

COMO ABORDAR Y RESOLVER ASPECTOS PRÁCTICOS DE MICROBIOLOGÍA

5. CÁLCULO DEL TAMAÑO DEL INÓCULO



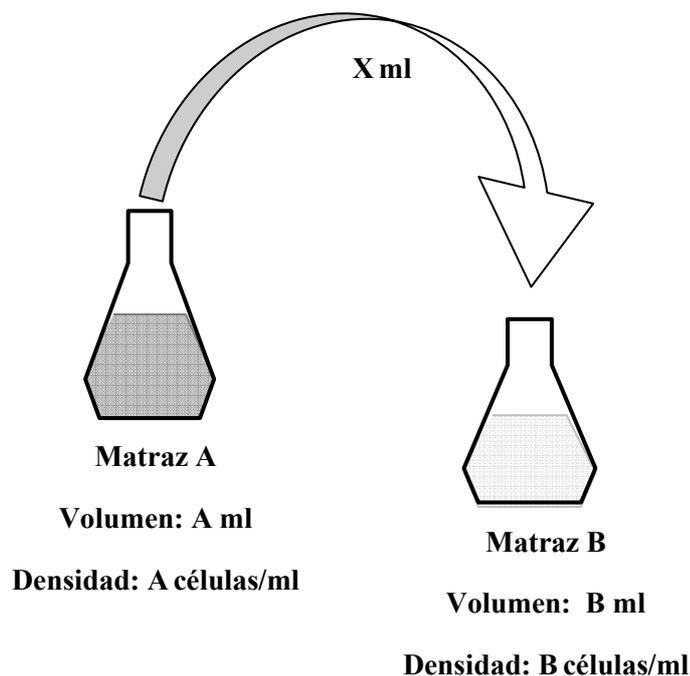
Inés Arana, Maite Orruño e Isabel Barcina

Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología
Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea

5. CÁLCULO DEL TAMAÑO DEL INÓCULO

En muchas ocasiones es preciso conocer la densidad celular de la que partimos; por ejemplo, si deseamos establecer las características de crecimiento de un microorganismo o producir industrialmente un determinado compuesto.

Esta situación queda reflejada en el esquema.



A partir de un cultivo A de densidad A células/ml, transferimos X ml de manera que el cultivo B tenga una densidad B células/ml. Todos los problemas, con mayor o menor complejidad aparente, se reducen siempre a este esquema; deseamos conocer la densidad de A, la de B o el volumen inoculado.

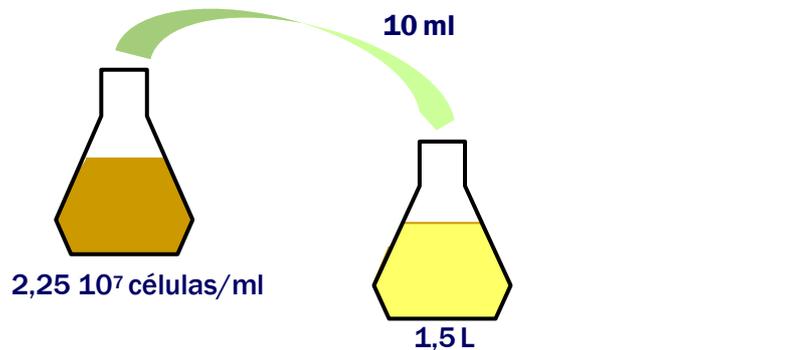
A la hora de resolver estos problemas es importante tener en cuenta que si el matraz B tiene un volumen de 100 ml y una densidad de 10^6 células/ml, en ese matraz B habrá en total 10^8 células (densidad x volumen). Esas 10^8 células se han transferido en los X ml. Ahora falta relacionarlos con la densidad del matraz A.

Recordar este esquema nos permite resolver problemas como los que siguientes:

