

MICROBIOLOGÍA GENERAL

CRECIMIENTO MICROBIANO REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES Y AMBIENTALES

Clase 1

Nociones básicas sobre Microbiología

Descripción estructuras: Celulares vs. Acelulares;
Procariota vs. Eucariotas; Archae vs. Bacteria;
Cocos vs. Bacilos; Gram + vs. Gram -; Célula vegetativa
vs. Endosporas ...

Clase 2

Laboratorio: Medios de cultivo - Esterilización

Clase 3

Laboratorio: Control ambiental
(aire - superficies)

Recuentos (placa - NMP)



TEMARIO

➤ **Crecimiento microbiano**

➤ **Requerimientos nutricionales**

Tipos de nutrientes

Categorías nutricionales

➤ **Requerimientos ambientales**

Temperatura

pH

Disponibilidad de agua

Oxígeno

CRECIMIENTO MICROBIANO

Crecimiento microbiano

Crecimiento celular

(aumento de tamaño de la célula)

Crecimiento de poblaciones celulares

(aumento del número de células)

- **División binaria**
- **Tiempo de generación o duplicación // velocidad de crecimiento**
- **Curva de crecimiento**

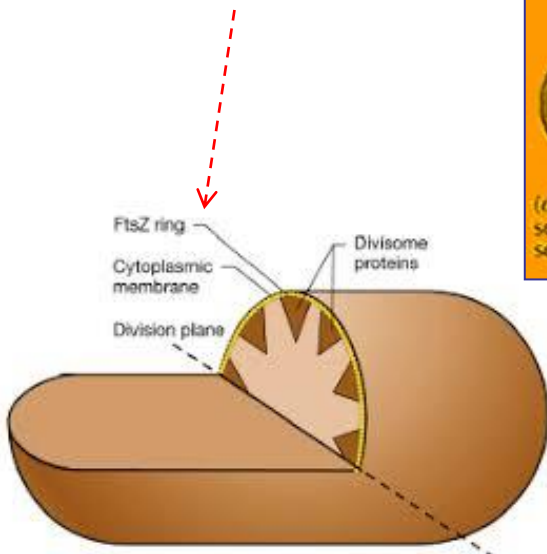
División Binaria

Masa umbral (inicio replicación DNA) / **Longitud umbral** (inicio formación septo)

- La célula bacteriana se elonga y duplica su DNA



- Se forma el septo transversal central que divide la célula en dos partes (**proteínas Fts**)



- La división completa origina 2 células hijas iguales



¿Cómo se visualiza el crecimiento de la población?

Bacterias inoculadas en medio líquido

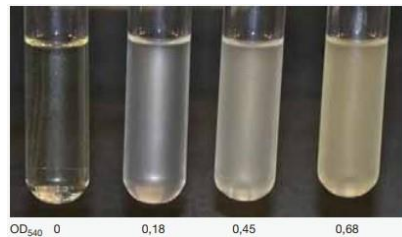


24 h a 37 °C



¿Cómo se cuenta el número de células?

Turbidez



Microscopía

Recuento de u.f.c. (placas)



Tiempo de duplicación o generación

Velocidad de crecimiento

de la población microbiana

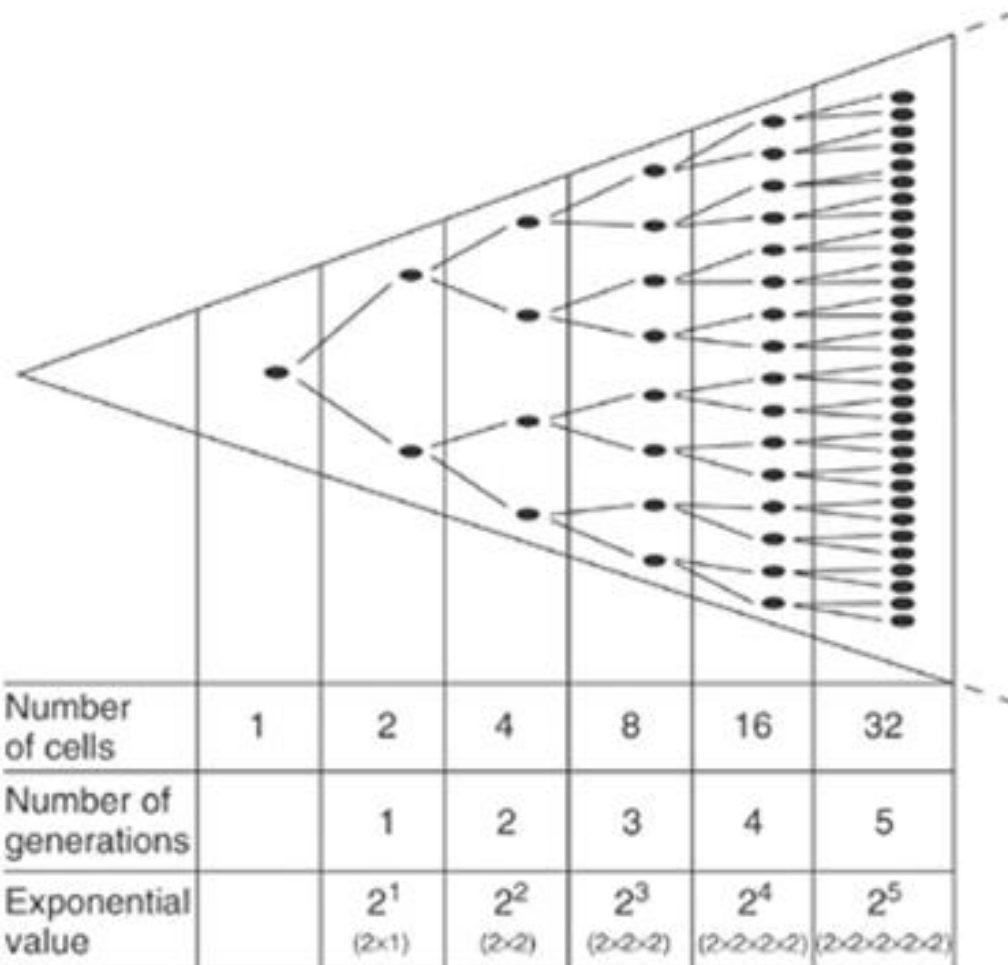
- **Tiempo de duplicación o de generación («g»)**
Tiempo requerido para que se complete
un ciclo de fisión binaria
- Cada nuevo ciclo de fisión aumenta la población en
un factor 2 (crecimiento logarítmico o exponencial)

A la hora... 7 células más...

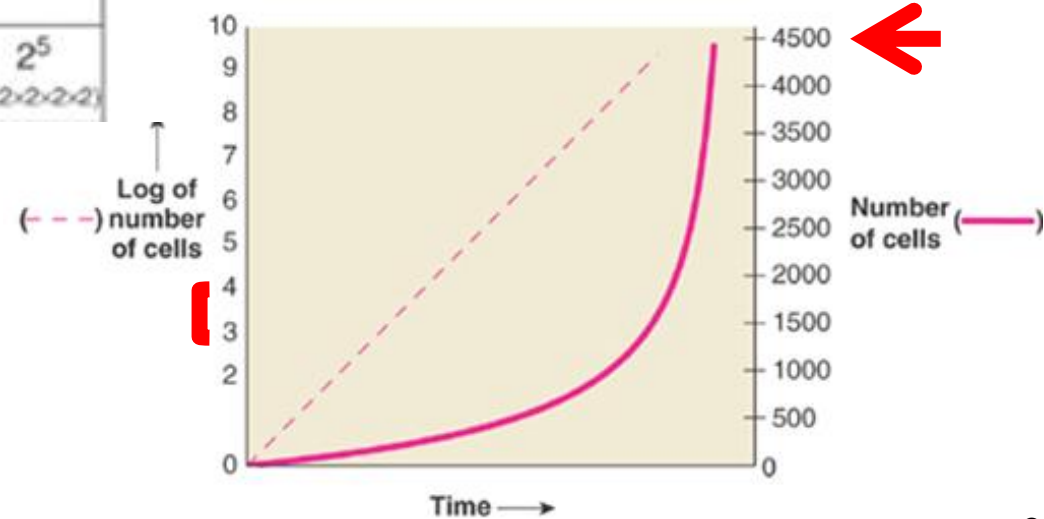
A las 2 h...?



63 células más...!!!



$$2^n$$



Tiempo de duplicación o generación

Velocidad de crecimiento

de la población microbiana

- **Tiempo de duplicación o de generación («g»)**
Tiempo requerido para que se complete un ciclo de fisión binaria
- Cada nuevo ciclo de fisión aumenta la población en un factor 2 (crecimiento logarítmico o exponencial)
- El tiempo de generación puede ser desde minutos a días (**especie – condiciones de crec.**)
 - **Velocidad de crecimiento (“v”)**
Nº de generaciones por unidad de tiempo
(**determinar condiciones óptimas de crecimiento**)

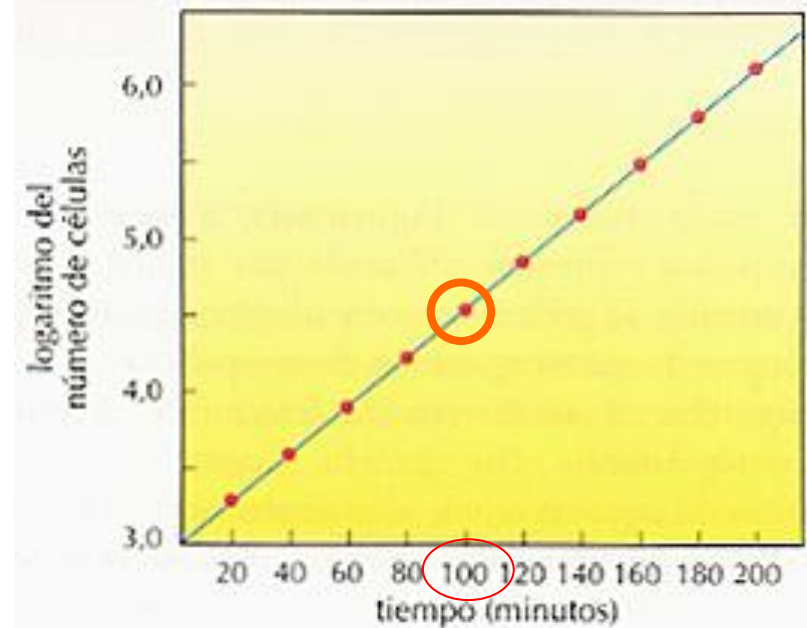
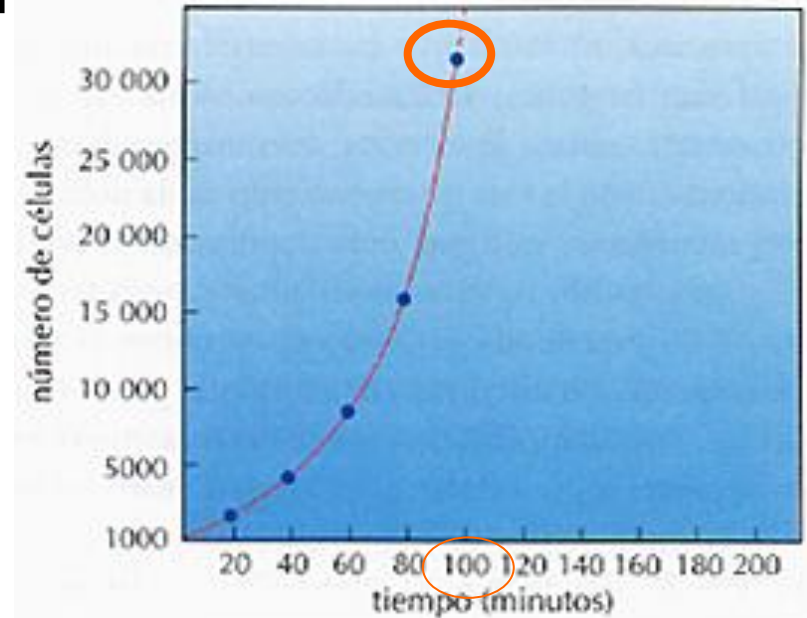
Duplicación de la población

Tiempo		Células / Mililitro		
			Notación	
Minutos	Horas	Número	Científica	Logaritmo
0	0	1.000	10^3	3,0
20	0,33	2.000	2×10^3	3,301
40	0,66	4.000	4×10^3	3,602
60	1,00	8.000	8×10^3	3,903
80	1,33	16.000	$1,6 \times 10^4$	4,204
100	1,66	32.000	$3,2 \times 10^4$	4,505
120	2,00	64.000	$6,4 \times 10^4$	4,806
140	2,33	128.000	$1,28 \times 10^5$	5,107
160	2,66	256.000	$2,56 \times 10^5$	5,408
180	3,00	512.000	$5,12 \times 10^5$	5,709
200	3,33	1.024.000	$1,02 \times 10^6$	6,010

2^n

$$N_f = N_0 \cdot 2^n$$

$$\text{Log } N_f - \text{log } N_0 = n \text{ log } 2$$



Duplicación de la población

Tiempo Células / Mililitro

Notación

	Minutos	Horas	Número	Científica	Logaritmo
	0	0	1.000	10^3	3,0
1	20	0,33	2.000	2×10^3	3,301
2	40	0,66	4.000	4×10^3	3,602
3	60	1,00	8.000	8×10^3	3,903
4	80	1,33	16.000	$1,6 \times 10^4$	4,204
5	100	1,66	32.000	$3,2 \times 10^4$	4,505
6	120	2,00	64.000	$6,4 \times 10^4$	4,806
7	140	2,33	128.000	$1,28 \times 10^5$	5,107
8	160	2,66	256.000	$2,56 \times 10^5$	5,408
9	180	3,00	512.000	$5,12 \times 10^5$	5,709
10	200	3,33	1.024.000	$1,02 \times 10^6$	6,010

$$N_f = N_0 \cdot 2^n$$

$$\log N_f - \log N_0 = n \log 2$$

Cálculo de «n»

(«n»: n° de generaciones)

$$n = (\log N_f - \log N_0) / \log 2$$

$$n = (6-3)/0,3$$

$$n = 10$$

(10 generaciones)

Cálculo de «g»

(«g»: tiempo de generación)

$$g = \text{tiempo} / n$$

$$g = 200' / 10$$

$$g = 20'$$

(cada duplicación insume 20')

Cálculo de «v»

(«v»: velocidad de duplicación)

$$v = n / \text{tiempo}$$

$$v = 1/g$$



Duplicación de la población

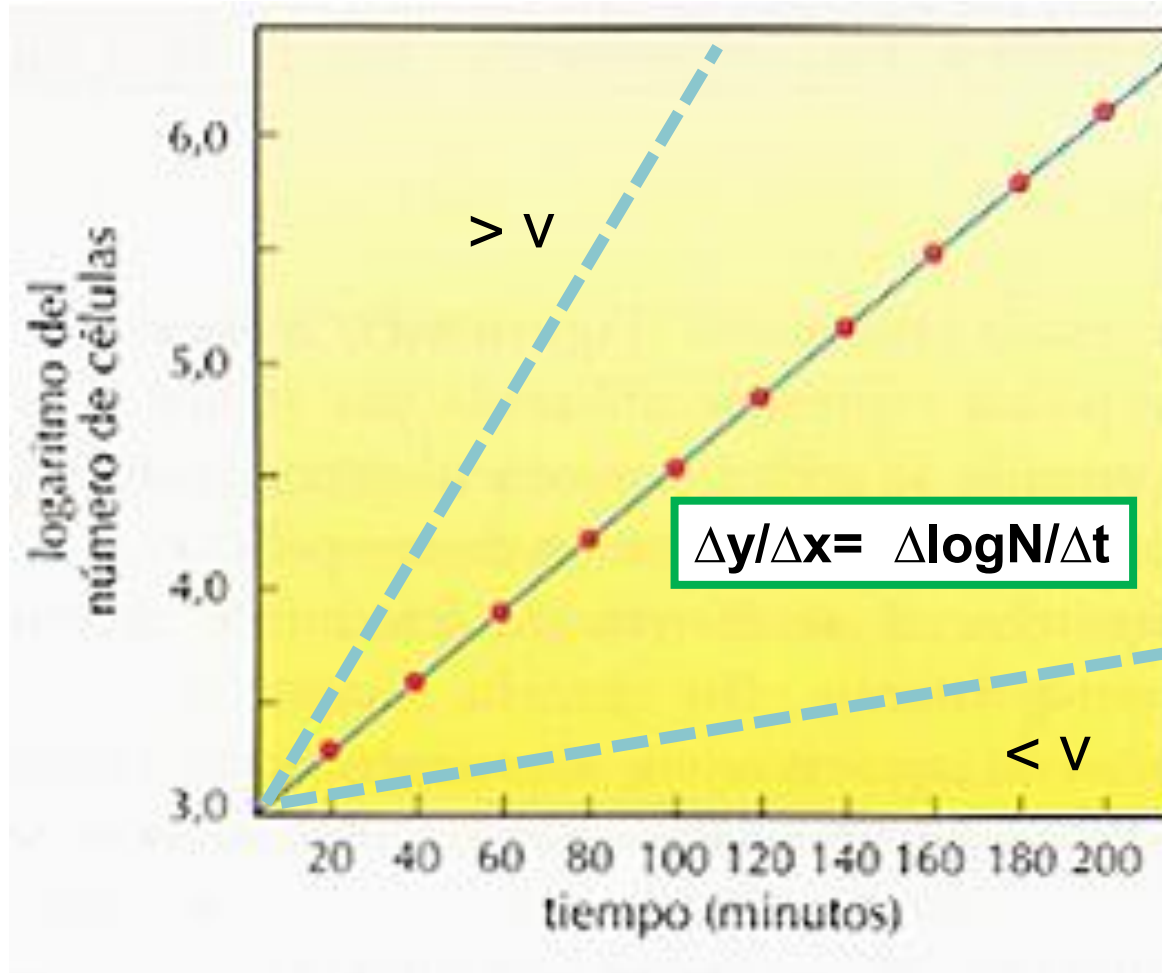
$$N_f = N_0 \cdot 2^n$$

$$\text{Log } N_f - \text{log } N_0 = n \log 2$$

n

$$g = \text{tiempo } (t - t_0) / n$$

$$v = n / \text{tiempo } (t - t_0)$$
$$v = 1 / g$$





Si se considera la célula bacteriana del ejemplo previo, con tiempo de generación de **20 minutos**, y que está creciendo en forma exponencial ...

