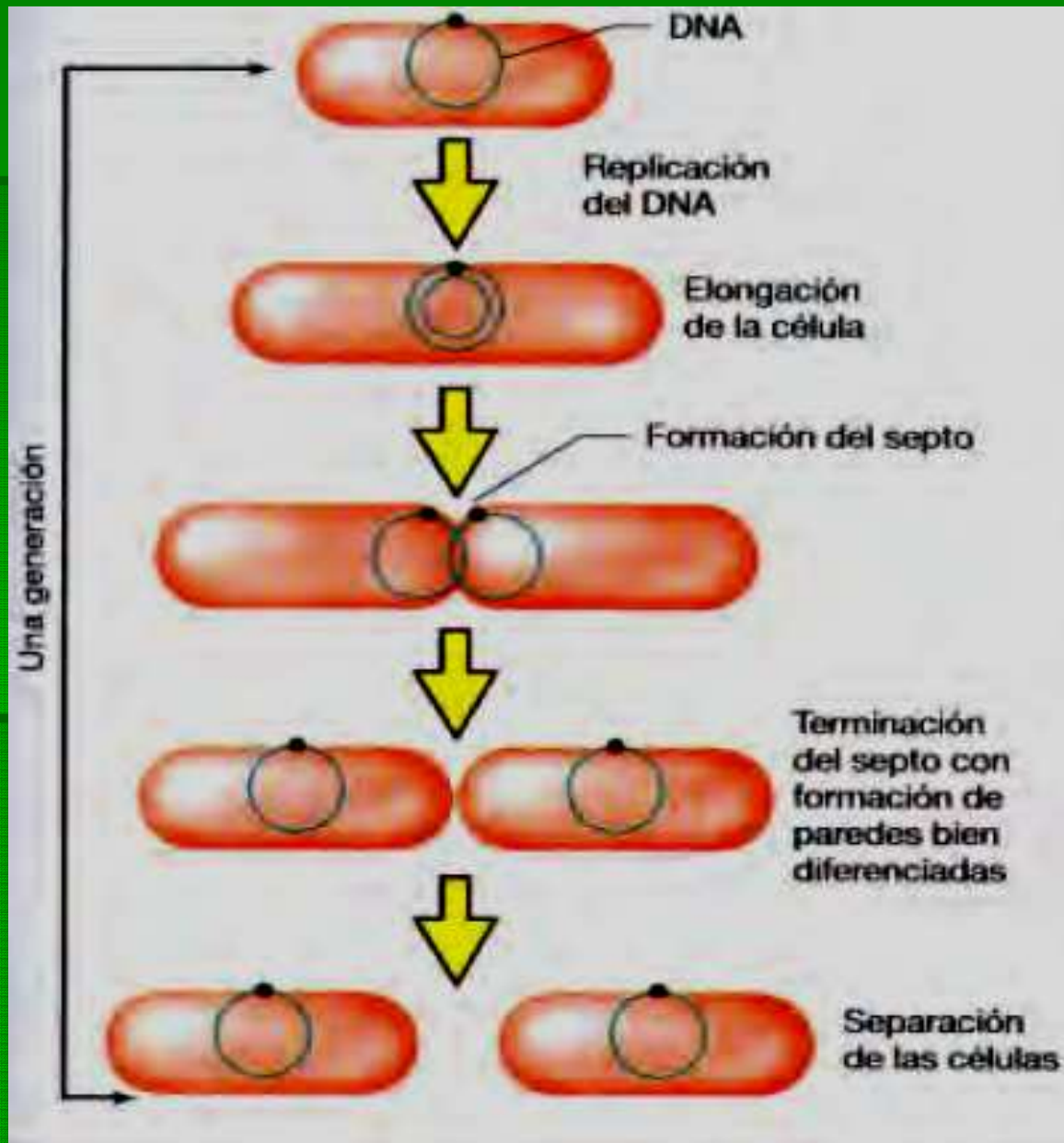


CRECIMIENTO MICROBIANO

Fisión binaria



PROTEINAS **Fts** (filamentous temperature sensitive): esenciales para la división celular