- 5.1.** A partir de un cultivo con una densidad bacteriana de $2,25 \cdot 10^7$ células/ml inoculamos un matraz que contiene 1,5 litros de medio de cultivo estéril. El volumen transferido ha sido 10 ml. ¿Cual será la densidad bacteriana en el matraz?
- 5.2.** Tenemos un matraz (B) que contiene 250 ml de medio líquido. La densidad microbiana en dicho matraz B es de $4,5 \cdot 10^6$ microorganismos/ml. Este matraz B se inoculó con 500 μ l de una suspensión celular A. ¿Cual era la densidad microbiana de la suspensión celular A?
- 5.3.** A partir de un cultivo con una densidad bacteriana $3,2 \cdot 10^9$ células/ml deseamos inocular 2 litros de medio de cultivo líquido estéril, de manera que la densidad inicial en este segundo matraz sea de $4,2 \cdot 10^4$ células/ml. ¿Qué volumen del cultivo inicial utilizaremos como inóculo?
- 5.4.** Hemos preparado una suspensión celular que contiene $8,9 \cdot 10^{11}$ células/ml. Inoculamos un matraz que contiene 200 ml de medio líquido de manera que la densidad celular dentro del matraz sea de $1,7 \cdot 10^4$ células/ml. Si el volumen transferido fueron 100 μ l, ¿Qué diluciones hemos tenido que preparar?
- 5.5.** El matraz A contiene un cultivo bacteriano (bacilo) con una densidad de $2 \cdot 10^9$ bacterias/ml. A partir de este matraz A inoculamos el matraz B que contiene 250 ml de medio de cultivo, de manera que la biomasa en B sea de 1,8 μ gC/ml. ¿Qué volumen debemos transferir desde el matraz A al B para que se cumpla esta premisa? ($L = 1,5 \mu\text{m}$, $A = 0,5 \mu\text{m}$ y $F = 126 \cdot 10^{-10} \text{ mgC}/\mu\text{m}^3$).

PROPUESTAS DE RESOLUCIÓN

5.1. ¿Densidad en el matraz?



10 ml

2,25 10^7 células/ml

1,5 L

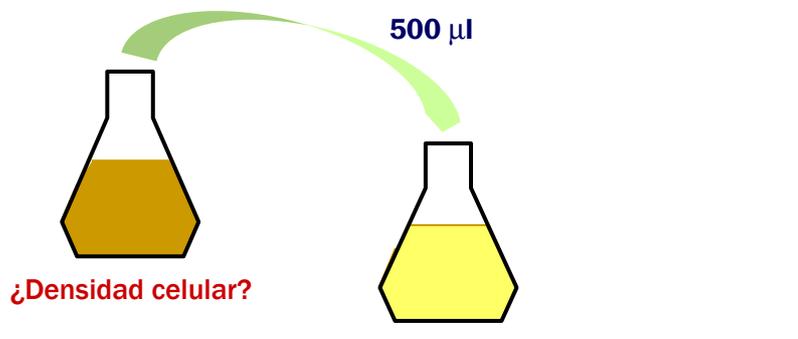
¿Densidad celular?

2,25 10^7 células \longrightarrow 1 ml
A células \longrightarrow 10 ml

A = 2,25 10^8 células se han transferido

$$\frac{2,25 \cdot 10^8 \text{ células}}{1500 \text{ ml}} = 1,5 \cdot 10^5 \text{ células/ml}$$

5.2. ¿Densidad en la suspensión celular A?



500 μ l

¿Densidad celular?