... Tras 48 horas de incubación, la población bacteriana será de **2^{144} bacterias** ...

Dado que el peso de una célula bacteriana (vol $\approx 1 \mu\text{m}^3$) es $\approx 10^{-12}$ g, el peso de la masa bacteriana tras 48 h de crecimiento exponencial será \approx **10^{25} toneladas** ...



Calculadora

≡ Científica

Historial

Memoria

$(2^{144}) \times (10^{-18}) =$

$(2^{144}) \times (10^{-18}) =$

22.300.745.198.530.623.141.535.718,272648

22.300.745.198.530.623.141.

535.718,272648



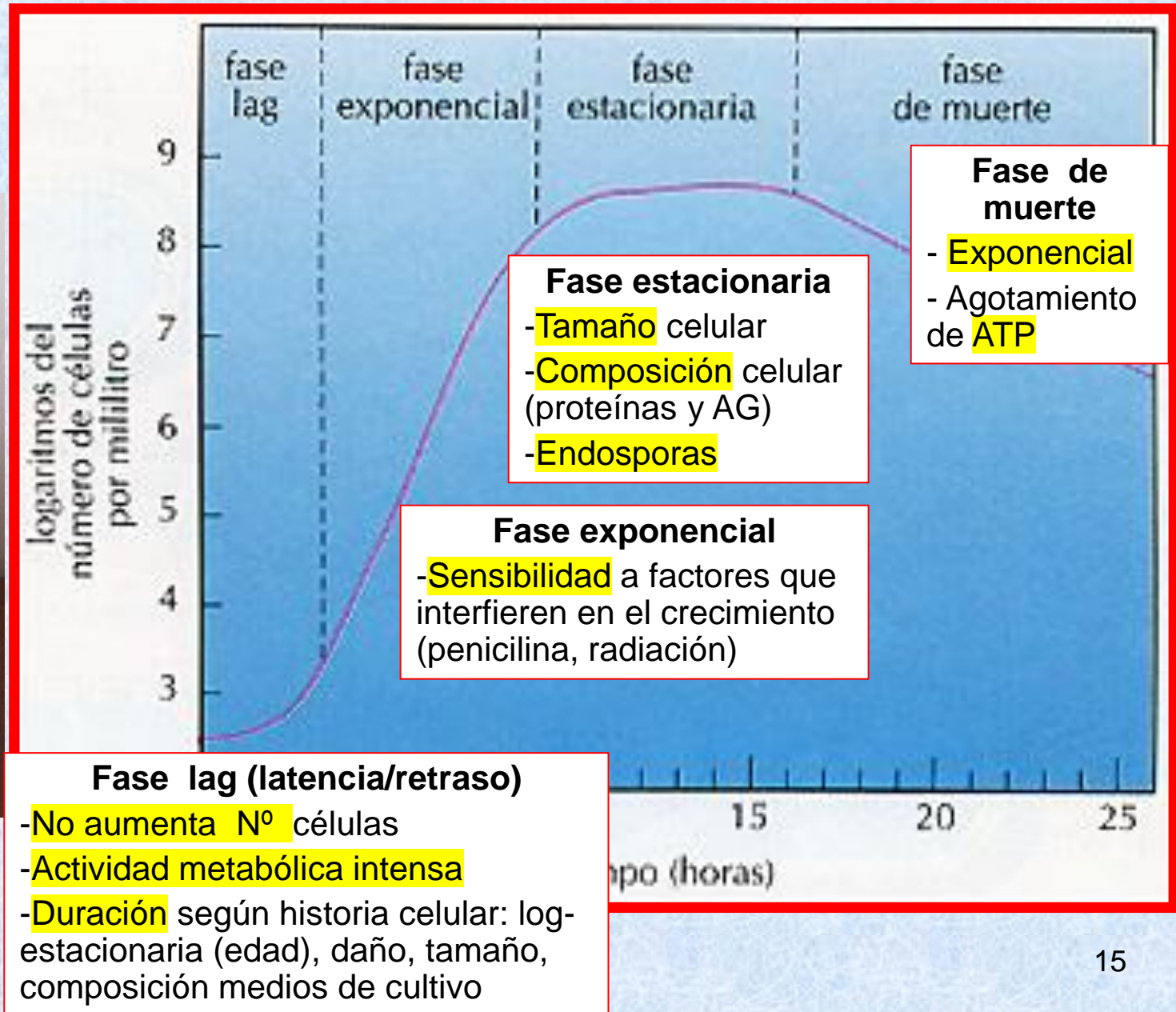
Peso de la Tierra
 10^{22} toneladas

$\times 1.000 \dots!!!!!!$

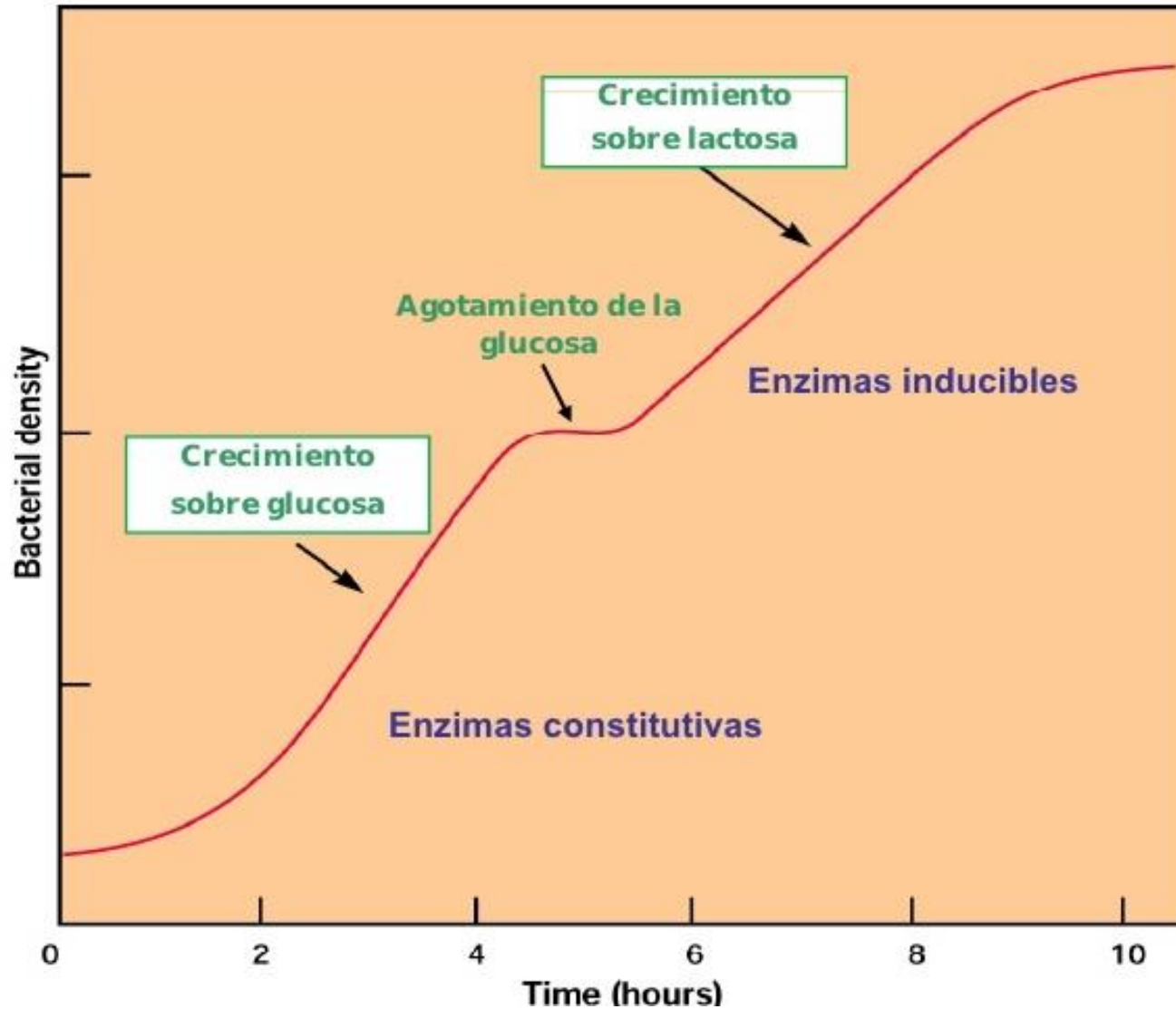


Curva de Crecimiento de población bacteriana

Cultivos «batch»

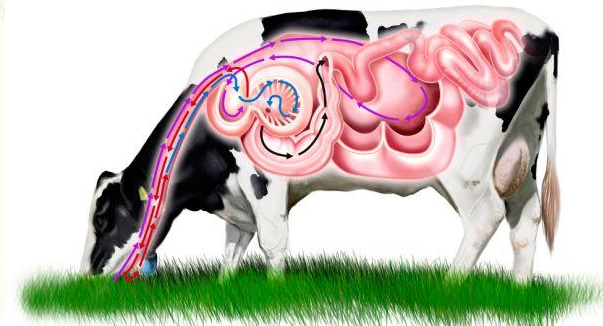
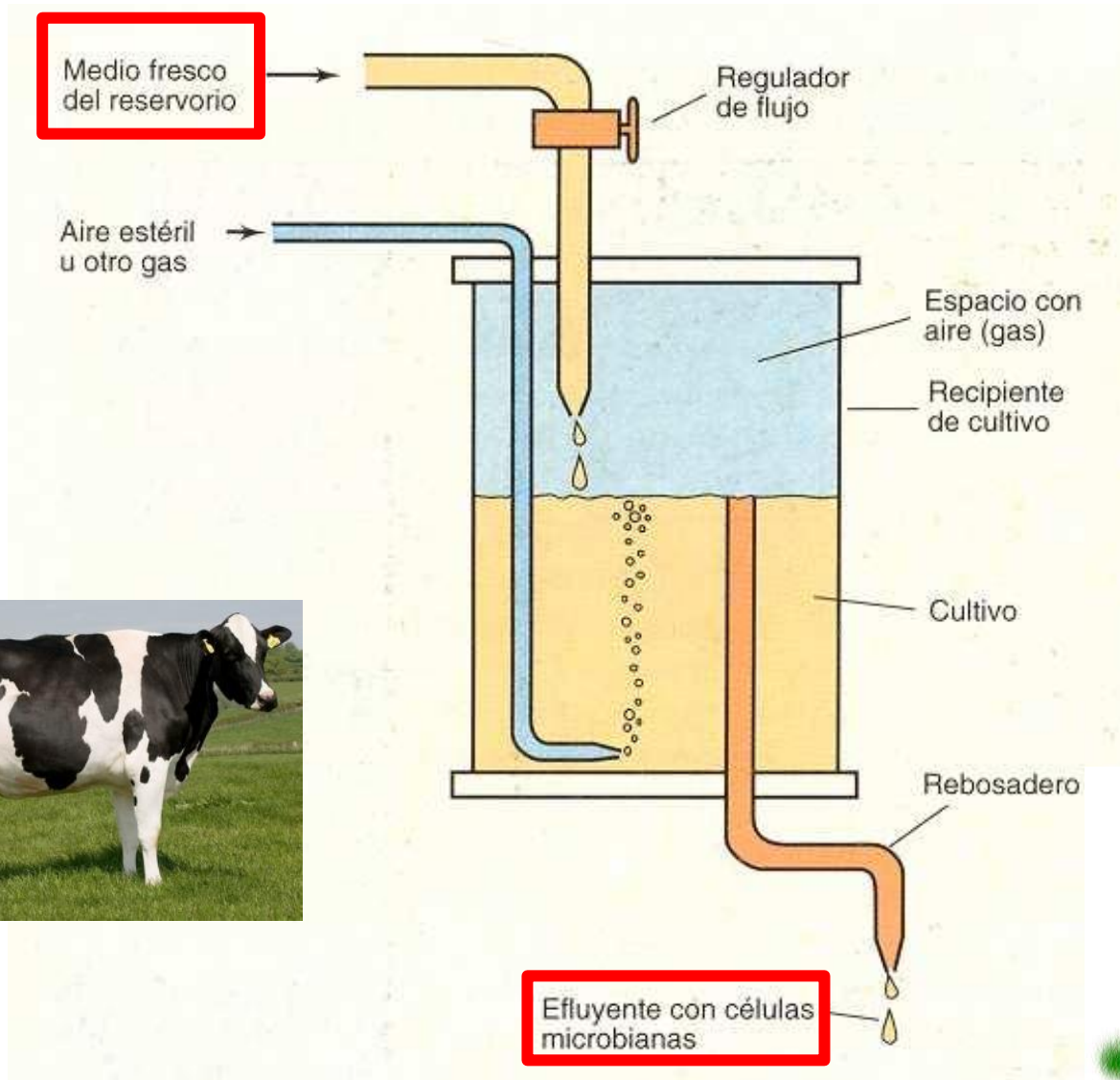


CRECIMIENTO DIÁUXICO



CULTIVO CONTINUO QUIMIOSTATO

Control sobre el n° de células y velocidad de crecimiento



REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES

NUTRICIÓN

Proceso por el cual los seres vivos toman del medio donde habitan las sustancias químicas (nutrientes) que necesitan para crecer y son utilizadas para actividades celulares metabólicas (fines energéticos y biosintéticos)

Composición Química

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Analysis of the Chemical Composition of an *Escherichia coli* Cell

	% Total Weight	% Dry Weight		% Dry Weight
Organic Compounds			Elements	
Proteins	15	50	Carbon (C)	50
Nucleic acids			Oxygen (O)	20
RNA	6	20	Nitrogen (N)	14
DNA	1	3	Hydrogen (H)	8
Carbohydrates	3	10	Phosphorus (P)	3
Lipids	2	Not determined	Sulfur (S)	1
Miscellaneous	2	Not determined	Potassium (K)	1
Inorganic Compounds			Sodium (Na)	1
Water	70		Calcium (Ca)	0.5
All others	1	3	Magnesium (Mg)	0.5
			Chlorine (Cl)	0.5
			Iron (Fe)	0.2
			Manganese (Mn), zinc (Zn), molybdenum (Mo), copper (Cu), cobalt (Co), zinc (Zn)	0.3

Célula bacteriana compuesta por moléculas orgánicas e inorgánicas, siendo las más abundantes agua (70%) y proteínas (15%).

Proteínas: **C-H-O-N-S** Ácidos Nucleicos: **C-H-O-N-P**
Carbohidratos: **C-H-O** Lípidos: **C-H-O-P**

Definiciones

Nutrientes

Sustancias necesarias para el crecimiento microbiano que se usan en la biosíntesis y producción de energía

Macronutrientes

Elementos (10) captados por los microorganismos en **cantidades relativamente grandes**. 95% la célula microbiana. **Función estructural y metabólica**

Micronutrientes

Elementos que se requieren en **cantidades muy pequeñas**.
Rol enzimático – Estructura proteica

Factores de Crecimiento (orgánicos)

Sustancias precursoras de componentes **orgánicos** que el **m.o. es incapaz de sintetizar**. Generalmente se requieren en pequeñas concentraciones.

