

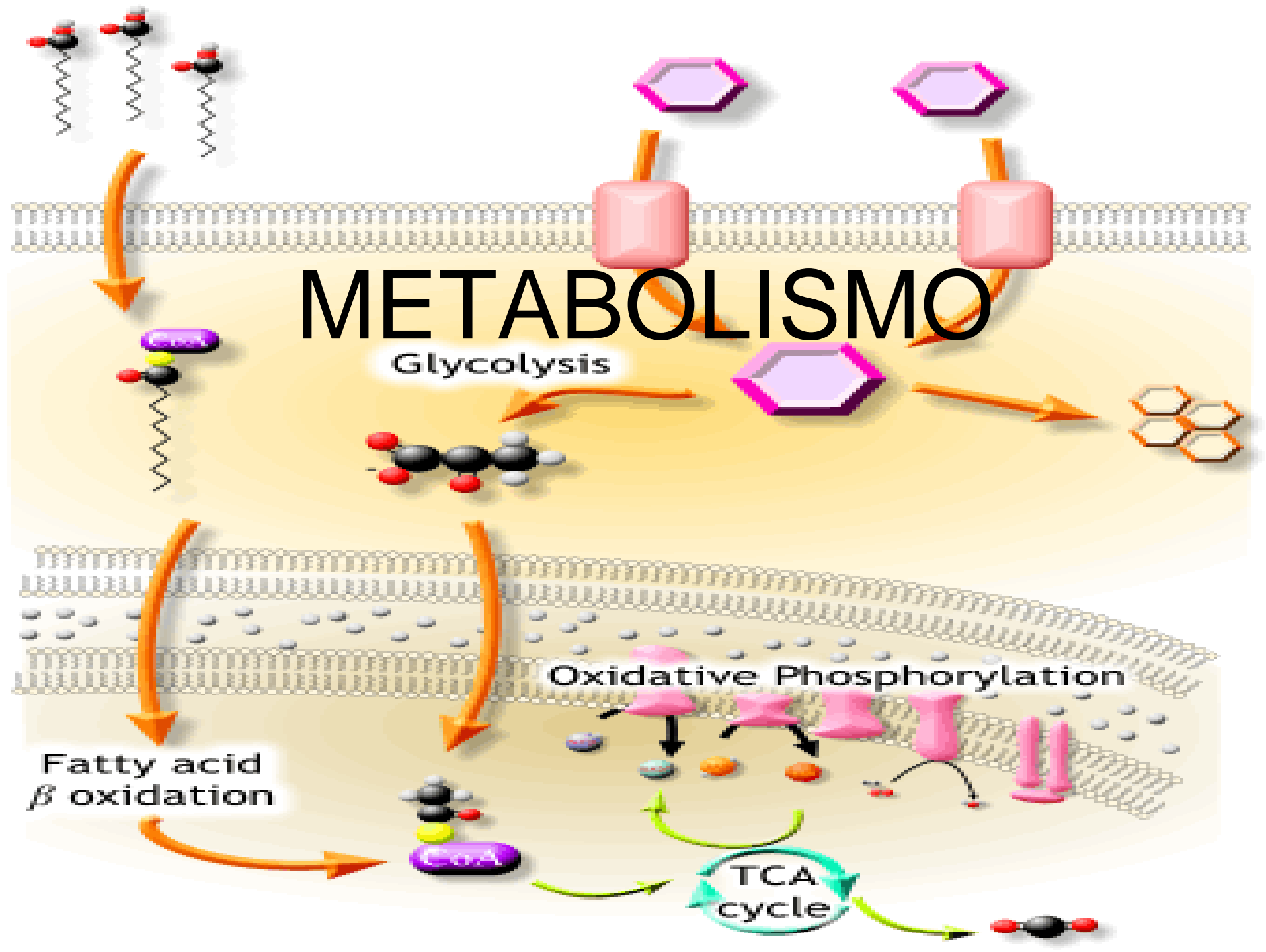
METABOLISMO

Glycolysis

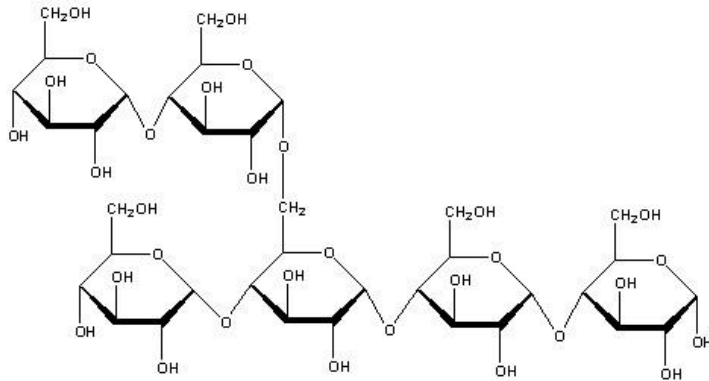
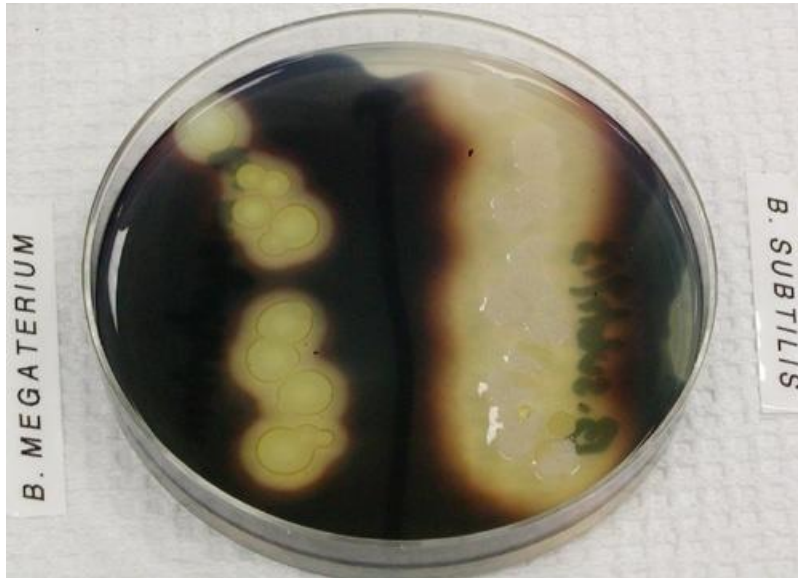
Oxidative Phosphorylation

Fatty acid
 β oxidation

TCA
cycle



Hidrólisis de almidón



- Medio agar de almidón
- Sustrato: **Almidón**
- Enzimas: **amilasas (α y β amilasas)**
- Producto: **malto triosas, maltosa, glucosa, dextrinas, etc.**
- Revelador: **Lugol**

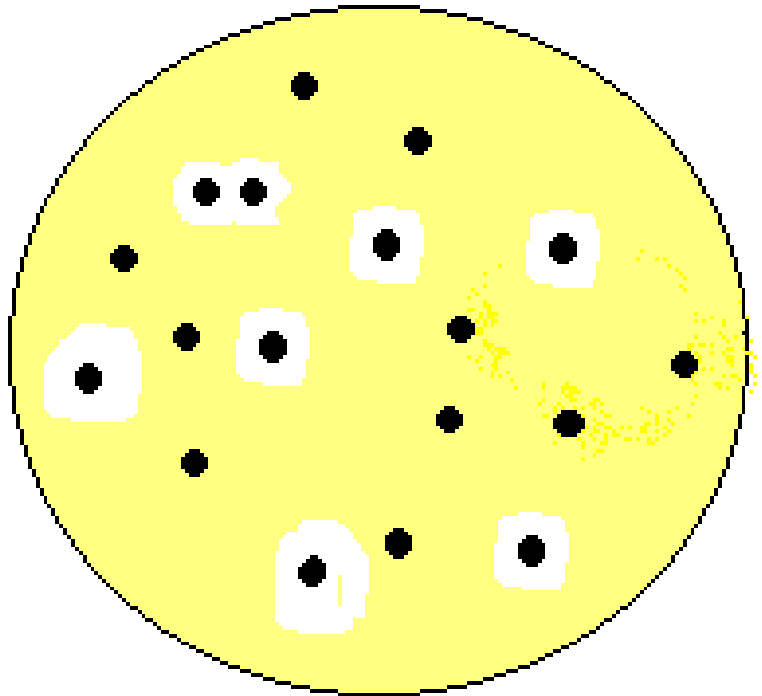
Hidrólisis de la caseína

Medio de cultivo: Leche descremada

- Sustrato: **Caseína**
- Enzima: **caseinasa**
- Producto: **Peptonas, peptidos, aminoácidos.**



