>	Pesar 10.5g de la base de Mueller Descarboxilasa y disolver en 100 mL de agua bidestilada o desionizada sin sobrecalentar y agregar 10g de L-ARGININA.
<b>4</b>	Ajustar el <b>pH a 7.0</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N según se requiera.
<b>5</b>	Distribuir 3.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca
<b>6</b>	Añadir 1.0mL de aceite mineral y tapar.
<b>7</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>8</b>	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.14 Caldo Tioglicolato

Caldo nutritivo utilizado para cultivo y aislamiento de microorganismos anaerobios, aerobios y microaerofilicos.

N°	Actividad
<b>1</b>	Pesar 29.5 g del medio Tioglicolato y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.



 	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha:</b> JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev.02</b>
			<b>Hoja:</b> 9 de 14

<b>3</b>	Dejar enfriar ligeramente y ajustar <b>pH a 7.1± 0.2.</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
<b>4</b>	Distribuir 7.0 mL del caldo en tubos de vidrio con tapón de rosca.
<b>5</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>6</b>	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.15 Agar Hierro y Triple Azúcar

Medio utilizado para determinar la capacidad de los microorganismos de utilizar un hidrato de carbono específico, con producción de gas o sin ella, junto con la determinación de la producción de sulfhídrico.

<b>N°</b>	<b>Actividad</b>
<b>1</b>	Pesar 65 g del Agar hierro y triple azúcar y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
<b>3</b>	Dejar enfriar ligeramente y ajustar <b>pH a 7.3± 0.2.</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
<b>4</b>	Distribuir 4.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca.
<b>5</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>6</b>	Inmediatamente después de esterilizar, inclinar los tubos aproximadamente a un ángulo de 30 grados.
<b>7</b>	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.




#### 4.16 Agar Citrato de Simmons

Medio utilizado para determinar la capacidad de los microorganismos de utilizar el citrato como única fuente de carbono.

<b>N°</b>	<b>Actividad</b>
<b>1</b>	Pesar 24.2 g de Agar citrato de Simmons y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
<b>3</b>	Dejar enfriar ligeramente y ajustar <b>pH a 6.5</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
<b>4</b>	Distribuir 4.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca.
<b>5</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>6</b>	Inmediatamente después de esterilizar, inclinar los tubos aproximadamente a un ángulo de 30 grados.
<b>7</b>	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.17 Agar MIO

Medio utilizado para determinar la movilidad, producción de indol, capacidad de descarboxilar ornitina por los microorganismos. Sirve para la diferenciación de miembros de la familia *Enterobacteriaceae*

 	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		Código: PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		Fecha: JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		Rev.02
			Hoja: 10 de 14

N°	Actividad
1	Pesar 31 g del Medio MIO y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
3	Dejar enfriar ligeramente y ajustar <b>pH a 7.0</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
4	Distribuir 4.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca.
5	Agregar 1 mL de glicerol o vaselina líquida.
6	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
7	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.18 Medio Rojo de Metilo y Voges Proskauer (MR-VP)




Medio utilizado para ver la producción de ácidos, como resultado del metabolismo de la glucosa por los microorganismos (Rojo de Metilo) o producción de Acetoína (Voges Proskauer)

N°	Actividad
1	Pesar 17 g del Medio MR-VP y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
2	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
3	Dejar enfriar ligeramente y ajustar <b>pH a 7</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
4	Distribuir 4.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca.
5	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
6	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.19 Caldo Urea

Caldo utilizado para determinar la capacidad de los microorganismos de hidrolizar la Urea mediante la producción de Ureasa.

N°	Actividad
1	Pesar 38.7 g de Caldo Urea y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
2	Mezclar bien el medio hasta disolver.
3	Ajustar <b>pH a 7</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
4	Esterilizar por filtración.

 	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha:</b> JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev.02</b>
			<b>Hoja:</b> 11 de 14

<b>5</b>	Distribuir 4.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca.
<b>6</b>	Etiquetar y almacenar.

#### 4.20 Agar Bilis Esculina

Medio selectivo y diferencial utilizado, para cultivar y aislar microorganismos capaces de crecer en concentraciones altas de sales biliares, así como la capacidad de hidrolizar la Esculina.