NUTRIENTES

MACRONUTRIENTES

(g o mg/L)

- Carbono
- Oxígeno
- Nitrógeno
- Hidrógeno
- Fósforo
- Azufre
- *Potasio*
- *Magnesio*
- *Calcio*
- *Sodio*

MICRONUTRIENTES

(trazas)

- Cromo
- Cobalto
- Cobre
- Manganeseo
- Molibdeno
- Níquel
- Zinc
- *Hierro*

Macronutrientes

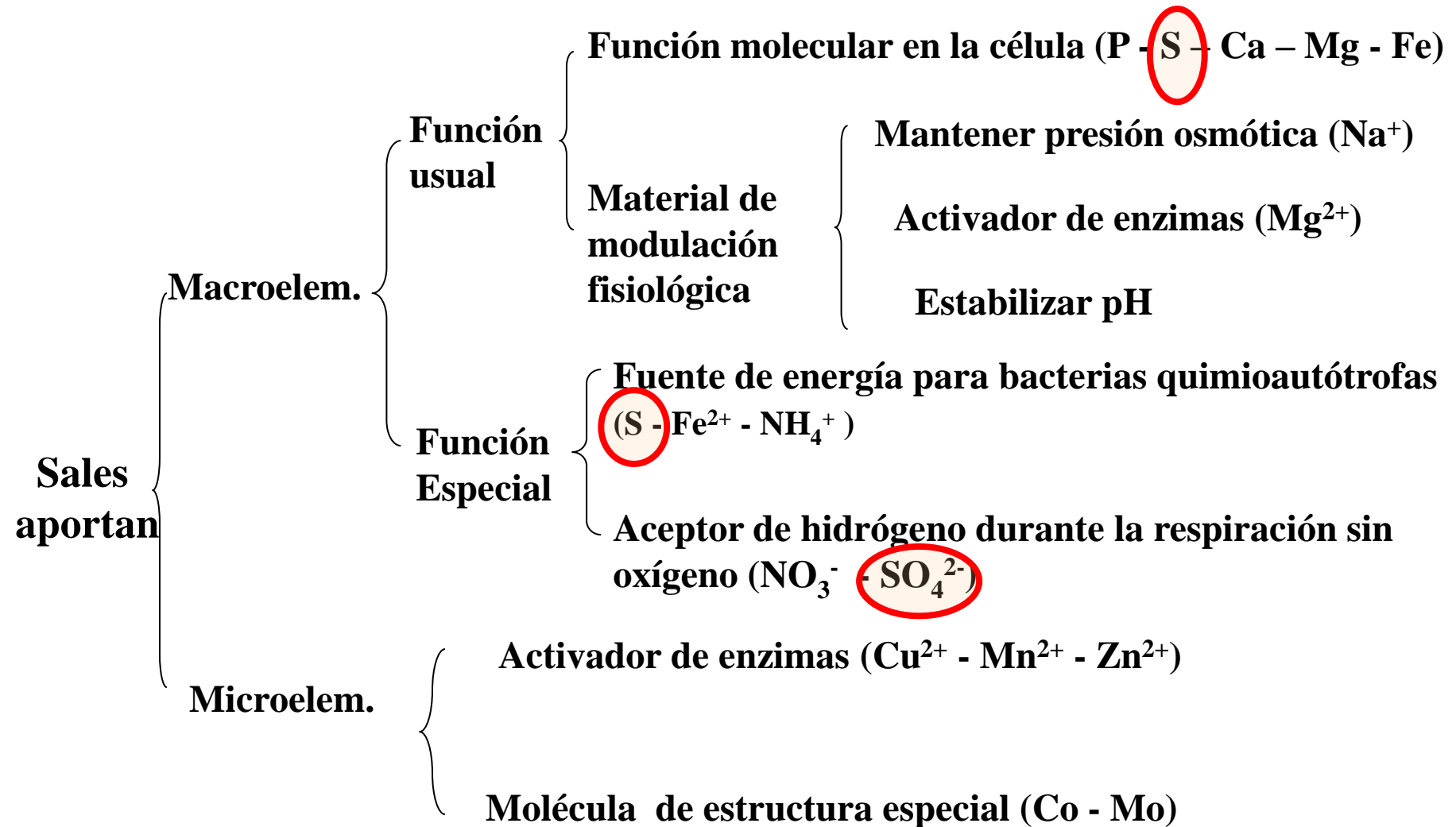
NUTRIENTE	Función	Fuente
<i>CARBONO</i>	Material celular (50 % p.seco)	Azúcares, péptidos, ac. grasos, CO₂

Micronutrientes

Trazas inorgánicas

NUTRIENTE	Función
<i>CROMO</i>	
<i>COBALTO</i>	
<i>COBRE</i>	
<i>MANGANESO</i>	
<i>MOLIBDENO</i>	
<i>NÍQUEL</i>	
<i>ZINC</i>	
<i>HIERRO</i>	<p>Citocromos, catalasas, peroxidasas, nitrogenasas, SOD, cofactor</p> <p>Sideróforos</p> <p>Fuente de energía (Fe⁺²)</p>

Función fisiológica de sales inorgánicas



FACTORES DE CRECIMIENTO

Sustancias precursoras de **componentes orgánicos** que el m.o. es incapaz de sintetizar. Generalmente se requieren en pequeñas concentraciones.

- ***VITAMINAS***
- ***AMINOÁCIDOS***
- ***PURINAS Y PIRIMIDINAS***
- ***ÁCIDOS GRASOS***

- M.o. **protótrofos**: sintetizan sus F.C.
- M.o. **auxótrofos**: requieren fuente exógena de F.C.

Factor o vitamina	Funciones principales
p-aminobenzoico (PABA)	precursor en biosíntesis del ácido fólico
Acido fólico	metabolismo de compuestos C ₁ , transferencia de grupos metilo, coenzima en síntesis de bases y AA .
Biotina (vitamina B _{8/7})	biosíntesis de ácidos grasos ; fijación de CO₂ . (S) - GP
Cobalamina (vitamina B ₁₂)	reducción y transferencia de compuestos C ₁ ; síntesis de desoxirribosa . - GP
Niacina (ácido nicotínico)	precursor del NAD ; transferencia de electrones en reacciones redox.
Riboflavina	precursor de FAD y FMN (transporte e).
Ácido pantoténico	precursor de la CoA (metabolismo del piruvato); activación de acetilos. Oxidación de ácidos grasos .
Tiamina (vitamina B ₁)	descarboxilaciones; transcetolasas; transaminasas, S
Complejo B ₆ (piridoxal, piridoxamina)	transformaciones de aminoácidos y cetoácidos. GP
Grupo Vitamina K, quinonas	transportadores de electrones (ubiquinonas, menaquinonas, etc.). Liposoluble .

Categorías (tipos) nutricionales de microorganismos

- **Fuente de Energía**
 - **Luz (fotótrofos)**
 - **Comp. Químicos (quimiótrofos)**
(oxidación de compuestos químicos reducidos)
- **Fuentes de Carbono** (que constituya sus macromoléculas)
 - **CO₂ (autótrofos)**
 - **Carbono orgánico (heterótrofos)**

Clasificación de los microorganismos según fuentes de **Energía** y **Carbono** utilizadas

		FUENTE DE ENERGÍA	
		LUZ (<u>Foto</u> -)	Compuestos químicos (<u>Quimio</u> -)
FUENTE DE CARBONO	Dióxido de Carbono (<i>auto</i> -)	<u>Foto</u> <i>autótrofos</i>	<u>Quimio</u> <i>autótrofos</i>
	Compuestos orgánicos (<i>hetero</i> -)	<u>Foto</u> <i>heterótrofos</i>	<u>Quimio</u> <i>heterótrofos</i>

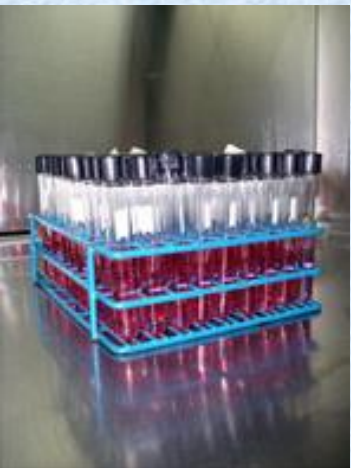
Categorías (tipos) nutricionales de microorganismos

Categoría nutricional	Fuentes de energía, Fuente de Carbono	Ejemplos
Fotoautótrofo	LUZ (fuente de energía) CO ₂ (fuente de C)	Algas, bacterias verdes y púrpuras, Cianobacterias
Fotoheterótrofo	LUZ (fuente de energía) Fuente de C orgánica	Bacterias no sulfurosas púrpuras y verdes
Quimiautótrofo	Energía química (generalmente inorgánica) CO ₂ (fuente de C)	Bacterias sulfooxidantes, nitrificantes
Quimioheterótrofo	Energía química (generalmente orgánica) Fuente de C orgánica	Mayoría de bacterias, hongos, protozoos

Medios de cultivo

Soluciones acuosas (líquidas o gelificadas) que contienen, en forma equilibrada y en concentraciones adecuadas, los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos de interés.

AGUA + C + N + (macro-micro) + F. Crec.



Medios de cultivo

Clasificación según composición química

Definidos: composición química exacta (masa de cada **compuesto químico**)



<i>Nutriente</i>	<i>E. coli</i>
Glucosa	4-10 g
KH_2PO_4	2 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1 g
MgSO_4	0,2 g

Complejos: constituidos por sustancias complejas de origen animal, vegetal o fúngico (peptona, extracto de levadura, extracto de carne, etc.), usualmente complementadas por la adición de minerales y otras sustancias.

No se conocen todos los componentes químicos ni las cantidades exactas presentes de cada uno de ellos.

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES

Ejemplo

<i>Nutriente</i>	Medio definido <i>E. coli</i>	Medio complejo <i>E. coli</i> y <i>L. mesenteroides</i>	Medio definido <i>L. mesenteroides</i>
Glucosa	4-10 g	15 g	25 g
Extracto de levadura	-----	5 g	-----
Peptona	-----	5 g	-----
KH ₂ PO ₄	2 g	2 g	0,6 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 g	-----	1 g
MgSO ₄	0,2 g		0,2 g
Aminoácidos	-----	-----	Alanina, arginina, asparragina, aspartato, histidina, lisina y otros, 100-200ug c/u
Purinas y Pirimidinas	-----	-----	Adenina, guanina, uracilo, xantina, 10 mg c/u
Vitaminas	-----	-----	Biotina, ac, nicotínico, piridoxina, riboflavina, tiamina y otros 0,01-0,1 mg c/u

Medios de cultivo

Clasificación según función

Medios generales

Medios de enriquecimiento: medios líquidos que favorecen el crecimiento de un tipo de microorganismo en particular, permitiendo aumentar su número. Usualmente contienen una o más sustancias inhibidoras del crecimiento de los microorganismos con excepción de los que se quieren cultivar.

Medios selectivos: parecidos a los de enriquecimiento, están diseñados para el aislamiento de microorganismos específicos: poseen agentes selectivos que impiden el desarrollo de la microbiota acompañante.

Medios diferenciales: medios sólidos que contienen indicadores de productos derivados de la actividad metabólica de los microorganismos, tal que permiten diferenciar el desarrollo de microorganismos diferentes

PLATE COUNT AGAR

(Tryptone Glucose Yeast Agar)

For laboratory use only

500g makes 28.5 litres

Typical formula (g/l)

ph 7.0 \pm 0.2 at 25°C

Enzymatic digest of casein 5.0; Yeast extract 2.5;

Glucose 1.0; Agar 9.0.

REQUERIMIENTOS AMBIENTALES

- **Velocidad de crecimiento**
- **Distribución**
- **Control**

Definiciones

Crecimiento vs. Tolerancia

"– filo" : crecimiento ("afinidad")

"-tolerante": supervivencia

“bacteria termofílica ≠ termotolerante”

Obligado (estricto) vs. Facultativo

“Obligado”: Condición requerida para el crecimiento

“Facultativo”: puede haber crecimiento, pero la condición no es requerida

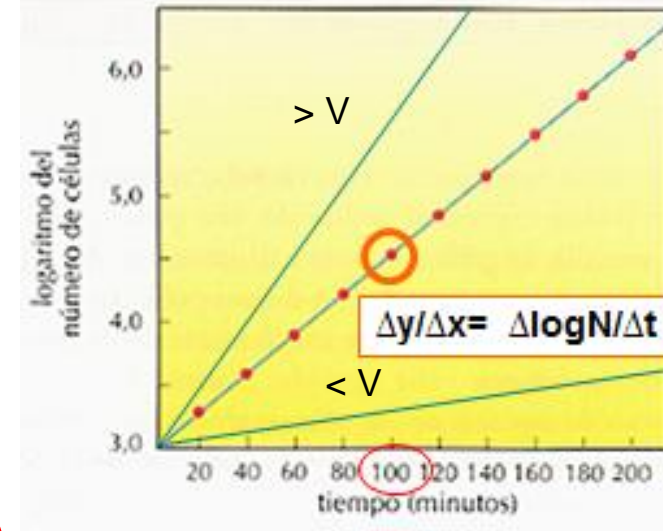
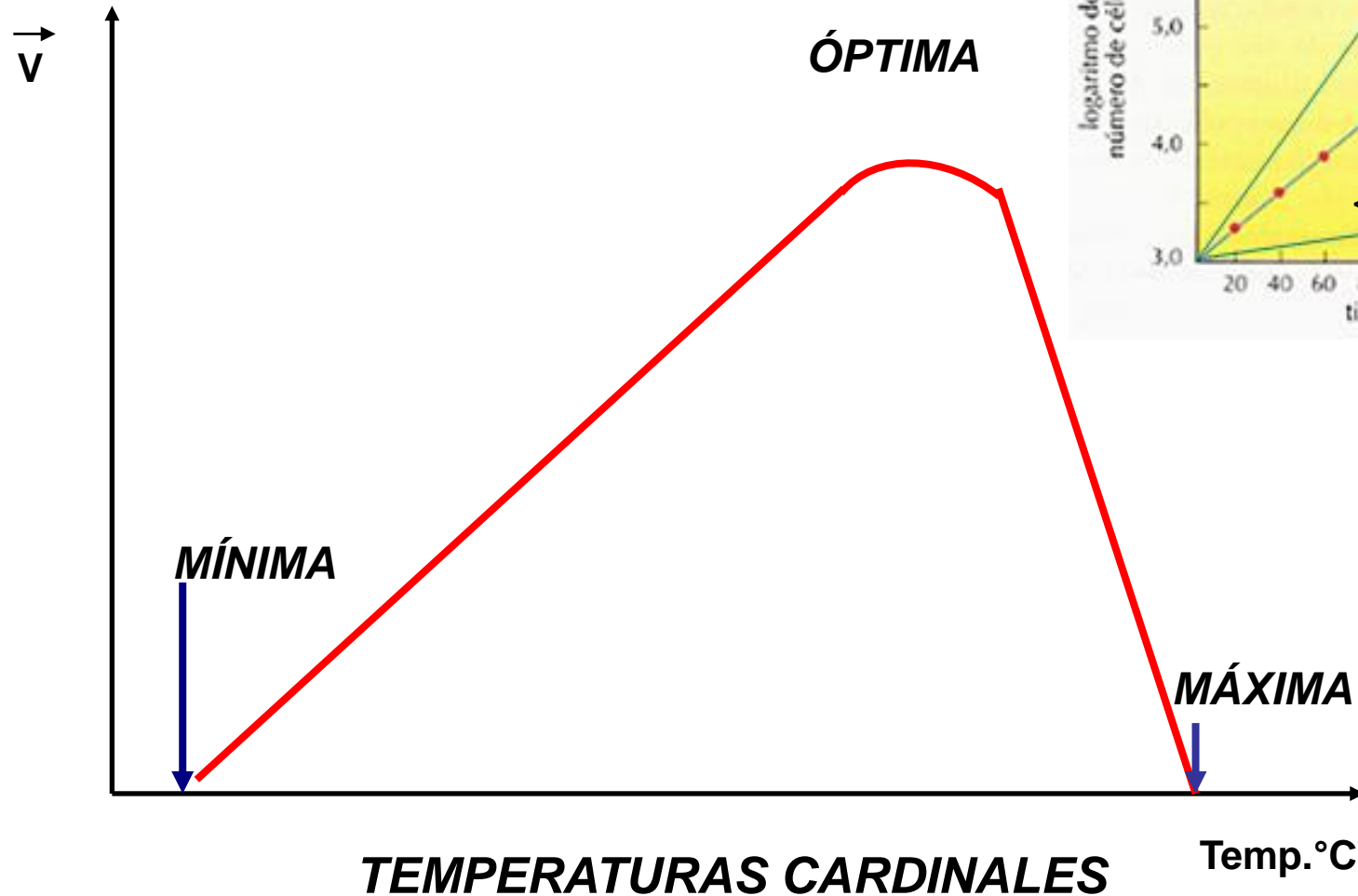
PRINCIPALES PARÁMETROS