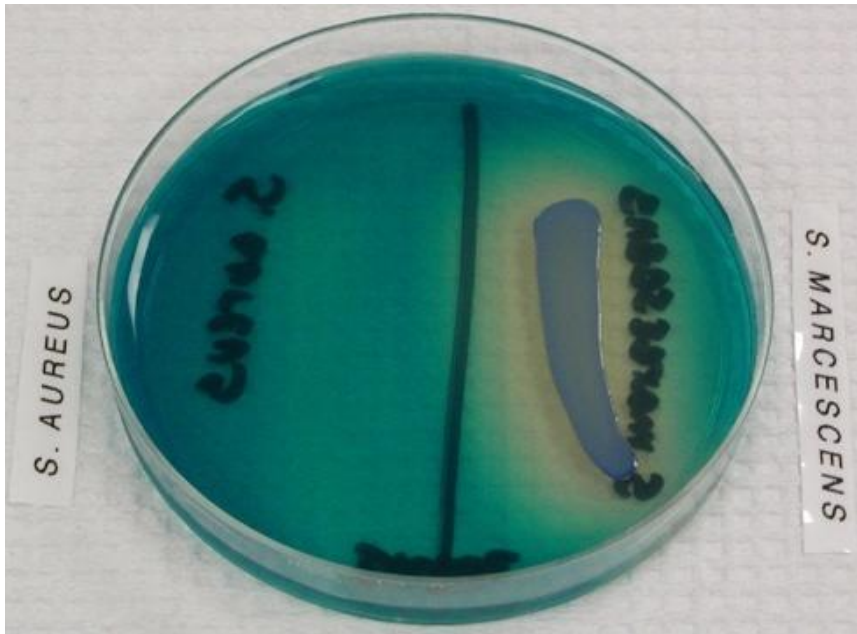
Hidrólisis de Lecitinasas



Medio de cultivo: Baird
Parker

- Sustrato: **Lecitina**
- Enzima **Lecitinasas**
- Productos: **ácidos grasos**

Hidrólisis de DNA



Medio de cultivo: Agar
DNA

- Sustrato: **DNA**
- Enzima: **DNAse**
- Productos:
**nucleótidos y
nucleosidos**