N°	Actividad
<b>1</b>	Pesar 43.5 g de Agar Bilis Esculina y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
<b>3</b>	Dejar enfriar ligeramente y ajustar <b>pH a 6.9± 0.2.</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
<b>4</b>	Distribuir 4.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca.
<b>5</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>6</b>	Inmediatamente después de esterilizar, inclinar los tubos aproximadamente a un ángulo de 30 grados.
<b>7</b>	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.21 Medio Basal OF




Medio utilizado, para medir la capacidad de algunos microorganismos de oxidar o fermentar hidratos de carbono.

N°	Actividad
<b>1</b>	Pesar 9.4 g de Medio Basal OF y disolver en 1000mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Agregar 10 g del carbohidrato de elección.
<b>3</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
<b>4</b>	Dejar enfriar ligeramente y ajustar <b>pH a 6.9± 0.2.</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
<b>5</b>	Distribuir 3.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca.
<b>6</b>	A la mitad del total de los tubos agregarles 1mL de aceite mineral.
<b>5</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>6</b>	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.22 Caldo Nitratos

Caldo utilizado para medir la capacidad de algunos microorganismos de reducir nitratos a nitritos.

N°	Actividad
<b>1</b>	Pesar 9 g de Caldo Nitratos y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Mezclar bien el medio hasta disolver.

 	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha:</b> JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev.02</b>
			<b>Hoja:</b> 12 de 14

<b>3</b>	Ajustar <b>pH a 7</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
<b>4</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>5</b>	Distribuir 4.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca.
<b>6</b>	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.23 Agar SIM



Medio utilizado para determinar la movilidad, producción de indol y sulfhídrico de algunos microorganismos.

<b>N°</b>	<b>Actividad</b>
<b>1</b>	Pesar 30 g de Agar SIM y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
<b>3</b>	Ajustar <b>pH a 7</b> con HCl 0.1N ó NaOH 0.1N
<b>4</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>5</b>	Distribuir 4.0 mL del medio en tubos de vidrio con tapón de rosca.
<b>6</b>	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

#### 4.24 Medio de transporte Stuart

Medio utilizado para el transporte de muestras para el cultivo de gonococos y otros microorganismos,

<b>N°</b>	<b>Actividad</b>
<b>1</b>	Pesar 30 g de Agar SIM y disolver en 1000 mL de agua bidestilada o desionizada, si se requiere menor volumen realizar los cálculos pertinentes.
<b>2</b>	Agregar 0.5% de Agar Bacteriológico
<b>3</b>	Calentar la mezcla agitando constantemente y hervir durante 1 minuto.
<b>4</b>	Distribuir 10 mL del medio en frascos de vidrio con tapón de rosca
<b>5</b>	Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.
<b>6</b>	Dejar enfriar, etiquetar y almacenar.

	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		Código: PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		Fecha: JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		Rev.02
			Hoja: 13 de 14

### 5. Descripción del procedimiento:

N°	RESPONSABLE	ACTIVIDAD
1	Medios de cultivo	Preparar los medios de cultivo.
2	Mesa de MIC's	Control de calidad de medios de cultivos y pruebas bioquímicas.

### 6. Documentos de referencia:

DOCUMENTO	CODIGO



REGISTRO	TIEMPO DE CONSERVACIÓN	RESPONSABLE DE CONSERVACIÓN	CODIGO

### 7. Glosario

**Medio nutritivo:** Son aquellos que se utilizan para cultivo y aislamiento de bacterias no fastidiosas.

**Medio Selectivo:** Son aquellos que favorecen el crecimiento de ciertas bacterias contenidas en una población polimicrobiana.

**Medio diferencial:** Son aquellos ponen en evidencia características bioquímicas que ayudan a diferenciar género o especie

	<b>PROCEDIMIENTOS</b>		<b>Código:</b> PR-SIB-13
	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN</b>		<b>Fecha:</b> JUN 15
	<b>MANUAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</b>		<b>Rev.02</b>
			<b>Hoja:</b> 14 de 14

## 8. Control de cambios

Revisión	Descripción del cambio	Fecha
00	Incorporación al sistema de Gestión de la Calidad	Agosto 2012
01	Cambio de formato	Julio 2014
02	Actualización de Imagen Institucional	JUN 15