- ***TEMPERATURA***
- ***pH***
- ***ACTIVIDAD ACUOSA (A_w)***
- ***OXÍGENO***
- ***(Luz, presiones)***

TEMPERATURA

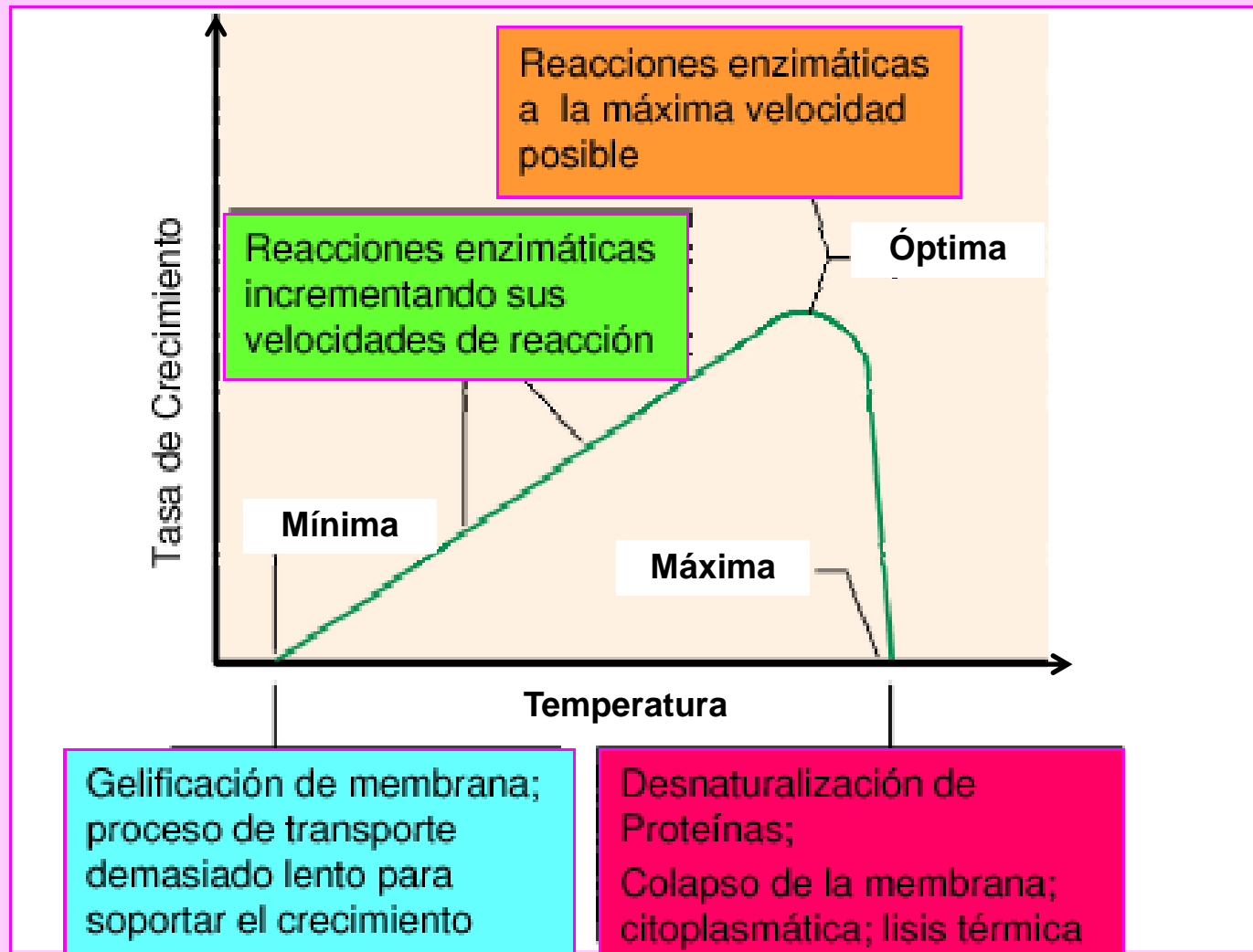


TEMPERATURA



- Rangos 30 - 40°C (entre mínima y máxima)
- Características de c/especie

• Temperatura



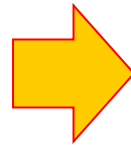
TEMPERATURA

Clasificación de los microorganismos

Grupo	Mínima °C	Óptima °C	Máxima °C
Hipertermófilos	50 – 75	80 – 100	105 - 113
Termófilos	40 - 45	55 – 75 (> 45 °C)	60 - 90
Mesófilos	5 - 15	30 – 45 (20 – 40)	35 - 47
Psicrófilos	-5 - +5	12 – 15	15 – 20

TEMPERATURA

Clasificación de los microorganismos



PSICRÓFILOS

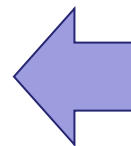
Adaptaciones bioquímicas

- enzimas resistentes
- sistemas de transporte adaptados
- AGI en fosfolípidos de membrana

TERMÓFILOS

Adaptaciones bioquímicas

- enzimas y ribosomas termorresistentes
- AGS en membrana
- Fosfolípidos con enlaces éter
- Solutos termoprotectores (di-inositol fosfato, di glicerol fosfato, manosilglicerato, poliaminas)

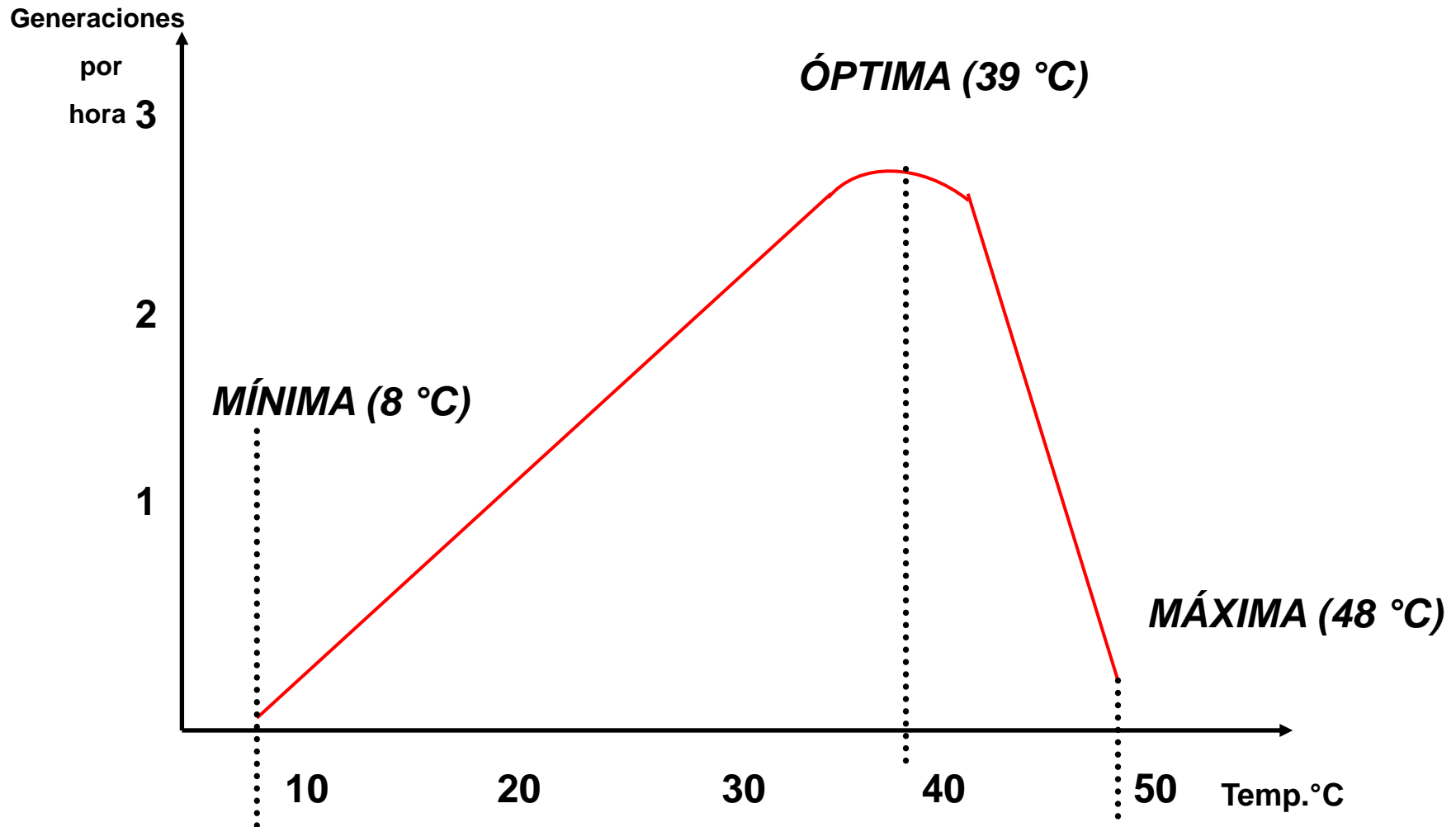


TEMPERATURA

Clasificación de los microorganismos

Grupo	Mínima °C	Óptima °C	Máxima °C
Hipertermófilos <i>Pyrolobus fumarii</i>	50 – 75 (90°C)	80 – 100 (105°C)	105 - 113 (113°C)
Termófilos	40 - 45	55 - 75	60 - 90
Mesófilos	5 - 15	30 - 45	35 - 47
<i>Psicrótrofos</i> («psicrotolerantes»)	-5 - +5	20 - 30	30 - 35
Psicrófilos <i>Polaromonas vacuolata</i>	-5 - +5	12 – 15 (4°C)	15 – 20 (14°C)

Tasa de crecimiento de *E.coli* a distintas temperaturas



Temperaturas óptimas de crecimiento

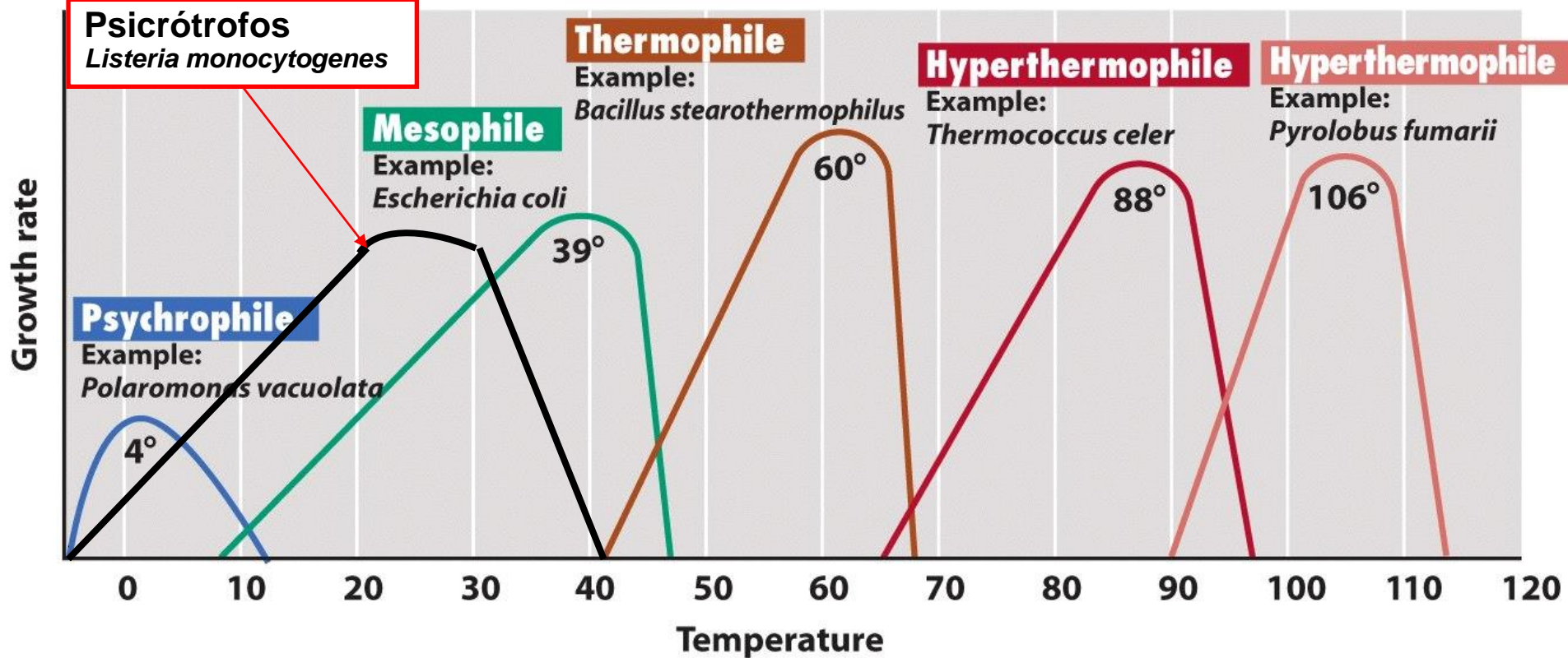
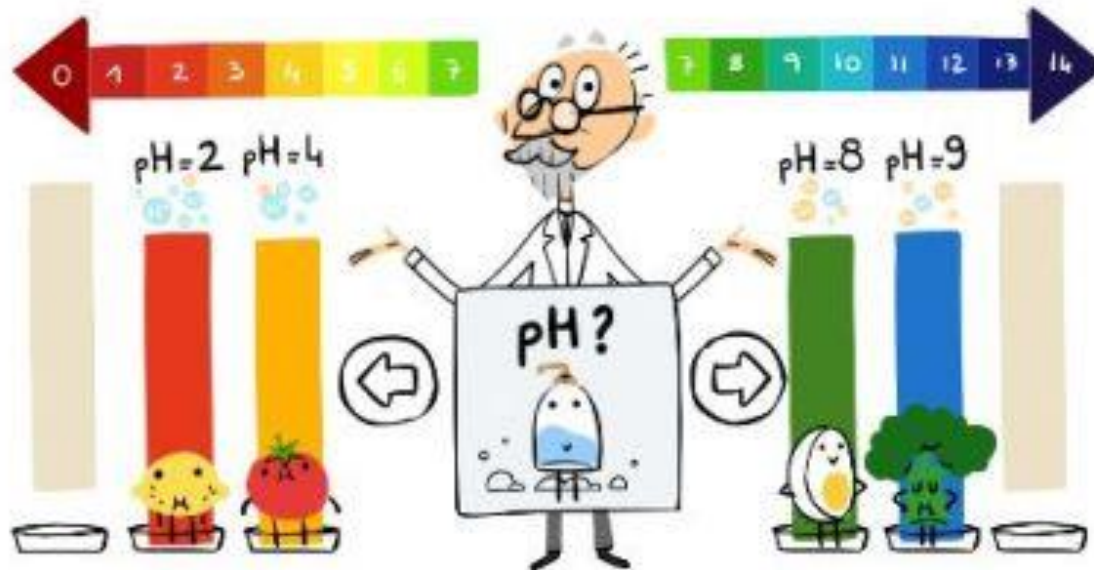


Figure 6-17 Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

(adaptado)

pH

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$



Doodle - 29 de mayo de 2018 - Søren P. L. Sørensen

pH

CLASIFICACIÓN	pH	Ambientes
ÁCIDOS	1	Suelos y aguas volcánicas
	2	Fluido gástrico
	3	Drenaje de minas
	4	Tomates
	5	Quesos, coles
	6	Guisantes, maíz, salmón
NEUTROS	7	Agua pura
ALCALINOS	8	Agua de mar
	9	Suelos alcalinos (carbonatos)
	10	Lagos alcalinos, jabones
	11	Amoníaco doméstico
	12	Lagos sódicos
	13	Cal, sol. saturada
	14	-----

pH

CLASIFICACIÓN	pH	Ambientes
ACIDÓFILOS pHi: 6,5	1	Suelos y aguas volcánicas
	2	Fluido gástrico
	3	Drenaje de minas
	4	Tomates
	5	Quesos, coles
NEUTRÓFILOS pHi 7,5	6	Guisantes, maíz, salmón
	7	Agua pura
ALCALÓFILOS pHi: 9	8	Agua de mar
	9	Suelos alcalinos (carbonatos)
	10	Lagos alcalinos, jabones
	11	Amoniaco doméstico
	12	Lagos sódicos
	13	Cal, sol. saturada
	14	-----

RANGO DE pH para CRECIMIENTO MICROBIANO

Microorganismo	Óptimo	Extremo
Bacterias	6 - 8	4 – 9
Levaduras	4,5 - 6	1,5 – 8
Mohos	3 - 5	1,5 – 11

- Membrana citoplasmática: poco permeable a H^+ y OH^-
- Neutralidad en citoplasma
- Regulación de pH_i mediante sistema de transporte de electrones ATP dependiente.