250 ml

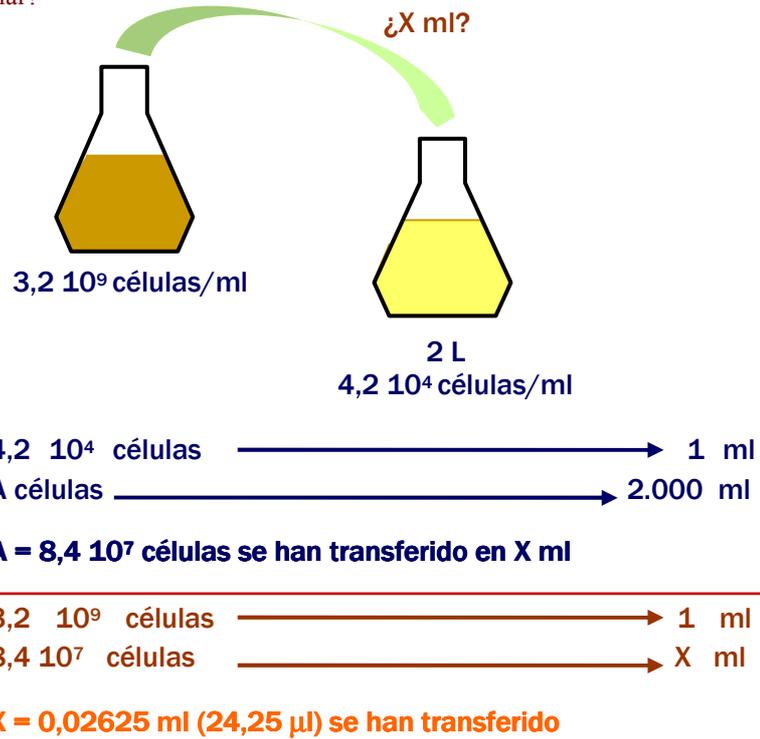
4,5 10^6 células/ml

4,5 10^6 células \longrightarrow 1 ml
A células \longrightarrow 250 ml

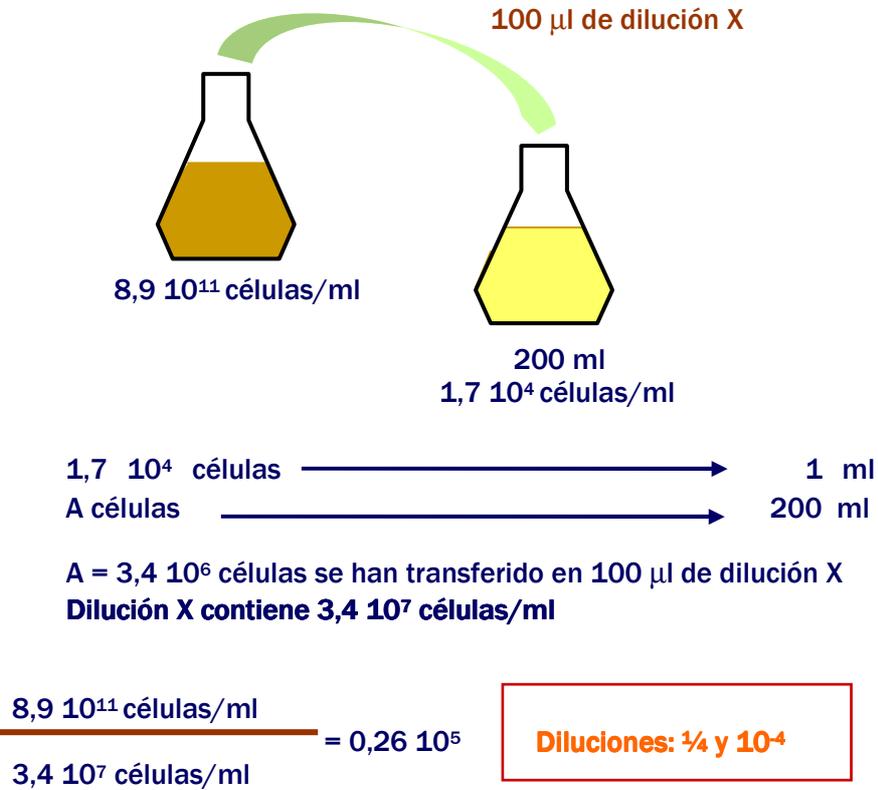
A = 1,125 10^9 células se han transferido en 500 μ l

$$\frac{1,125 \cdot 10^9 \text{ células}}{0,5 \text{ ml}} = 2,25 \cdot 10^9 \text{ células/ml}$$

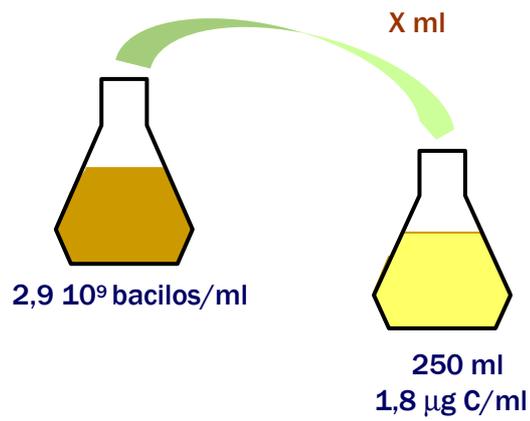
5.3. ¿Volumen a inocular?



5.4. ¿Dilución?



5.5. ¿Dilución?



$$\text{Biovolumen} = A^2 \pi/4 (L - A/3) = 0,2618 \mu\text{m}^3/\text{célula}$$

$$1,8 \cdot 10^{-3} \text{ mg C/ml} = N \text{ células/ml} \times 0,2618 \mu\text{m}^3/\text{célula} \times 126 \cdot 10^{-10} \text{ mg C}/\mu\text{m}^3$$

$$5,5 \cdot 10^5 \text{ células/ml}$$

5,5 10^5 células	→	1 ml
A células	→	250 ml

A = 1,36 10^8 células se han transferido en X ml

$$\frac{2,9 \cdot 10^9 \text{ células/ml}}{1,36 \cdot 10^8 \text{ células/ml}} = 0,21 \cdot 10^2$$

1 ml de diluciones: 1/5 y 10⁻²