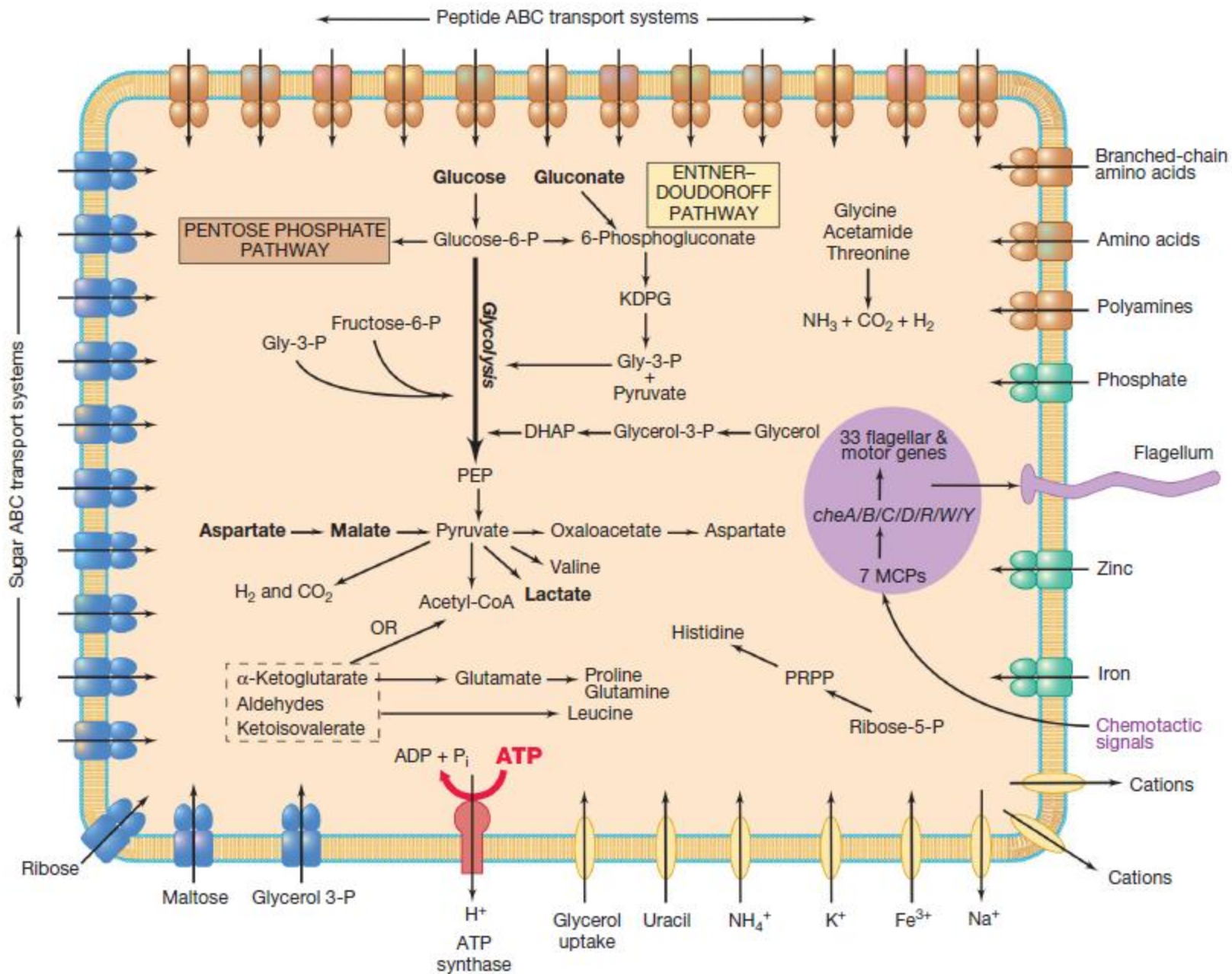
Revelador: **Verde de
metilo, HCl**

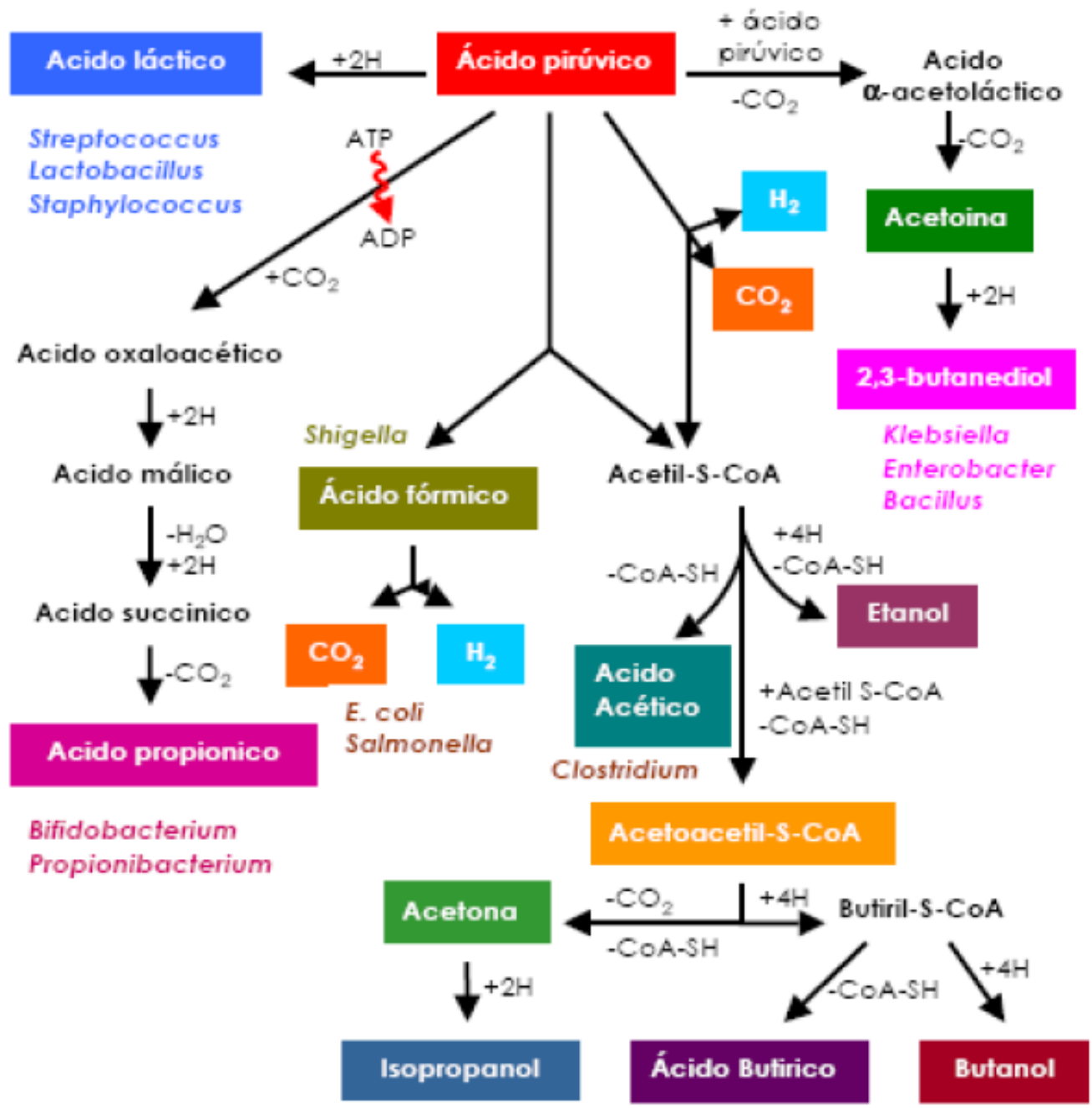
Hidrólisis de sangre

Medio de cultivo: Agar
Sangre

- Sustrato: **hemoglobina**
- Enzima: **Hemolisina**
- Productos: **biliverdina**
(degradación parcial)
o **bilirrubina**
(degradación total)







Elaboró Prof. Ruth Martín F.

Prueba de Rojo de metilo

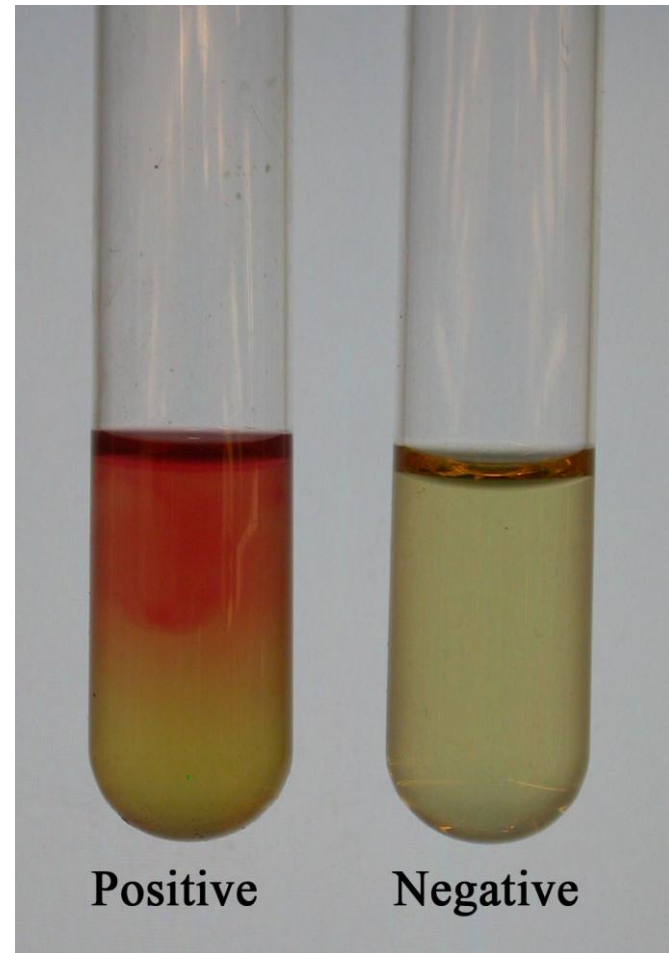
- Medio de cultivo: RM-VP
- Sustrato **Glucosa**
- Glucólisis → ácido pirúvico → ácidos mixtos
- Producto **ácidos mixtos** (< pH 4.4)
- Revelador: **Rojo de metilo**



Prueba de Voges Proskauer

Medio de cultivo: RM-VP

- Sustrato: **Glucosa**
- **Ac. Pirúvico** → fermentación butilén glicólica
- Productos: **acetoina o acetil-metil-carbinol y butilenglicol** pH 6.2
- Reveladores: **alfa-naftol y KOH 40 %**



Prueba de Kligler

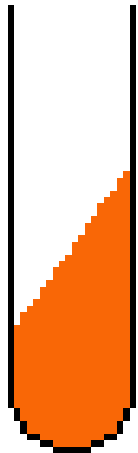
Medio de cultivo

- Glucosa 1.0 g
- Lactosa 10.0g
- Peptona especial
- Rojo de fenol
- Citrato férrico de amonio
- Tiosulfato de sodio
- Agar
- pH 7.4 ± 0.2

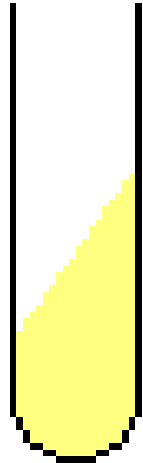
- Fermentación de glucosa
- fermentación de lactosa
- Producción de gas
- Detección de ácido sulfhídrico



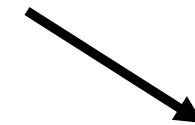
Agar hierro
de kligler



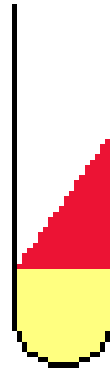
6 h



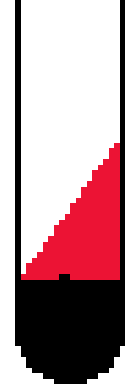
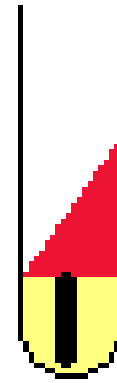
24 h



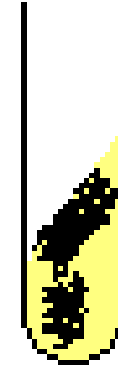
Glucosa (+)



Glucosa y H₂S (+)