¿Fuera de rango?

Inestabilidad de membrana citoplasmática
Inhibición de enzimas
Alteración transporte de nutrientes

Efecto nocivo directo

Acidificación o alcalinización
Proteínas
Ácidos nucleicos

Efecto nocivo indirecto

Ionización de nutrientes
Inhibición
de transporte

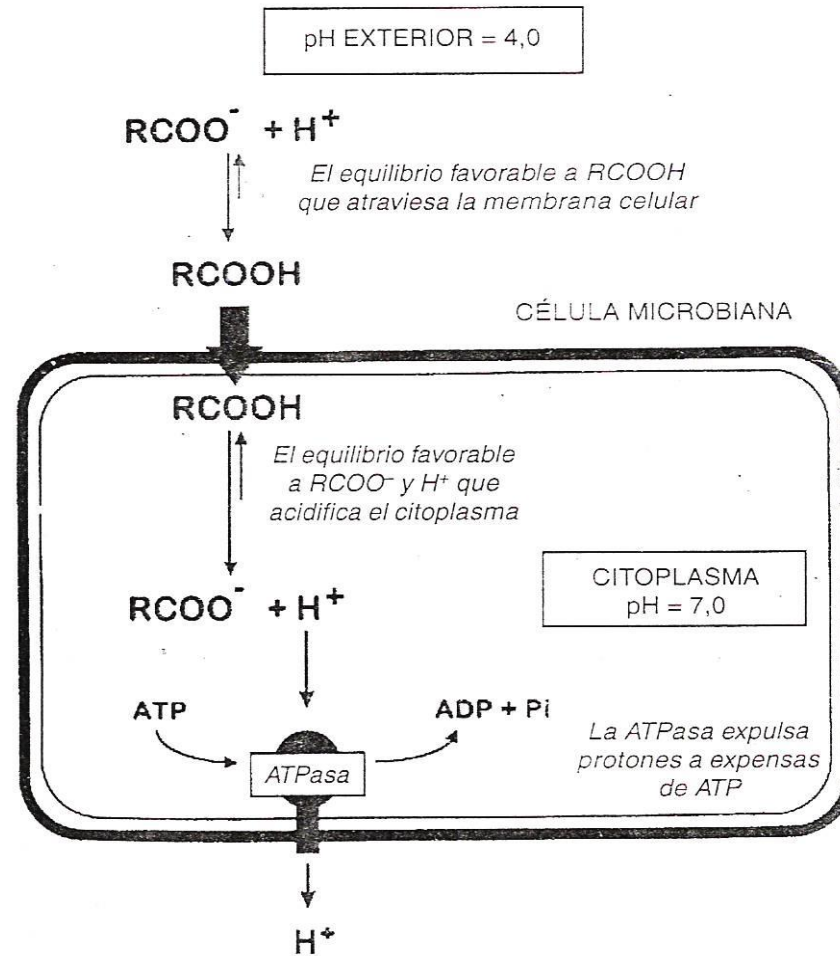
Acidificación

Ácidos fuertes (inorgánicos) y **ácidos débiles** (orgánicos)

Ácidos fuertes

Alteración conformación de enzimas
(de pared o de membrana plasmáticas)







Ácidos débiles (orgánicos) y pH celular



pH

- Membrana citoplasmática
- Neutralidad en citoplasma
- Sistema de transporte de electrones ATP dependiente
- Efectos nocivos
- Ácidos fuertes (inorgánicos) y débiles (orgánicos)
- **Modificación de pH del medio por crecimiento celular**
- **Respuesta de tolerancia a stress por acidez**
- **Sistemas tampón en medios de cultivo**
(K_2HPO_4/KH_2PO_4)

pH

Microorganismo (procariotas)	pH		
	Mínimo	Óptimo	Máximo
<i>Escherichia coli</i> 	4,4	 6-7	9
<i>Proteus vulgaris</i>	4,4	6-7	8,4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4,4	6-7	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,6	6,5-7	8
<i>Erwinia carotovora</i>	5,6	7,1	9,3
<i>Clostridium sporogenes</i>	5,4	6-7,6	8,5-9
<i>Nitrosomonas spp.</i>	7,4	8-8,8	9,4
<i>Natronobacterium spp.</i> 	8,5	 10	12
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> 	1	 2-2,8	4-6
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4,3	5,8-6,6	6,8

ACTIVIDAD ACUOSA (Aw)



ACTIVIDAD ACUOSA (A_w)

- Medida de la disponibilidad de agua en el medio
- $A_w \neq$ Humedad (%)

Presión de vapor del agua de la solución (P)

- $A_w = \frac{\text{Presión de vapor del agua de la solución (P)}}{\text{Presión de vapor del agua pura (Po)}}$

Presión de vapor del agua pura (P_o)

$$A_w = 0 - 1$$

ACTIVIDAD ACUOSA (Aw)

Aw	Ambientes	Microorganismos
1,000	Agua pura	<i>Spirillum</i> sp.
0,995	Sangre humana	<i>Streptococcus</i> sp., <i>Escherichia</i> sp.,
0,980	Agua de mar	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Vibrio</i> sp.
0,950	Pan	Bacilos Gram positivos
0,900	Jamón	Cocos Gram Positivos
0,855	Chorizo	Levaduras
0,800	Mermeladas	Levaduras, <i>Penicillium</i> sp.
0,750	Pescado salado	<i>Halobacterium</i>, <i>Halococcus</i>
0,700	Cereales, frutos secos	<i>Xeromyces bisporus</i>, Hongos xerófilos

ACTIVIDAD ACUOSA EN ALIMENTOS Y MICROORGANISMOS

	ACTIVIDAD ACUOSA (aw)	ALIMENTOS	MICROORGANISMOS
1	0,98 y superior	Carnes y pescados frescos, verduras, leche.	Se multiplican la mayoría de los <u>gérmenes alterantes</u> y <u>todos los patógenos</u> transmitidos por alimentos.
0,98	0,98 – 0,93	Leche evaporada, pan, embutidos cocidos.	Se multiplican <u>enterobacterias</u> incluyendo <i>Salmonella</i> en los niveles superiores del rango y microbiota de alteración como las <u>bacterias lácticas</u> .
0,93	0,93 – 0,85	Carne vacuna desecada, leche condensada edulcorada.	Se multiplican <u>Staphylococcus aureus</u> y hongos productores de micotoxinas. <u>Levaduras y mohos</u> de alteración.
0,85	0,85 – 0,60	Harina, cereales, frutas secas	No se multiplican bacterias patógenas. Alteración por microorganismos <u>xerófilos, osmófilos y halófilos</u> .
0,60	Inferior a 0,60	Productos de repostería, fideos secos, galletitas, leche y huevo en polvo.	<u>No se multiplican los microorganismos, pero pueden permanecer viables por mucho tiempo.</u>

PATÓGENOS Y ACTIVIDAD ACUOSA

Valor mínimo de a_w para el desarrollo de microorganismos productores de E.T.A. (**bacterias**) a pH y temperaturas óptimas.

Patógeno	a_w
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,990
<i>Aeromonas hydrofila</i>	0,970
<i>Clostridium botulinum</i> E	0,970
<i>Shigella</i> sp.	0,960
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0,960
<i>Clostridium botulinum</i> G	0,965
<i>Clostridium botulinum</i> A y B	0,945
<i>Clostridium perfringens</i>	0,950
<i>Vibrio parahemolyticus</i>	0,940
<i>Salmonella</i> sp.	0,940
<i>Escherichia coli</i>	0,935
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,930
<i>Bacillus cereus</i>	0,930
<i>Bacillus subtilis</i>	0,910
<i>Staphylococcus aureus</i> (anaerobiosis)	0,910
<i>Staphylococcus aureus</i> (aerobiosis)	0,860

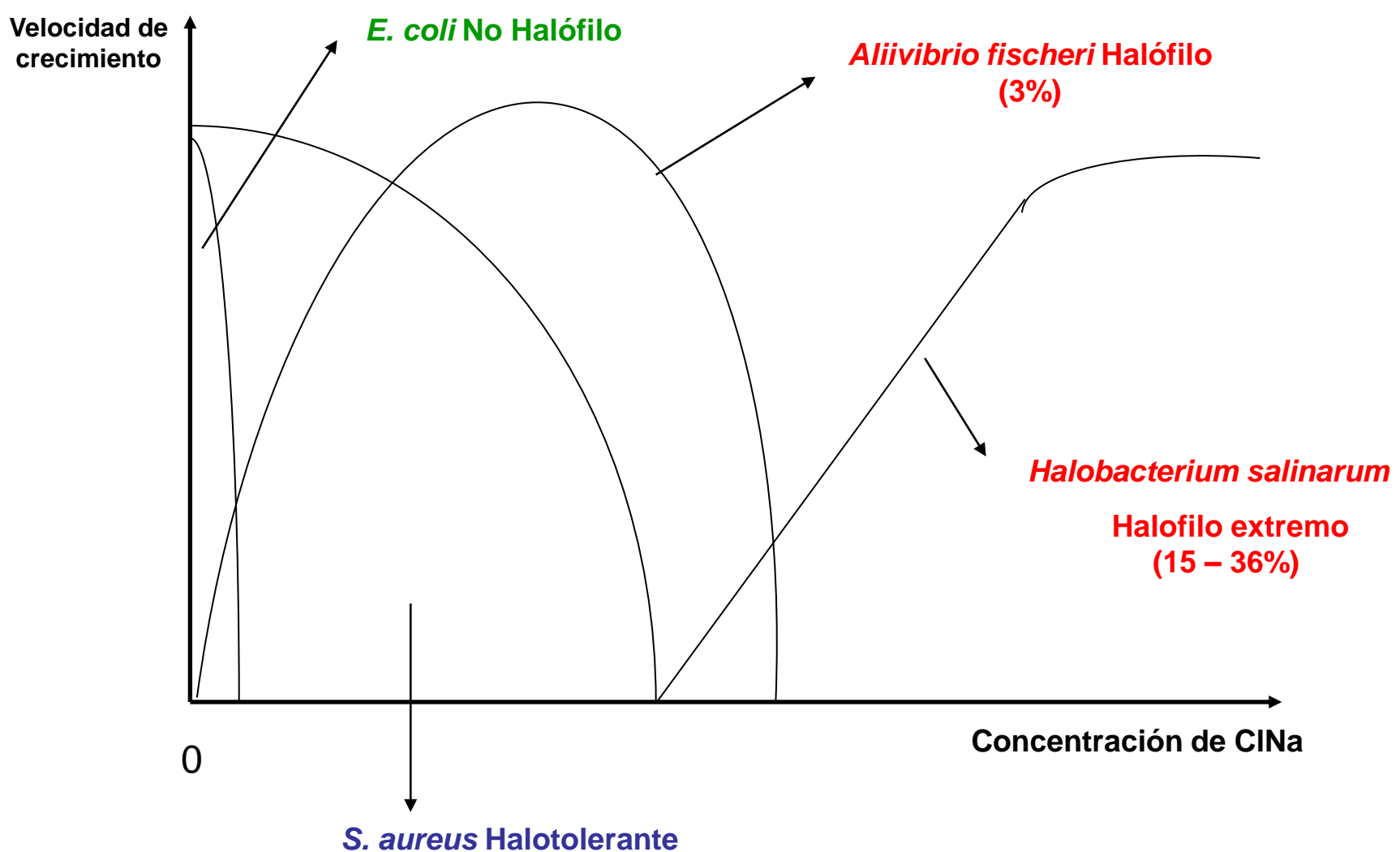
MICROORGANISMOS QUE CRECEN A BAJA a_w



- HALÓFILOS (Halotolerantes)
- SACARÓFILOS (Osmófilos)
- XERÓFILOS (Xerotolerantes)

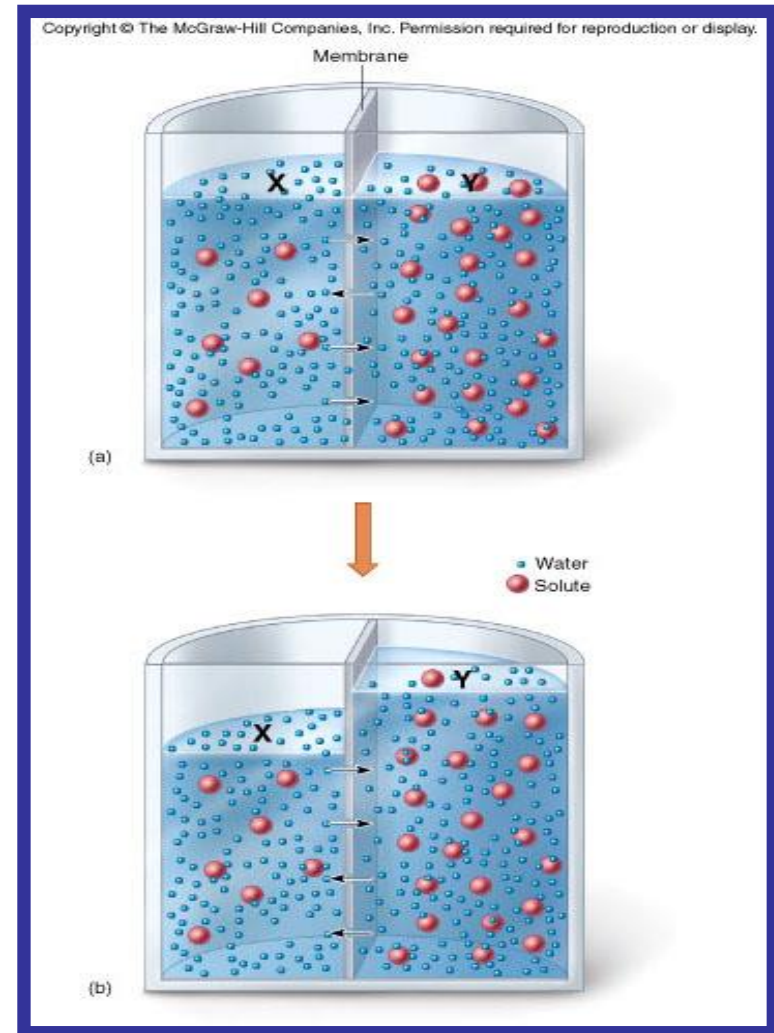


Efecto de la Concentración de ClNa



Osmosis

- Difusión de solvente (generalmente, agua) a través de membrana permeable pero selectiva
- El agua tiende a moverse hacia zonas con mayor concentración de solutos

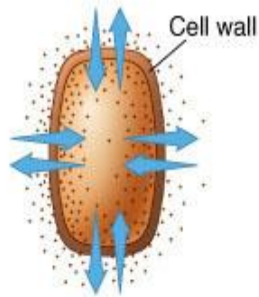


Tonicidad

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

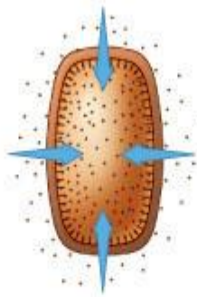
Cells with
Cell Wall

Isotonic



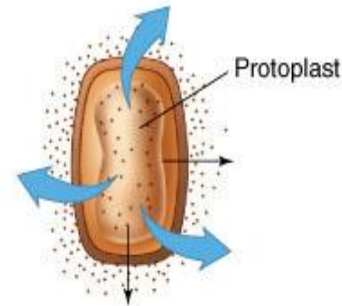
Water concentration is equal inside and outside the cell, thus rates of diffusion are equal in both directions.

Hypotonic



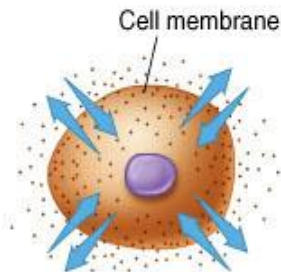
Net diffusion of water is into the cell; this swells the protoplast and pushes it tightly against the wall. Wall usually prevents cell from bursting.

Hypertonic

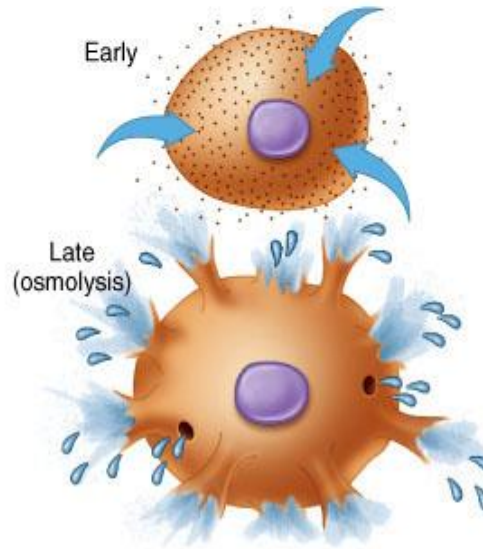


Water diffuses out of the cell and shrinks the protoplast away from the cell wall; process is known as **plasmolysis**.

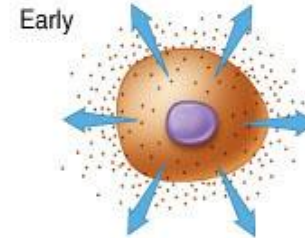
Cells Lacking
Cell Wall



Rates of diffusion are equal in both directions.



Diffusion of water into the cell causes it to swell, and may burst it if no mechanism exists to remove the water.



Water diffusing out of the cell causes it to shrink and become distorted.

➡ Direction of net water movement

Células en
diferentes
condiciones
osmóticas:
soluciones
isotónicas,
hipotónicas
e
hipertónicas

Relación **A_w**
y **presión**
osmótica

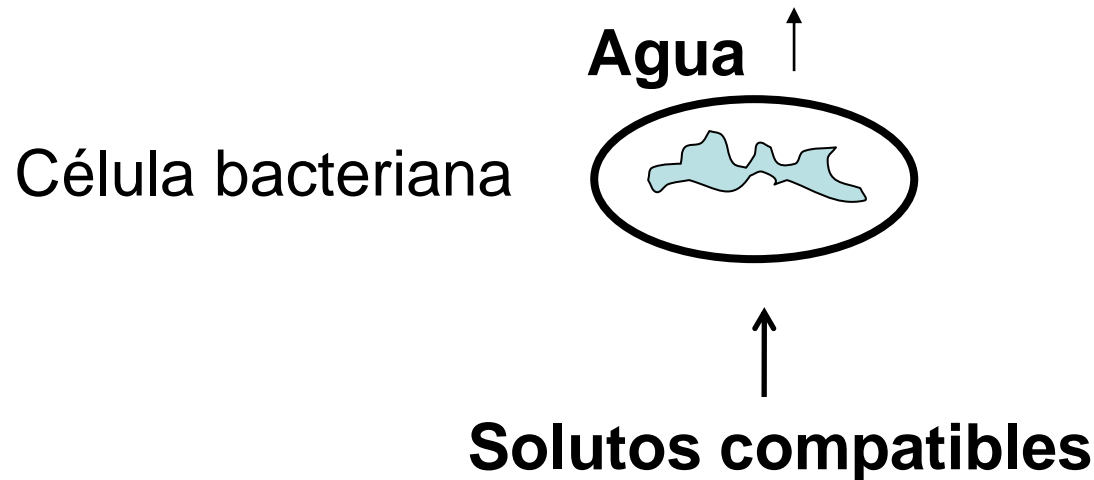
ACTIVIDAD ACUOSA

EFFECTO SOBRE LOS MICROORGANISMOS

BAJA a_w (Plasmólisis)

Incorporación/síntesis
solutos compatible

Consumo de energía



Soluto compatible: molécula o ión que se acumula en el citoplasma para regular a_w .

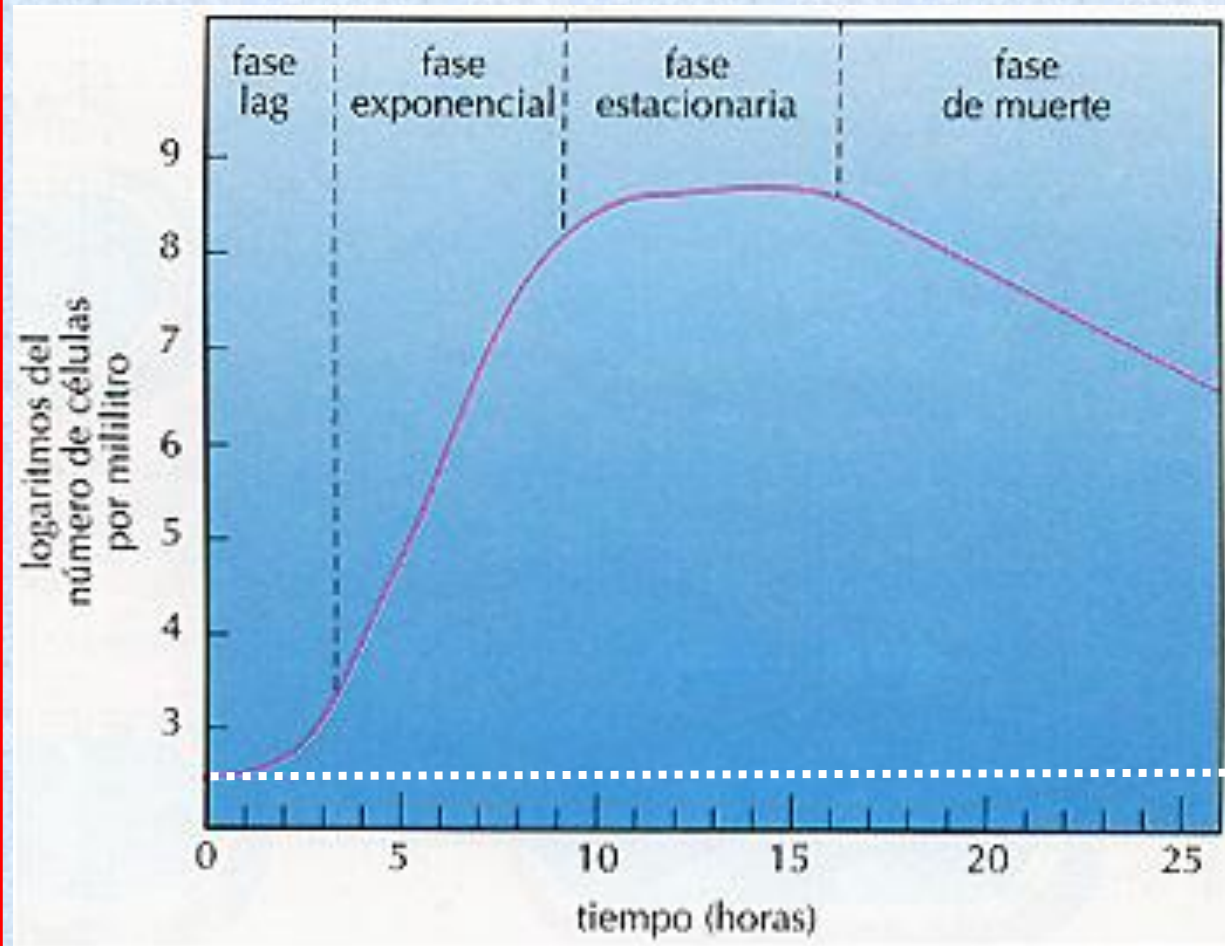
No inhibe procesos bioquímicos. Osmoprotectores

Solutos Compatibles

<i>Microorganismo</i>	<i>Principales solutos acumulados</i>	<i>Aw minima p/crecimiento</i>
Bacterias no fotótrofas	Glicina, prolina, glutamato	0,97-0,90
Cianobacterias de agua dulce	Sacarosa, Trehalosa	0,90
Cianobacterias marinas	Alfa- glucosilglicerol	0,92
Algas marinas	Manitol, prolina, glicósidos	0,90
Bacterias halófilas extremas <i>Halobacterium sp.</i>	KCl	0,75
<i>Dunaliella sp.</i> (alga verde halófila)	Glicerol	0,75
Levaduras xerófilas	Glicerol	0,83-0,62
Mohos xerófilos	Glicerol	0,72-0,61

Efecto de la reducción de a_w

- Inhibición del crecimiento
- Inhibición de la germinación de esporas
- **Aumento de la fase de latencia (lag)**
- **Disminución de la velocidad del crecimiento**
- **Disminución del número final de microorganismos**
- Inhibición de síntesis de toxinas; retraso de reacciones enzimáticas



OXÍGENO



I'M A
PROFESSIONAL
OXYGEN
CONVERTER



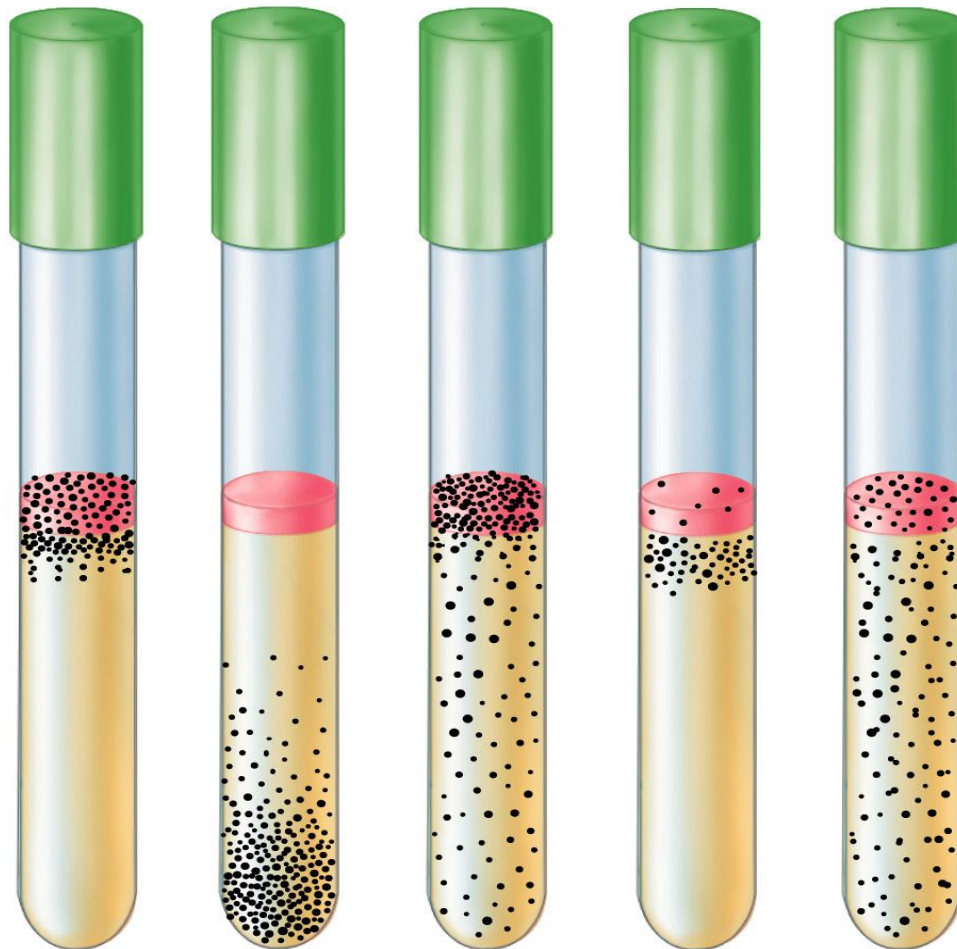
**«HE TENIDO UN DÍA
OCUPADÍSIMO
TRANSFORMANDO EL
OXÍGENO EN DIÓXIDO
DE CARBONO.»**

OXÍGENO

Clasificación	Relación con el O_2	Microorganismos	Hábitat
Aerobios estrictos	Necesario	<i>Micrococcus luteus</i>	Piel, polvo
Anaerobios facultativos	No necesario, crecen mejor con O_2	<i>Escherichia coli</i>	Intestino
Microaerófilos	Necesario a bajas tensiones	<i>Spirillum volutans</i>	Lagos
Anaerobios aerotolerantes	No necesario, no crecen mejor con O_2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Tracto respiratorio superior
Anaerobios estrictos	Dañino o Letal	<i>Methanobacterium formicicum</i>	Sedimentos anóxicos

Clasificación de los microorganismos de acuerdo a su tolerancia al O₂

Cultivos en caldo Tioglicolato
(resazurina)



- a) **Aerobios estrictos**
- b) **Anaerobios estrictos**
- c) **Anaerobios facultativos**
- d) **Microaerófilos**
- e) **Anaerobios aerotolerantes**

Reducción del O₂ a H₂O

Generación de formas tóxicas del oxígeno

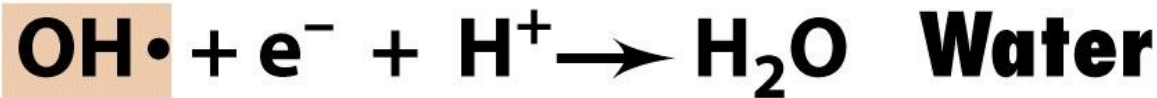
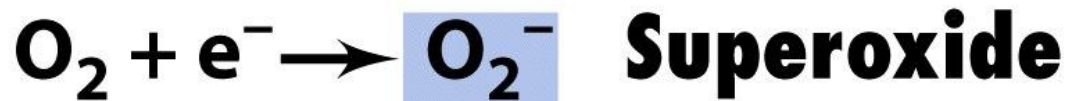
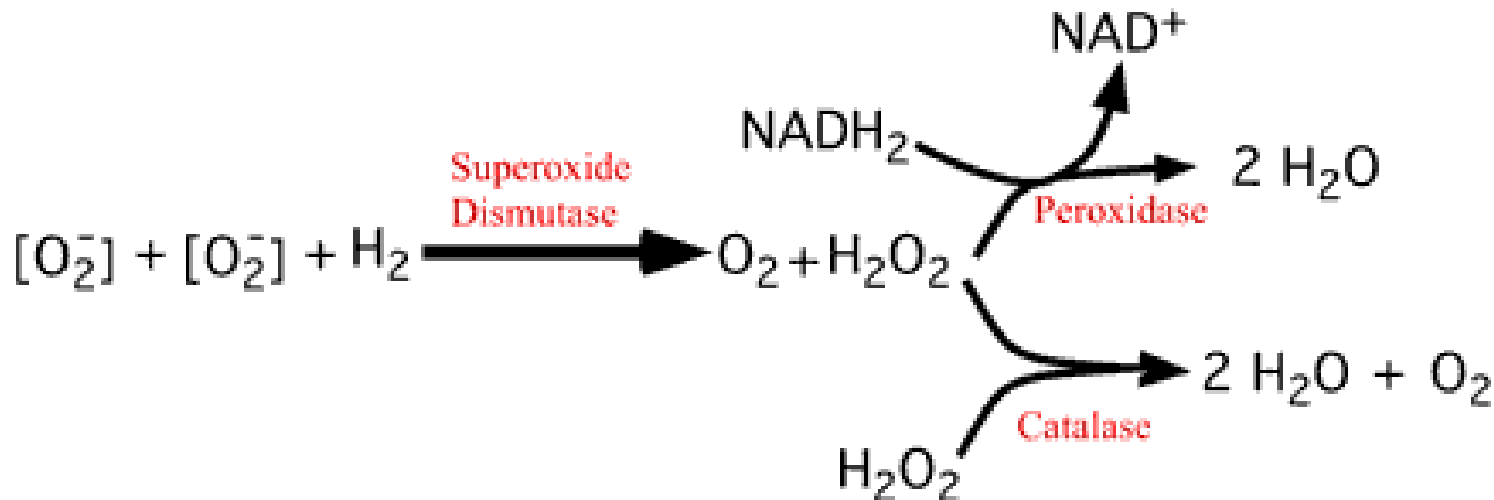


Figure 6-27 Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

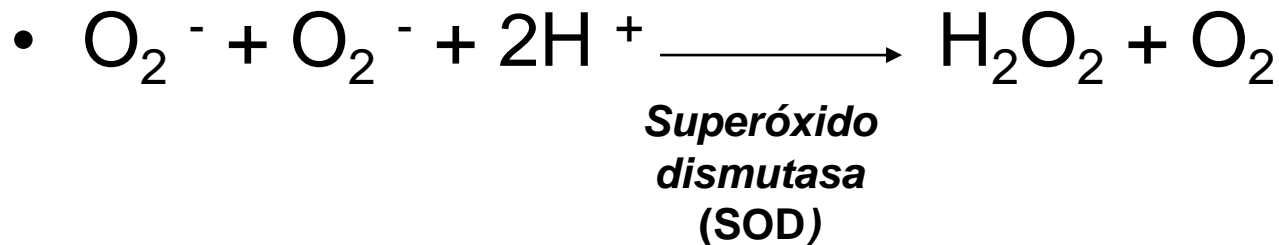
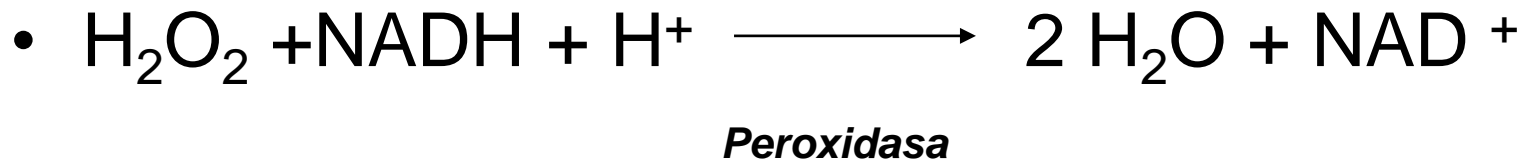
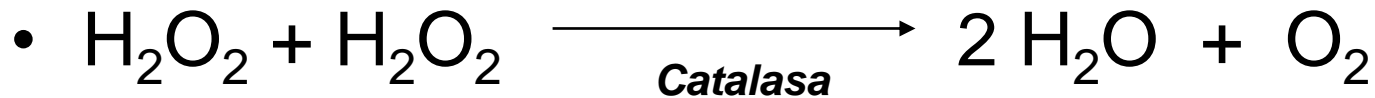
La respuesta de un organismo al O_2 depende de la presencia de varias enzimas que reaccionan con él y con varios radicales generados por las células.