Glucosa y
Lactosa +



Glucosa,
Lactosa y
H₂S+



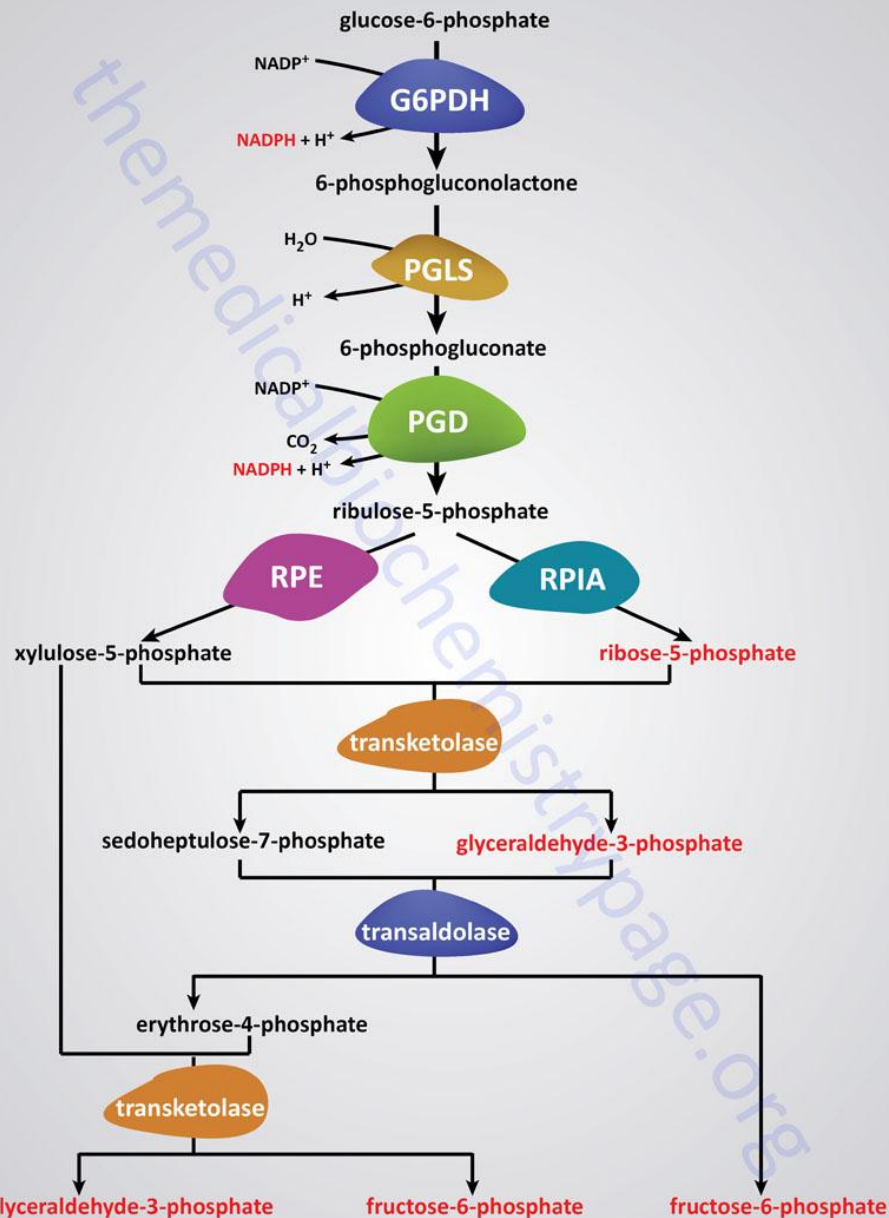
Alternativas a la glicólisis

Muchas bacterias tienen además de la vía glucolítica, vías alternas para degradar la glucosa, una de las más comunes es:

- La pentosa fosfato (hexosa monofosfato)

Degrada azúcares de 5 carbonos y glucosa

La ganancia neta es de **1 molécula de ATP** por cada molécula de glucosa oxidada. Además genera NADPH



Produce intermediarios que se emplean en:

1.- Síntesis de ácidos nucleicos (ribosa 5 fosfato)

2.- Síntesis de glucosa a partir de CO_2 en la fotosíntesis y

3.- Síntesis de ciertos aminoácidos (histidina), Serina, Glicina y Cisteina

Caldo Rojo de fenol más carbohidratos

Medio base rojo de fenol.

- Sustrato: **carbohidrato**
- Enzima: **enzimas de la glucólisis**
- Indicador pH: **rojo de fenol**
- **pH ácido**
- **pH neutro**
- **pH alcalino**



Respiración

Se define como un proceso que genera energía en el cual, **las moléculas son oxidadas** y el aceptor final de electrones es una **molécula inorgánica**.

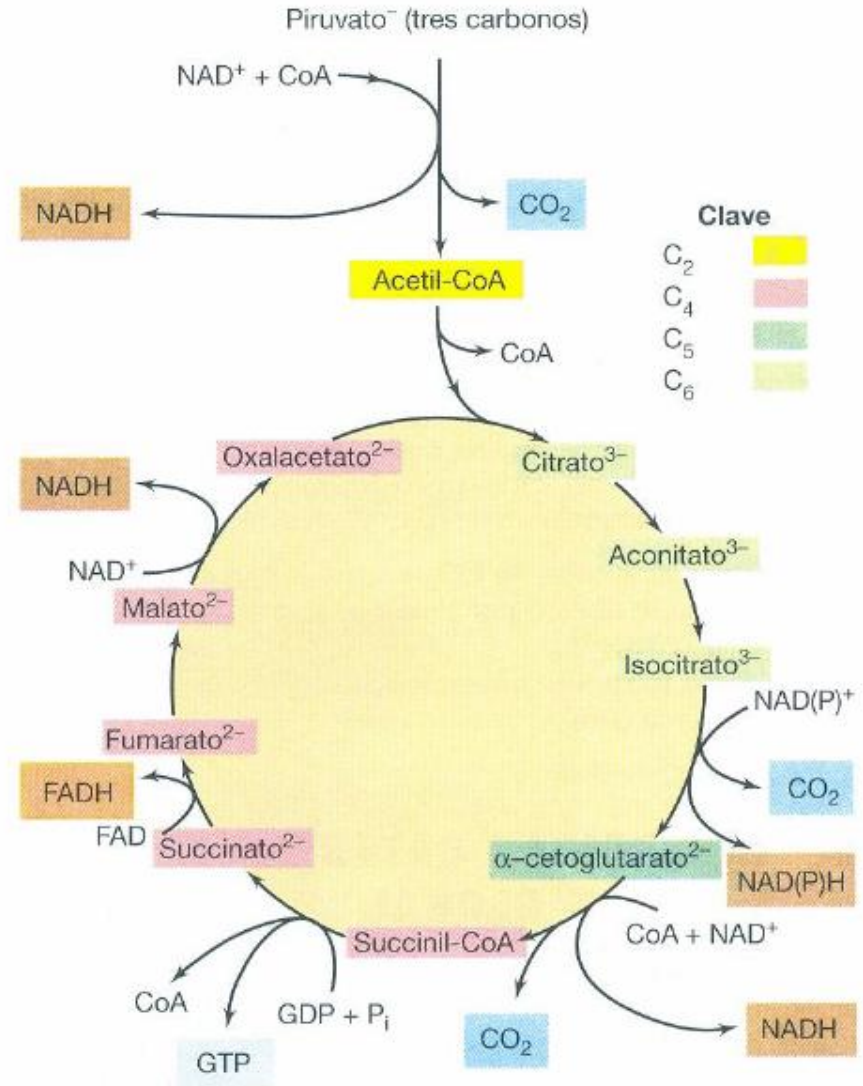
Puede ser:

- Aerobia (O_2 aceptor final de **e-**)
- Anaerobia aceptor final diferente al oxígeno (NO_3 , SO_4 o CO_2) en raras ocasiones molécula orgánica

Respiración aerobia

Ciclo de Krebs También llamado TCA o ciclo del ácido cítrico.

Citrato
Malonato
Fumarato
Succinato



Utilización del citrato

Medio de cultivo: Citrato de Simmons

Sustrato: Citrato de sodio

Enzimas: Citrato permeasa, ciclo de krebs.