Por ejemplo, la **oxidación de las flavoproteínas** da origen a la formación de H_2O_2 como el producto mayoritario y pequeñas cantidades del radical **superóxido** que es aún más tóxico. Por lo tanto, todos los organismos que pueden vivir en presencia del O_2 (ya sea que lo utilicen o no), contienen **superoxido dismutasa**. Además la mayoría de estos organismos (aerobios) contienen la enzima catalasa capaz de descomponer el peróxido, o alguna enzima equivalente en el caso de los anaerobios aerotolerantes (peroxidasa).

Los **anaerobios obligados** han perdido la superóxido dismutasa y catalasa y/o peroxidasa por lo que la presencia del oxígeno es letal.



Reacciones enzimáticas



Prueba de la catalasa

negativa

positiva

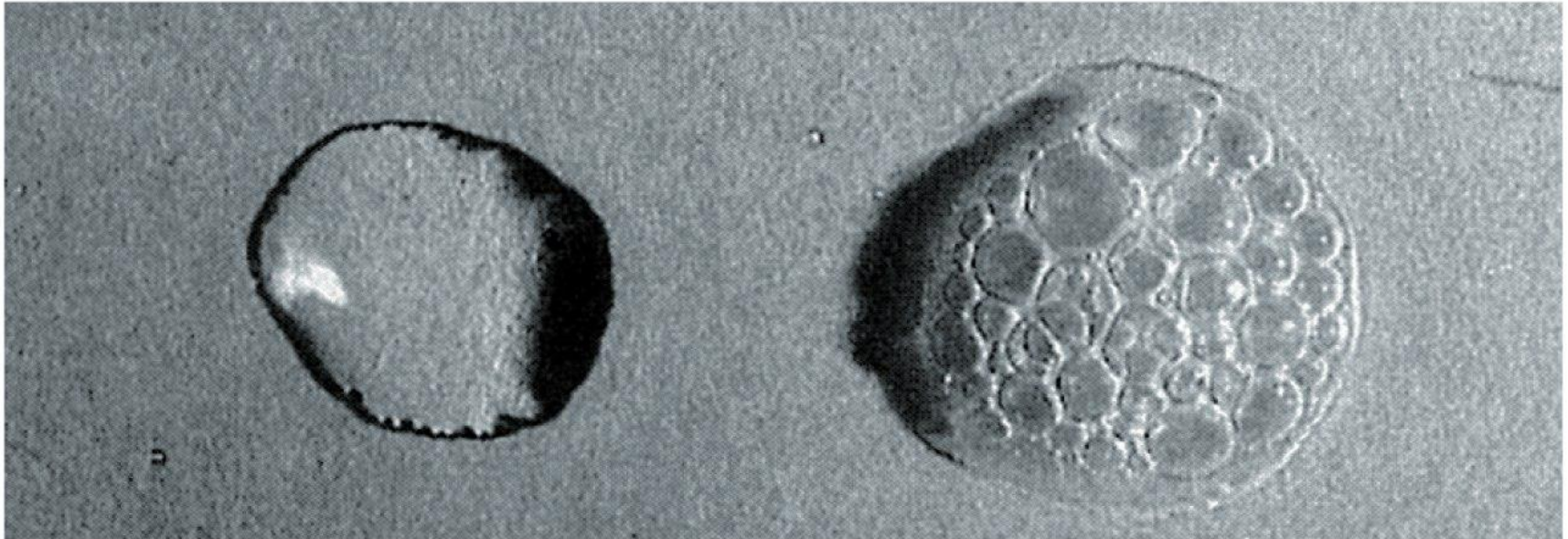
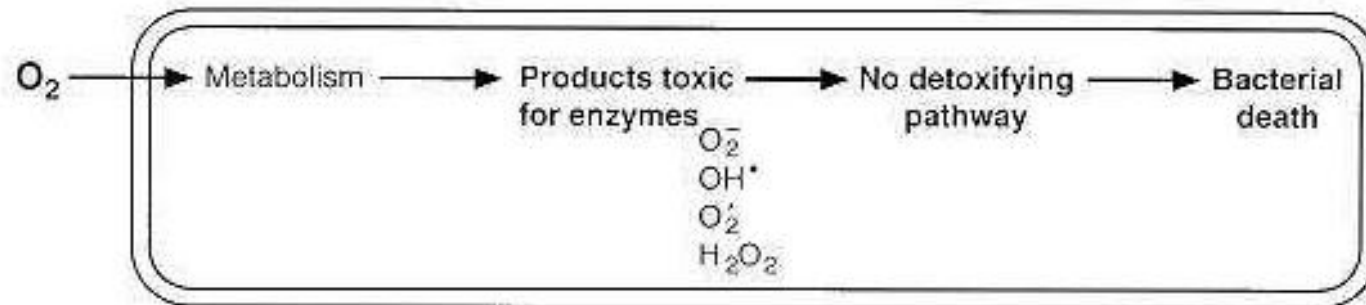


Figure 6-29 Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

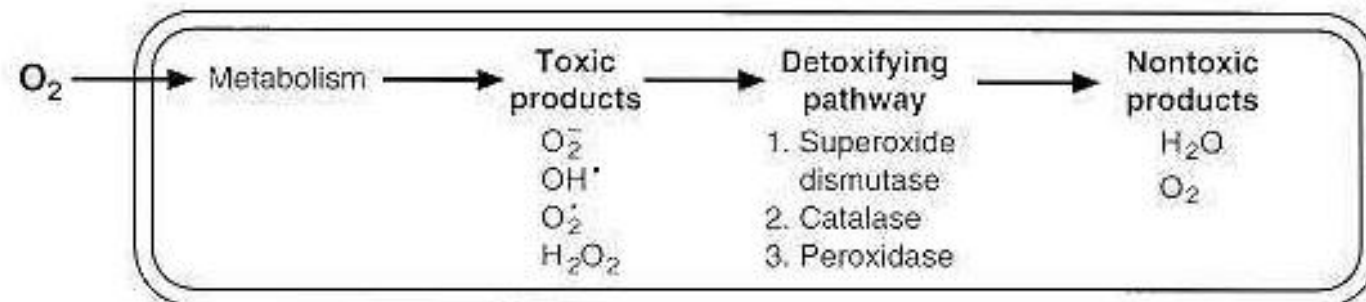
T. D. Brock



Anaerobic Bacteria



Aerobic or Facultative Bacteria



Group	Superoxide dismutase	Catalase	Peroxidase
Obligate aerobes and most facultative anaerobes (e.g. Enterics)	+	+	-
Most aerotolerant anaerobes (e.g. Streptococci)	+	-	+
Obligate anaerobes (e.g. Clostridia, Methanogens, Bacteroides)	-	-	-

ENZIMAS

Clasificación	Presencia de Catalasa	Presencia de superoxido dismutasa	Microorganismo
Aerobios estrictos	Presente	Presente	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Anaerobios facultativos ("aerobios facultativos")	Presente	Presente	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Microaerófilos	Presente	Presente	<i>Campylobacter jejuni</i>
Anaerobios aerotolerantes ("aerodúricos")	Ausente (función cumplida por peroxidasas)	Presente	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Anaerobios estrictos	Ausente	Ausente	<i>Clostridium sp.</i>

Relación Oxígeno - Microorganismos


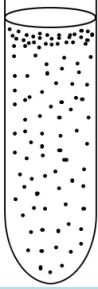



Table 6.4 Oxygen relationships of microorganisms

Group	Relationship to O ₂	Type of metabolism	Example ^a	Habitat ^b
Aerobes				
Obligate	Required	Aerobic respiration	<i>Micrococcus luteus</i> (B)	Skin, dust
Facultative	Not required, but growth better with O ₂	Aerobic respiration, anaerobic respiration, fermentation	<i>Escherichia coli</i> (B)	Mammalian large intestine
Microaerophilic	Required but at levels lower than atmospheric	Aerobic respiration	<i>Spirillum volutans</i> (B)	Lake water
Anaerobes				
Aerotolerant	Not required, and growth no better when O ₂ present	Fermentation	<i>Streptococcus pyogenes</i> (B)	Upper respiratory tract
Obligate	Harmful or lethal	Fermentation or anaerobic respiration	<i>Methanobacterium formicicum</i> (A)	Sewage sludge digestors, anoxic lake sediments


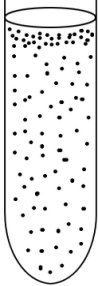



^a Letters in parentheses indicate phylogenetic status (B, *Bacteria*; A, *Archaea*). Representatives of either domain of prokaryotes are known in each category. Most eukaryotes are obligate aerobes, but facultative aerobes (for example, yeast) and obligate anaerobes (for example, certain protozoa and fungi) are known.

^b Listed are typical habitats of the example organism.

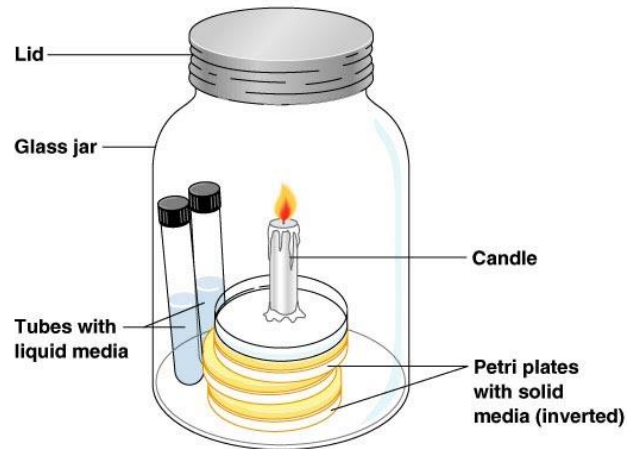
Relación Oxígeno – Microorganismos quimiótrofos

Clasificación	Relación con Oxígeno	Enzimas			Metabolismo energético	Ejemplo	Crec. en caldo tioglicolato
		Catalasa	Peroxidasa	SOD			
Aerobios estrictos						<i>Pseudomonas</i>	
Anaerobios facultativos “aerobios facultativos”						<i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i> ; Levaduras	
Microaerófilos						<i>Campylobacter</i>	
Anaerobios aerotolerantes “aerodúricos”						Bacterias lácticas (<i>Lactobacillus</i>)	
Anaerobios estrictos						<i>Clostridium</i>	

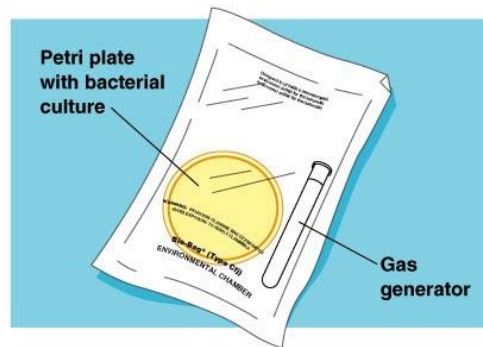
Relación Oxígeno – Microorganismos quimiótrofos

Clasificación	Relación con Oxígeno	Enzimas			Metabolismo energético	Ejemplo	Crec. en caldo tioglicolato
		Catalasa	Peroxidasa	SOD			
Aerobios estrictos	Necesario	+	+/-	+	Respiración aeróbica	<i>Pseudomonas</i>	
Anaerobios facultativos “aerobios facultativos”	No necesario, crecen mejor con O₂	+	+/-	+	Respiración Aeróbica Respiración Anaeróbica Fermentación	<i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i> ; Levaduras	
Microaerófilos	Necesario a bajas tensiones	+	+/-	+	Respiración aeróbica	<i>Campylobacter</i>	
Anaerobios aerotolerantes “aerodúricos”	No necesario, no crecen mejor con O₂	-	+	+	Fermentación	Bacterias lácticas (<i>Lactobacillus</i>)	
Anaerobios estrictos	Dañino o Letal	-	-	-	Respiración Anaeróbica Fermentación	<i>Clostridium</i>	

Cultivo de microorganismos anaerobios



(a) Candle jar. Plates and tubes inoculated with, for example, *Neisseria meningitidis* are placed in a jar with a lighted candle, and the jar is sealed. The burning candle reduces the O_2 concentration to a point where the flame goes out. This will provide a CO_2 atmosphere of approximately 3%.



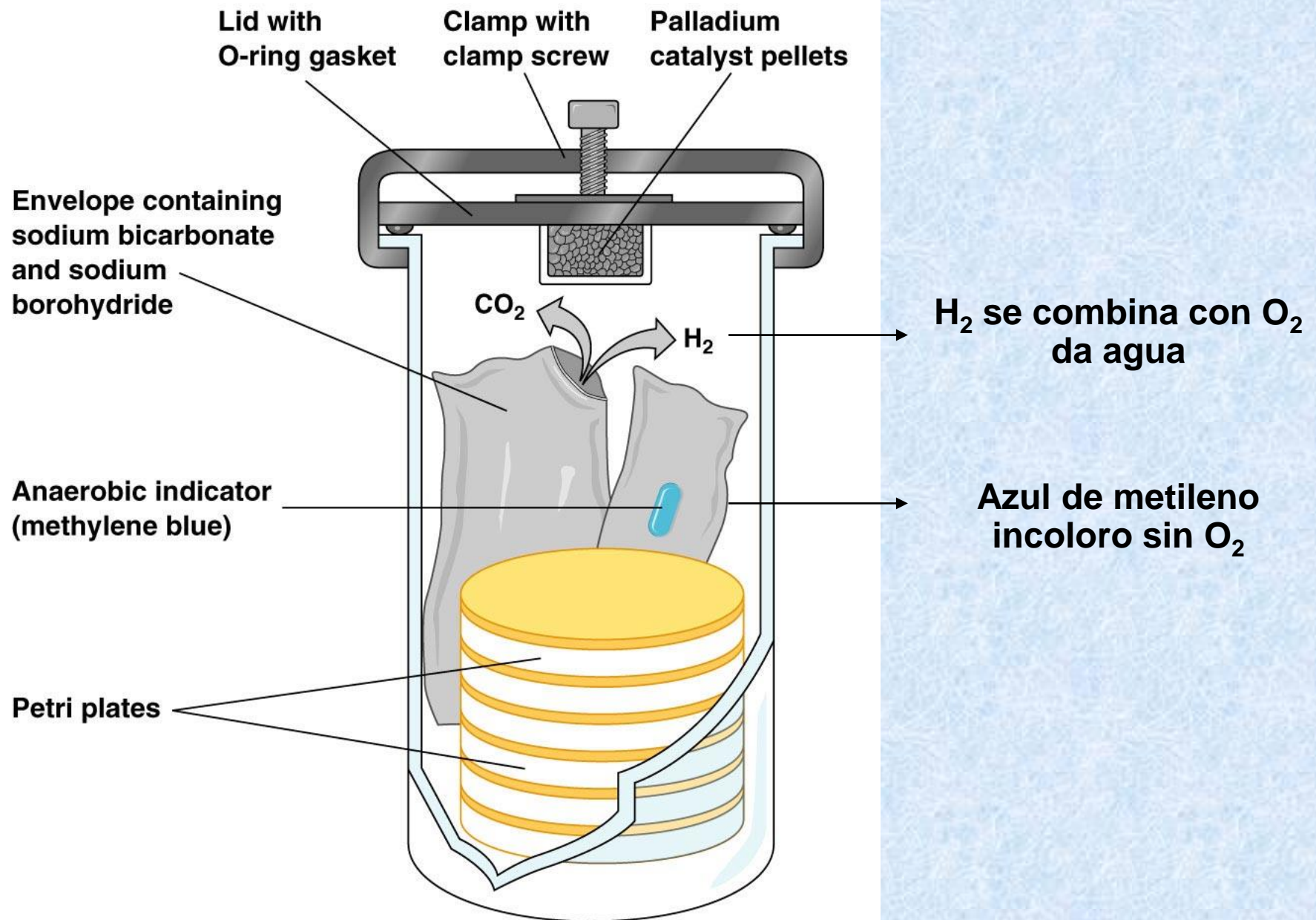
(b) CO_2 -generating packet. The packet consists of a bag containing a Petri plate and a CO_2 gas generator. The gas generator is crushed to mix the chemicals it contains and start the reaction that produces CO_2 . This gas reduces the O_2 concentration in the bag to about 5% and provides a CO_2 concentration of about 10%.

Copyright © 2007 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

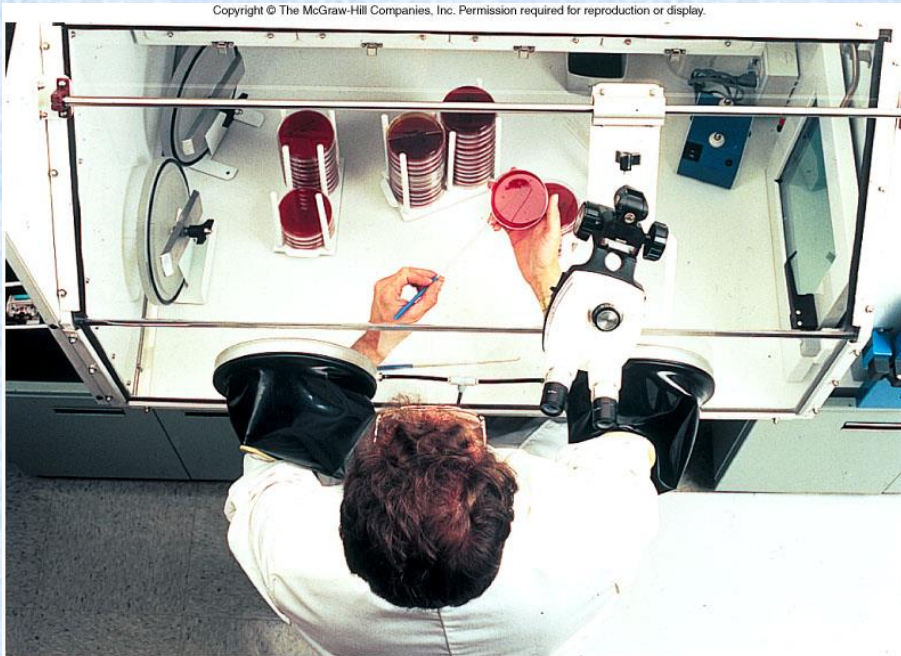


(a)

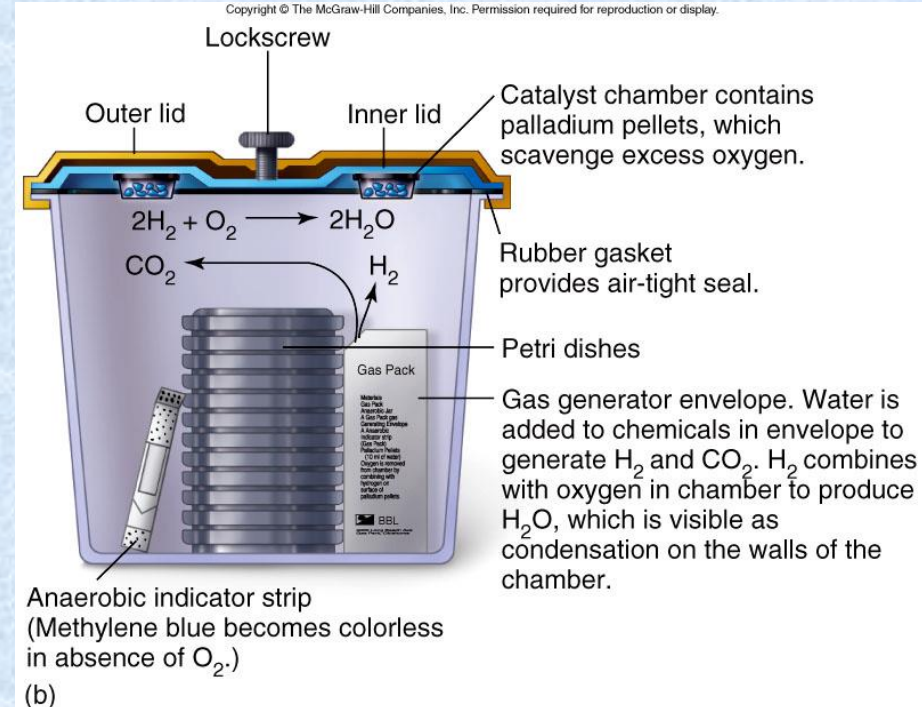
Deborah O. Jung and M. T. Madigan



Anaerobiosis



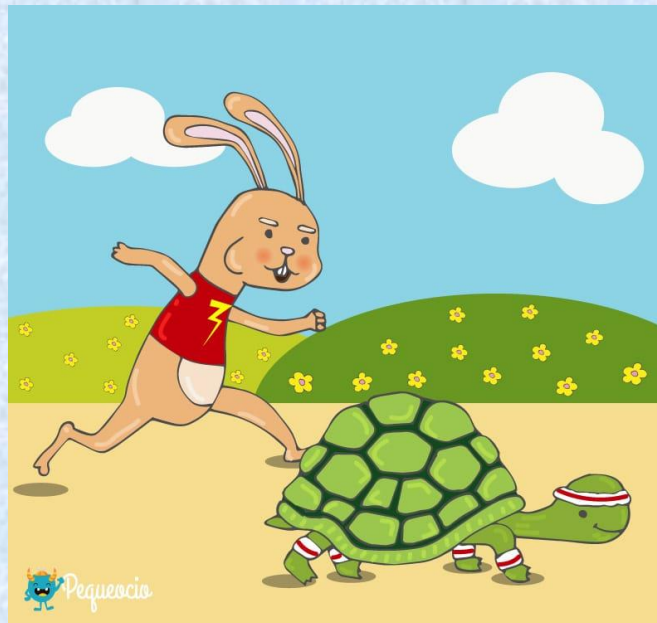
(a)



(b)

Técnicas de cultivo anaeróbicas: (a) cámara anaerobica, (b) jarra anaerobica

TIPOS Y EJEMPLOS DE EXTREMÓFILOS



TIPOS Y EJEMPLOS DE EXTREMÓFILOS

Extremo	Término descriptivo	Género/ especie	Dominio	Hábitat	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura elevada	Hipertermófilo	<i>Pyrolobus fumarii</i>	Archaea	Caliente, fuentes hidrotermales submarinas	90°C	106°C	113°C
		<i>Geogemma barossii</i>					122 °C
		<i>Methanopyrus kandleri</i>					
Temperatura baja	Psicrófilo	<i>Polaromonas vacuolata</i>	Bacteria	Hielo marino	0°C	4°C	12°C
		<i>Psychromonas ingrahamii</i>			-12 °C	5 °C	10 °C
pH bajo	Acidófilo	<i>Picrophilus oshimae</i>	Archaea	Fuentes termales ácidas	- 0,06	0,7 ^b	4
pH alto	Alcalófilo	<i>Natronobacterium gregoryi</i>	Archaea	Lagos carbonatados	8,5	10 ^c	12
Presión	Barófilo	<i>Moritella yayanosiii</i>	Bacteria	Sedimentos oceánicos profundos	500 atm	700 atm	> 1000 atm
Sal (NaCl)	Halófilo	<i>Halobacterium salinarum</i>	Archaea	Salinas	15 %	25 %	32 % (saturación)

AUTOEVALUACIÓN

- 1) Explique el proceso de división binaria
- 2) Explique la diferencia entre velocidad de crecimiento y tiempo de generación y cómo se calcula cada uno de estos parámetros.
- 3) Un cultivo en un medio de cultivo rico se inicia con 4 células bacterianas/ml, presenta un tiempo de latencia de 1 hora y un tiempo de generación de 20 minutos. ¿Cuántas células habrá en 1 litro de ese cultivo tras 1 hora de incubación? ¿Y tras 2 horas?
- 4) Calcule el tiempo de generación en un experimento de crecimiento en el que el medio se inoculó con 5×10^6 cel/ml de *E. coli* y después de una hora de fase de adaptación creció exponencialmente durante 5 horas, siendo entonces la población de $5,4 \times 10^9$ cel/ml.
- 5) En una curva de crecimiento de *E. coli* en cultivo batch, a) indique en qué fase de la curva se dividen las células de una manera regular y ordenada; b) ¿Cuándo puede no presentarse fase de latencia?; ¿por qué entran las células en fase estacionaria y qué cambios se producen en ellas?
- 6) Explique las diferencias entre un sistema cerrado de cultivo y un quimiostato
- 7) ¿Cuáles son las temperaturas cardinales de *E. coli*? ¿Cómo se clasifica por su temperatura óptima de crecimiento?
- 8) Explique las diferencias entre psicrófilo – psicrótrofo – hipertermófilo.
- 9) Explique las adaptaciones a las bajas y a las altas temperaturas de los microorganismos psicrófilos e hipertermófilos, respectivamente.
- 10) ¿Qué es la Taq polimerasa y por qué es importante?
- 11) ¿Qué son los tampones y para que se usan?
- 12) ¿Qué es un soluto compatible? Mencione un soluto compatible en especies de *Halobacterium*
- 13) Explique las diferencias entre una bacteria anaerobia facultativa y una anaerobia aerotolerante, y señale una especie de cada una de ellas.

Duplicación de la población

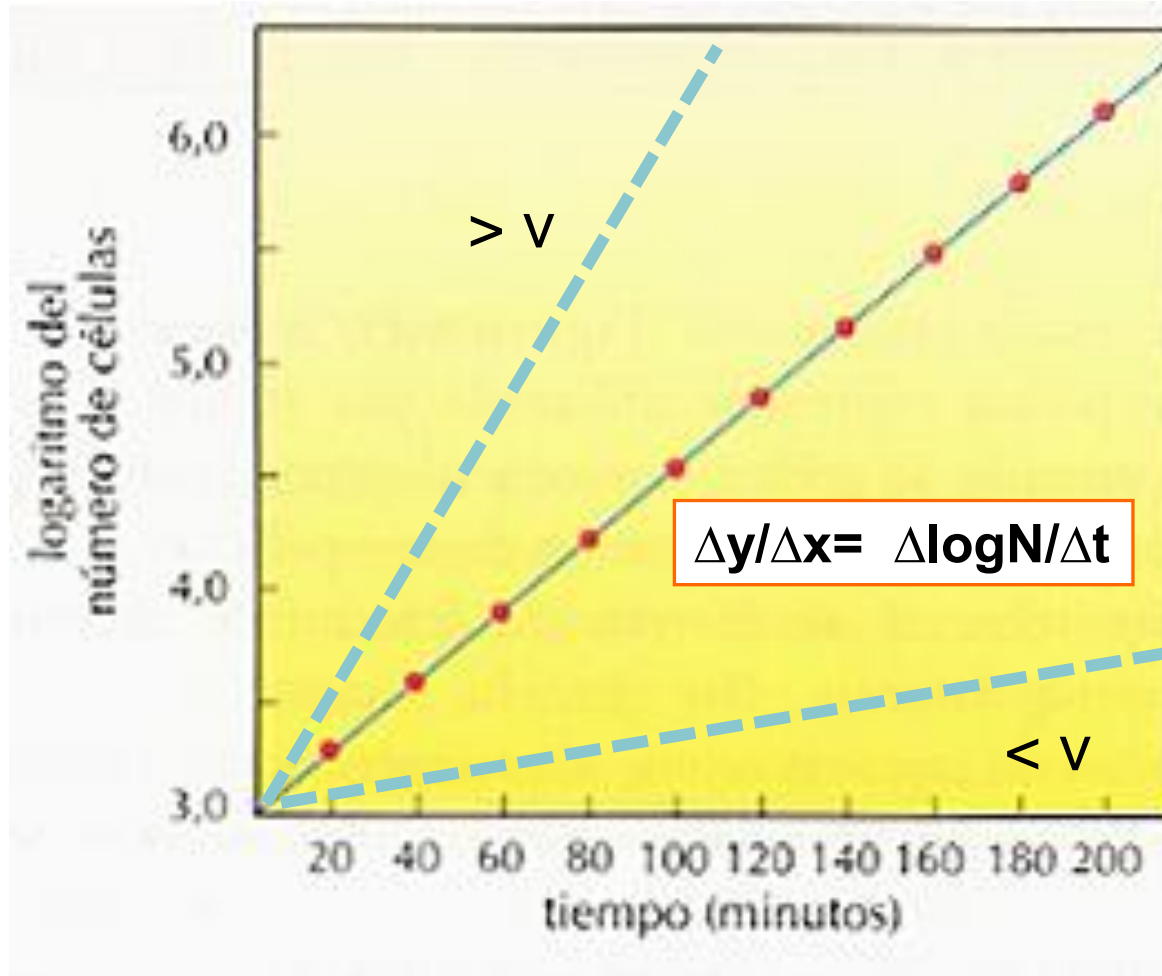
$$N_f = N_0 \cdot 2^n$$

$$\text{Log } N_f - \text{log } N_0 = n \log 2$$

n

$$g = \text{tiempo } (t - t_0) / n$$

$$v = n / \text{tiempo } (t - t_0)$$
$$v = 1 / g$$



Bibliografía

Brock, Thomas D. y Madigan, Michael T.. Microbiología; 6a ed. México, D.F. : Prentice Hall, 1993.

Código de Biblioteca: 576.8/B928a

Madigan M., Martinko J., Parker J. Brock Biología de los microorganismos. Prentice Hall. 8° Ed. en adelante ...

Tortora, Gerard J., Funke, Berdell R. y Case, Christine L.. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana, 2017. Cap. 6

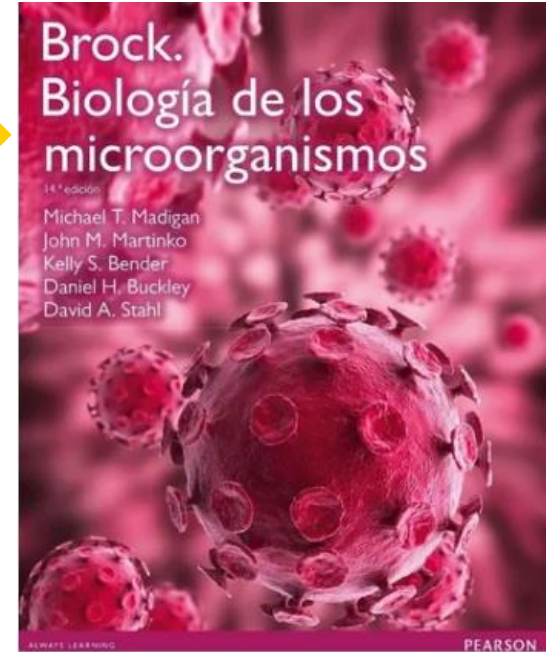
http://aulacidta5.usal.es/aulavirtual/Demos/microbiologia/unidades/documentos/uni_02/58/texthtml/cap802.htm

<http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/index.htm>

Libros digitales disponibles

Madigan M., Martinko J., y otros. 2015. 14°Ed

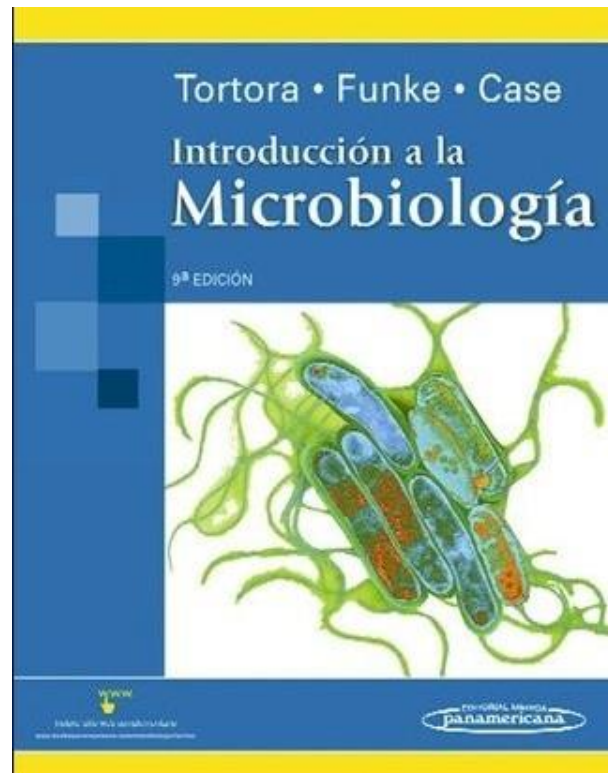
Brock. Biología de los microorganismos.



Introducción y estructuras procariotas: Cap. 2

Crecimiento microbiano: Cap. 5

Metabolismo microbiano: Cap. 3



Tortora G., Funke B. y Case C. 2007. 9° Ed

Introducción a la microbiología.

Introducción y estructura procariotas: Cap. 4

Crecimiento microbiano: Cap. 6 (Control: Cap. 7)

Metabolismo microbiano: Cap. 5

Nos vemos ...

Metabolismo y otras cuestiones...