Productos: $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_2$

Indicador de pH

pH ↓ Azul de bromotimol

pH Azul de bromotimol

pH ↑ Azul de bromotimol



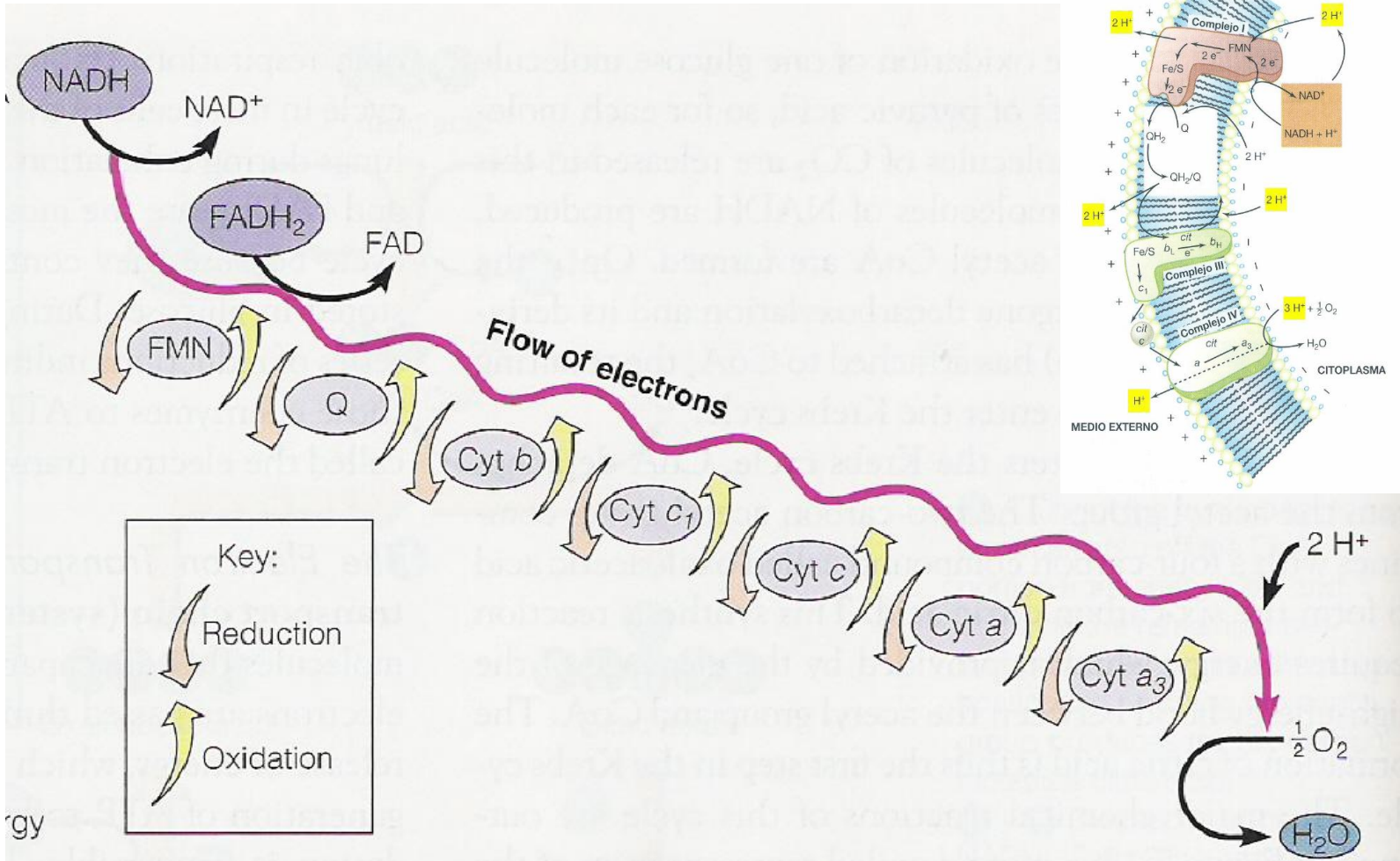
Resultado positivo

Resultado negativo

Cadena transportadora de electrones (c.t.e)

- Los donadores de electrones inmediatos para la c.t.e son el FADH_2 y el $\text{NADH}+\text{H}^+$, los cuales se generan en la glucólisis o en el ciclo de Krebs
- Por cada NADH oxidado se generan 3 ATP
- Por cada FADH oxidado se generan 2 ATP

Cadena transportadora de electrones



FMN= Flavin mononucleotido
aceptan H⁺ y ceden (e⁻)

Q= quinolonas no
proteicas (e⁻)

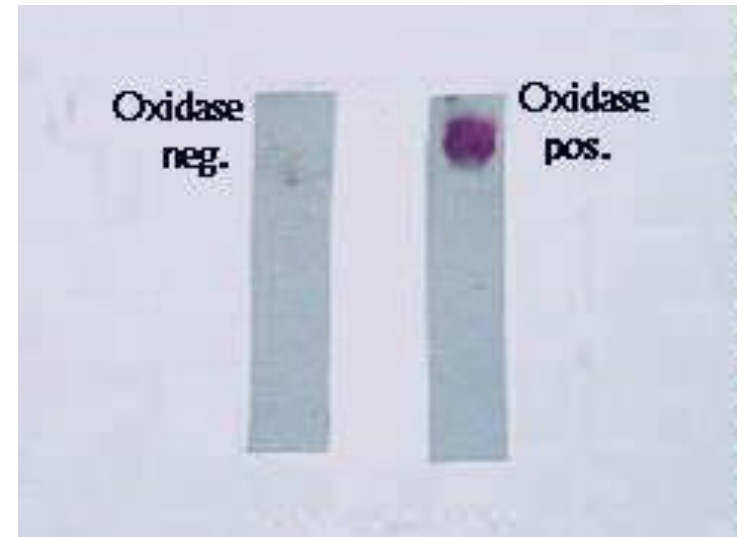
Cit= citocromos
(Hemo Fe) (e⁻)

Prueba de la oxidasa

Sustrato **N,N,N,N-tetrametil-p-fenilendiamina**

Enzima: **citocromo oxidasa c**

Producto: **N,N,N,N-tetrametil-p-fenilendiamina oxidado**



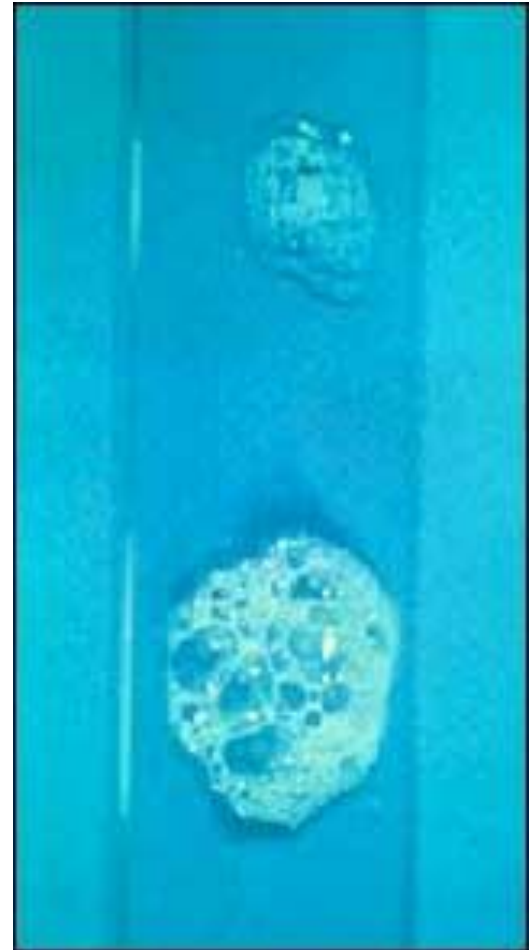
METABOLISMO MICROBIANO

Pruebas bioquímicas



Prueba de catalasa

- Sustrato: H_2O_2
- Enzima: catalasa
- Producto: $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \uparrow$



Prueba de oxidación y fermentación

- Objetivo

Conocer la vía metabólica que utiliza el microorganismo para la degradación de carbohidratos.

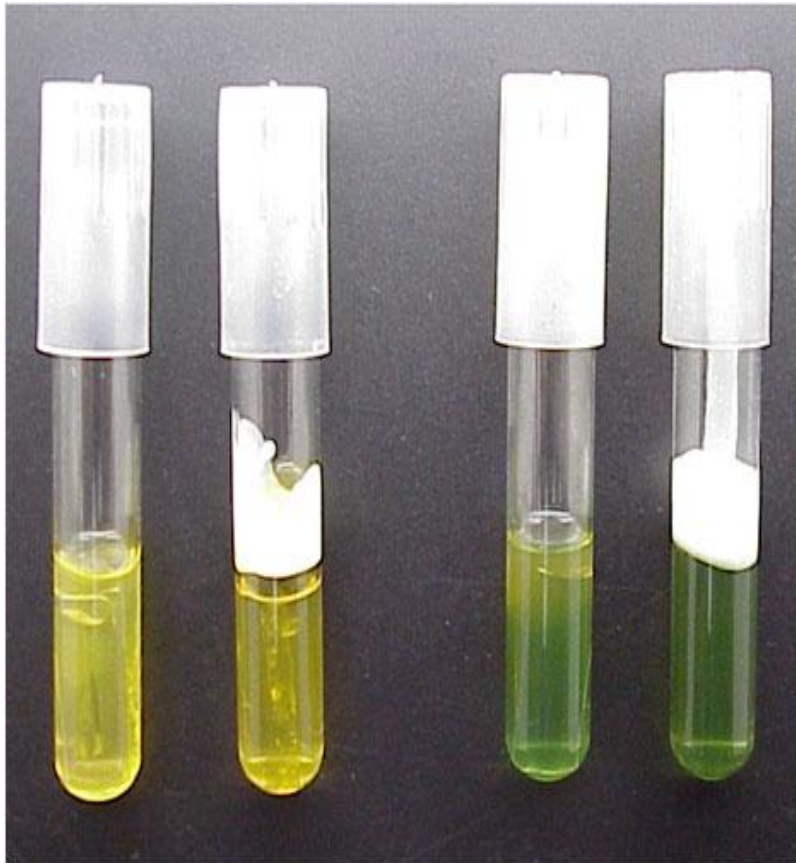


Medio O/F

- Triptona
- Cloruro de sodio 5.0 g
- K_2HPO_4 0.3 g
- Azul de bromotimol
- Agar 2.0 g

- Carbohidrato de interés 10 %

Prueba de oxidación y fermentación



Medio O/F

- Sustrato: **carbohidrato**
- Enzimas: **degradación oxidativa o fermentativa**
- Producto: **ácidos**
- Indicador: **azul de bromotimol**

Prueba de SIM

- Detección de ácido sulfhídrico
- Detección de indol
- Movilidad

Medio de cultivo

- Peptona de caseína
- Peptona de carne
- Sulfato de hierro y amonio
- Tiosulfato de sodio
- Agar 0.35 %
- pH 7.3 ± 0.2

Detección de ácido sulfhídrico (S)



- Sustrato aminoácidos azufrados, tiosulfato, sulfatos.
- Enzima: sulfato reductasa
- Producto: H_2S
- Revelador Fe^{2+}

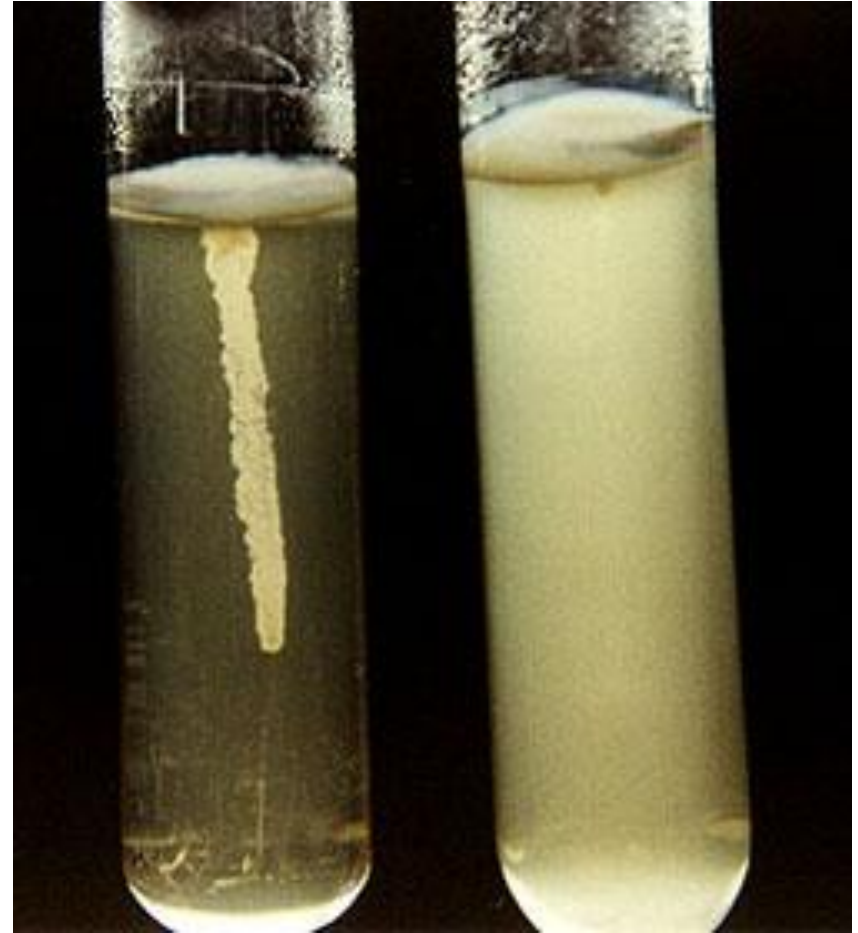
Detección de indol (I)

- Medio de cultivo: SIM
- Sustrato: **triptófano**
- Enzima: **triptofanasa**
- Producto: **Indol** + ac. pirúvico
- Revelador: Reactivo de Kovac o Ehrlich (p-fenilendiamina en HCl)



Movilidad (M)

Medio de cultivo: SIM



Precaución: Revisar la movilidad y producción de ácido sulfhídrico antes de realizar la prueba de indol



Utilización de urea



Medios de cultivo

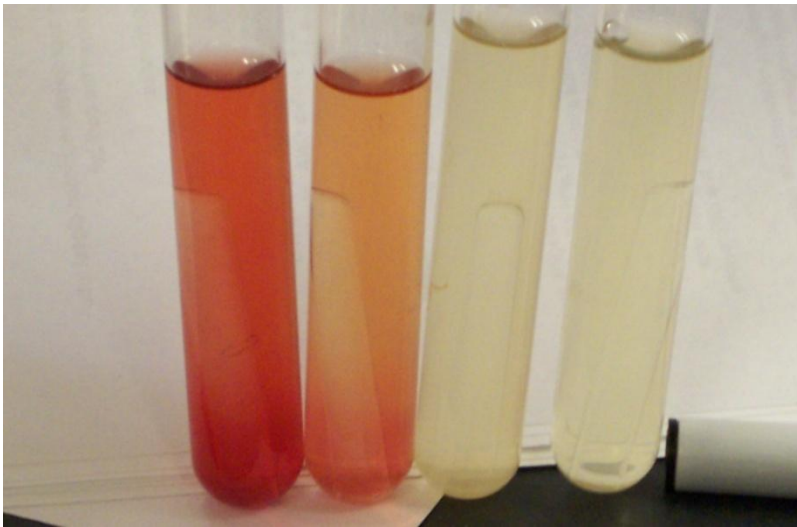
- Caldo urea, urea de Christensens, caldo sarraco
- Sustrato: Urea
- Enzima: ureasa
- Productos: NH_4
- Indicadores: rojo de fenol, (azul de bromotimol)



Reducción de nitratos

Medio caldo nitrato

- Sustrato: **nitrato de sodio**
- Enzima: **nitrato reductasa**
- Productos: **nitritos, NO, N₂O N₂**
- Reveladores: **α -naftil-amina y ácido sulfanílico**



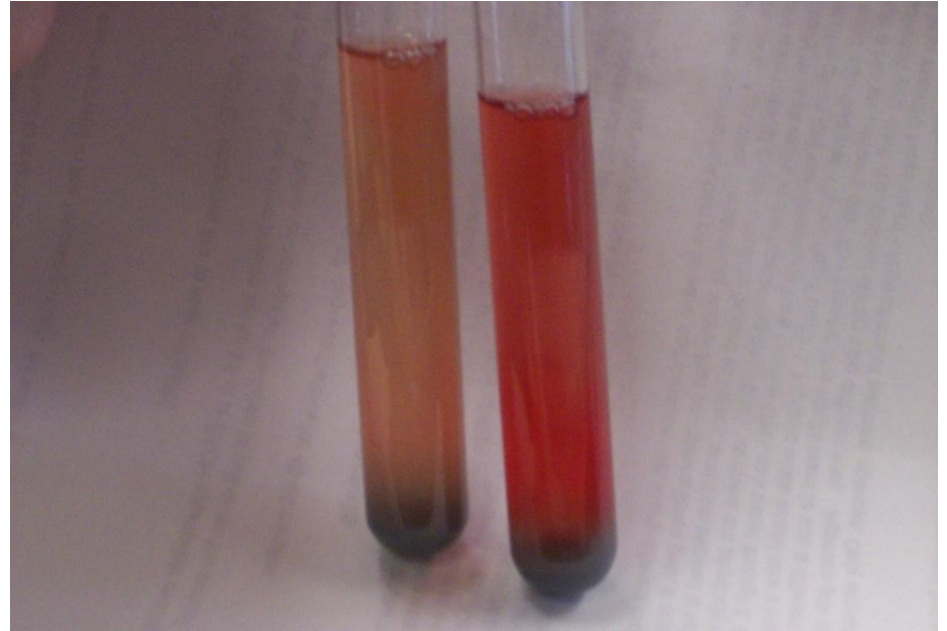
Positivos

Negativos

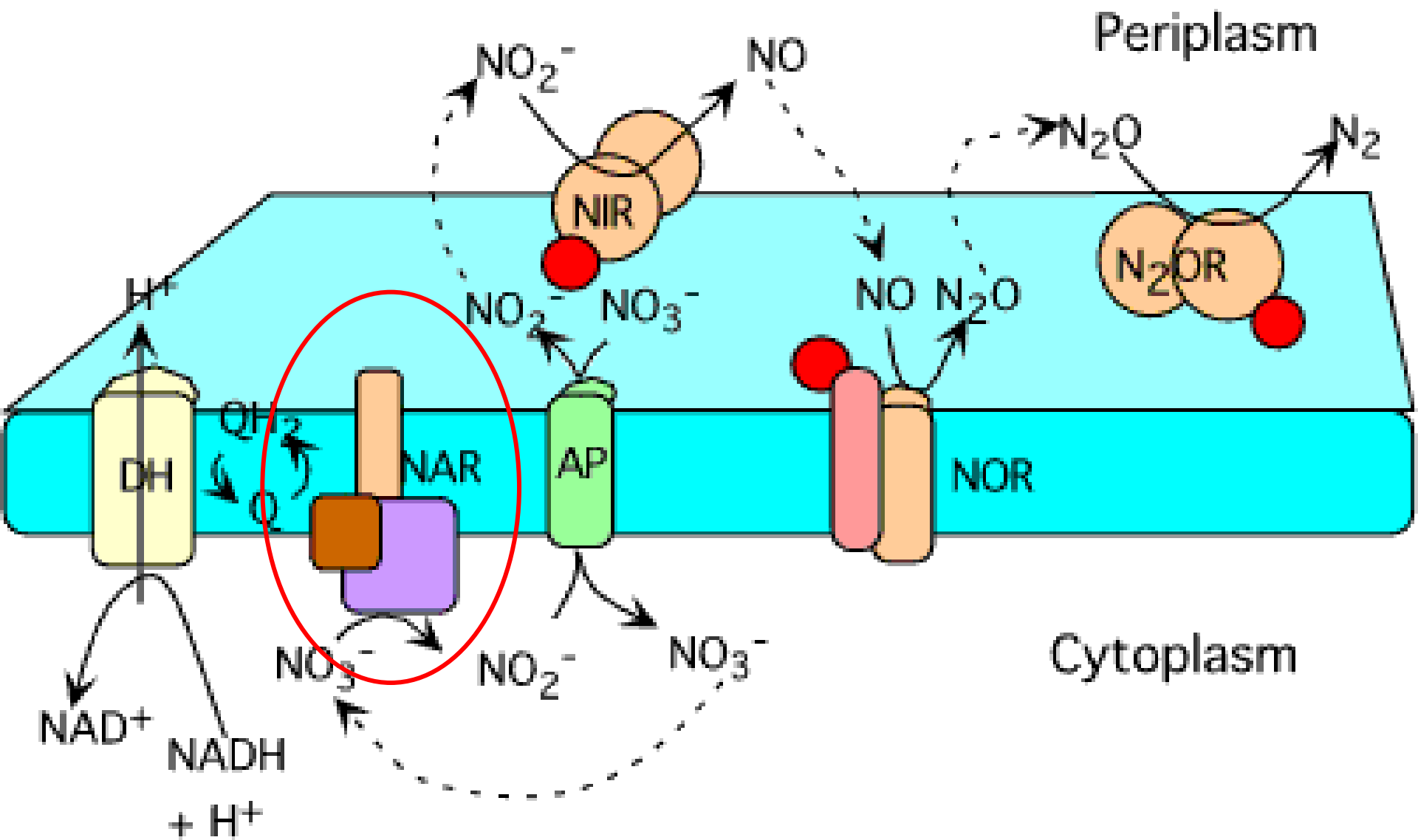
Después de adicionar zinc

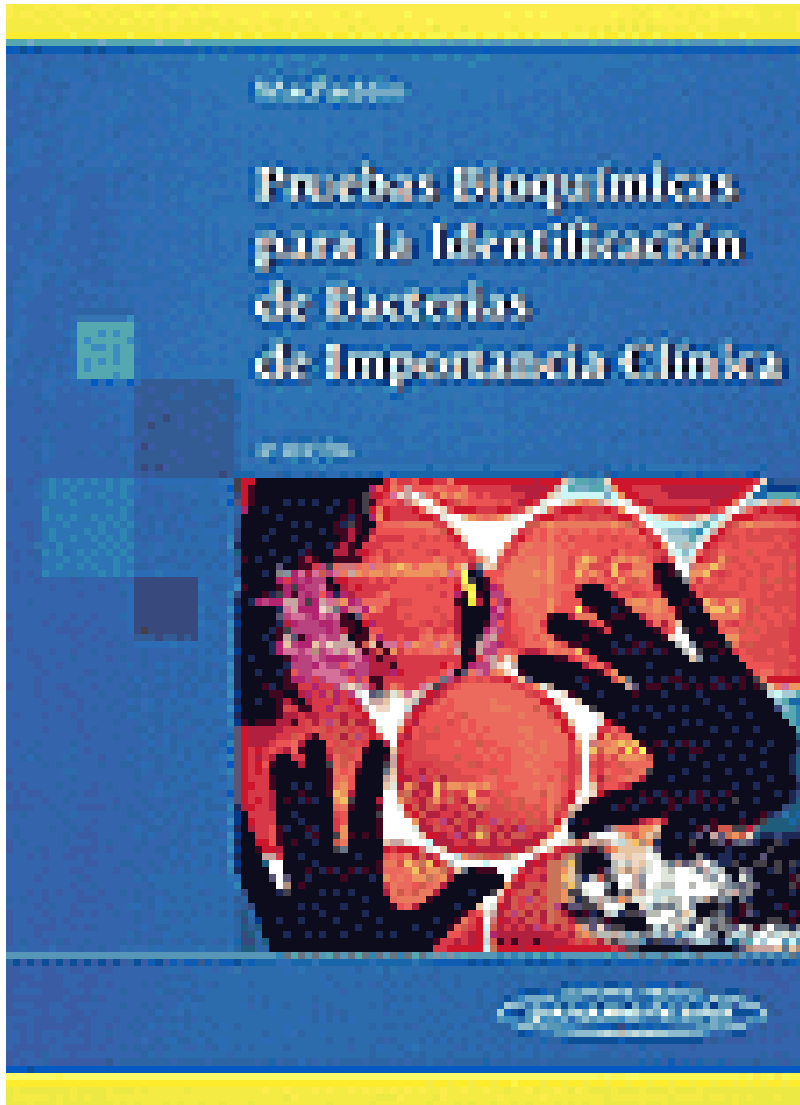


Otras especies reducidas
de Nitrógeno



No hubo reducción de
nitratos a nitritos





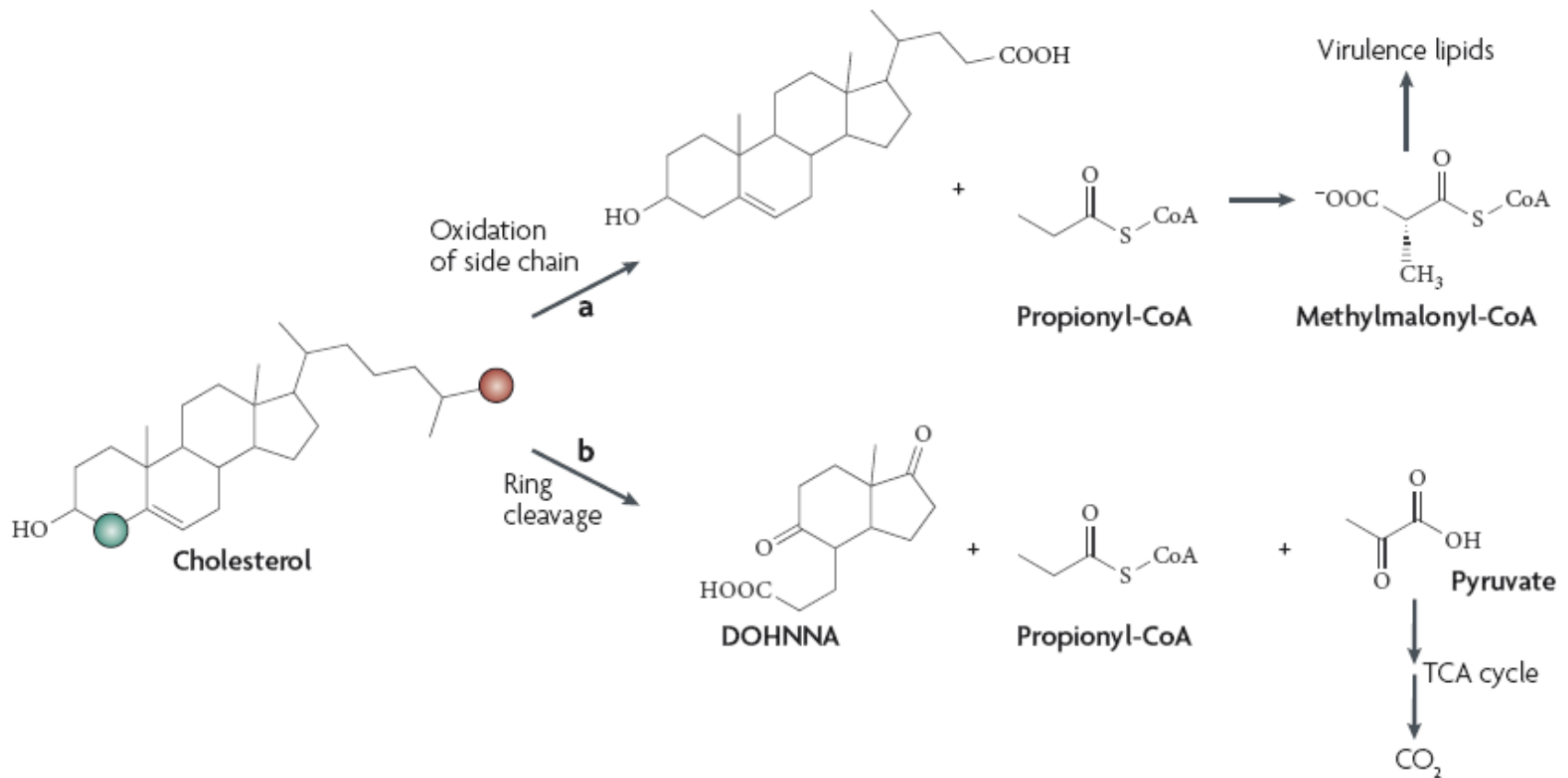
MacFaddin, Jean. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3a ed. 2003 Editorial panamericana

Prueba	medio de cultivo	sustrato	enzima o vía	producto	indicador de pH revelador	prueba positiva	prueba negativa

Revisiting the host as a growth medium

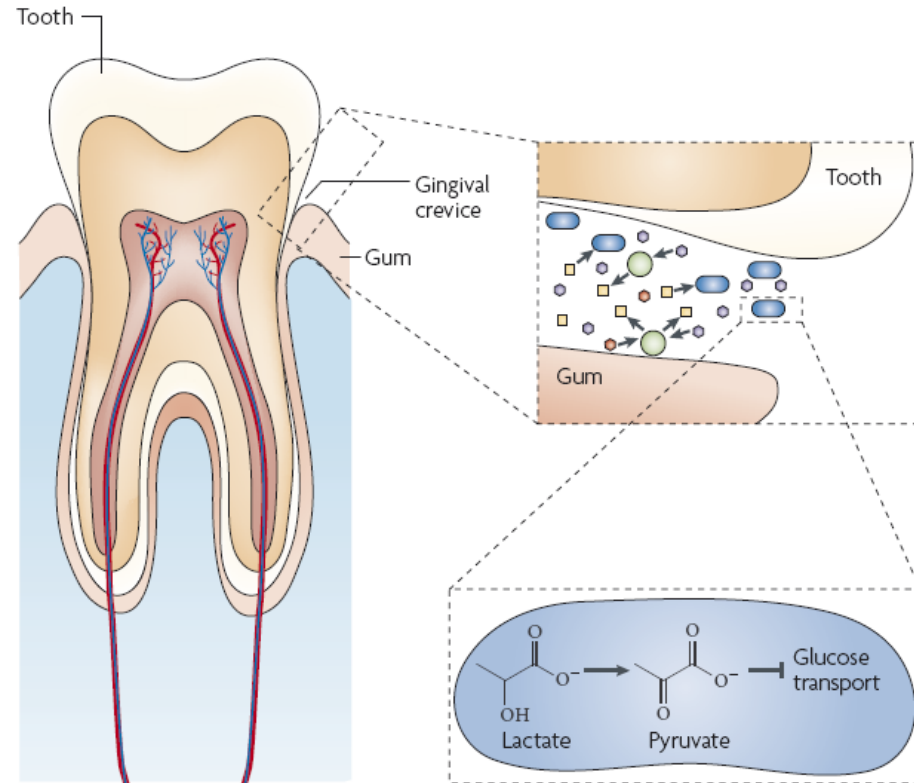
Stacie A. Brown*, Kelli L. Palmer* and Marvin Whiteley

Abstract | The ability of the human body to play host to bacterial pathogens has been studied for more than 200 years. Successful pathogenesis relies on the ability to acquire the nutrients that are necessary for growth and survival, yet relatively little is understood about the *in vivo* physiology and metabolism of most human pathogens. This Review discusses how *in vivo* carbon sources can affect disease and highlights the concept that carbon metabolic pathways provide viable targets for antibiotic development.



M. tuberculosis utiliza el colesterol como fuente de carbono. Una parte del colesterol es degradado hasta CO₂ en la vía TCA. Y la otra porción es utilizada para generar lípidos de virulencia .

- El fluido gingival contiene glucosa y lactato. Los estreptococos consumen la glucosa y generan lactato. *Aggregatibacter sp.* consume el lactato e inhibe la vía de la glucosa. Esto le permite convivir con otros microorganismos de la cavidad oral.
- *Aggregatibacter sp.* causa periodontitis y enfermedades del corazón.



Aggregatibacter actynomecetencomitans