Forman en la célula un aparato de división que se llama **divisoma**

Distribuidas en procariotas incluyendo *Archea*, mitocondrias y cloroplastos

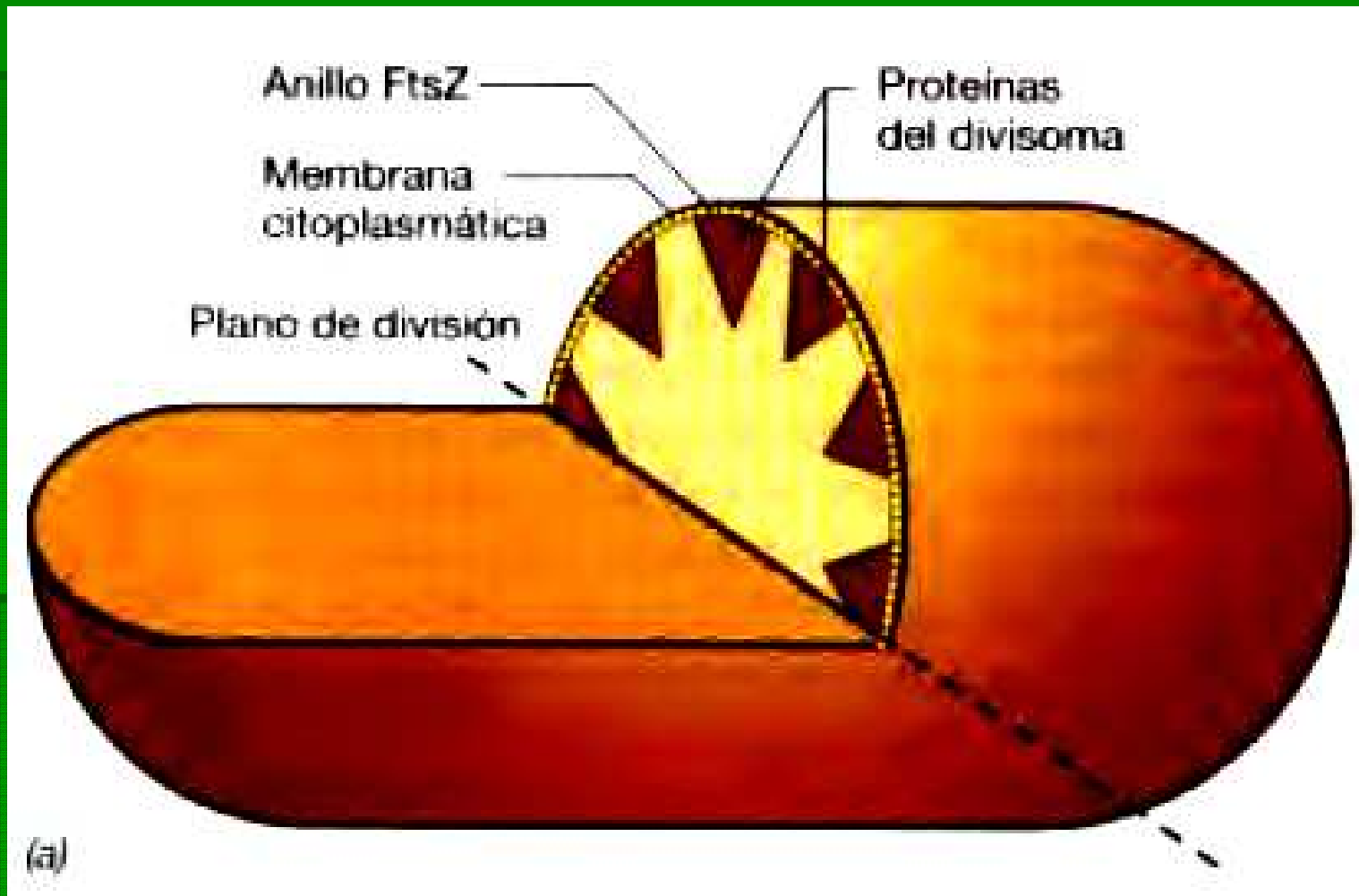
El **divisoma** dirigir la síntesis de nuevos materiales de membrana y de pared ocurre una constricción para formar las 2 células hijas.

PROTEÍNAS **Min**

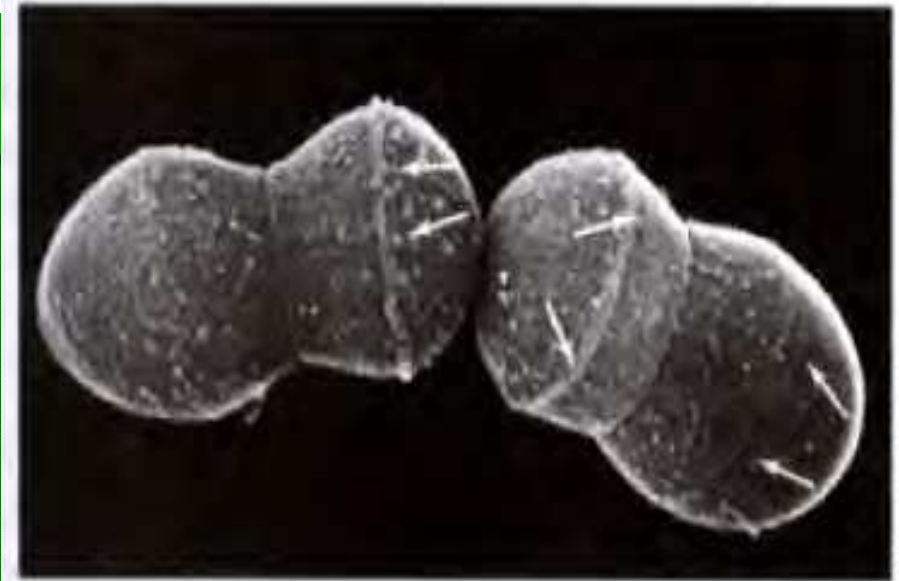
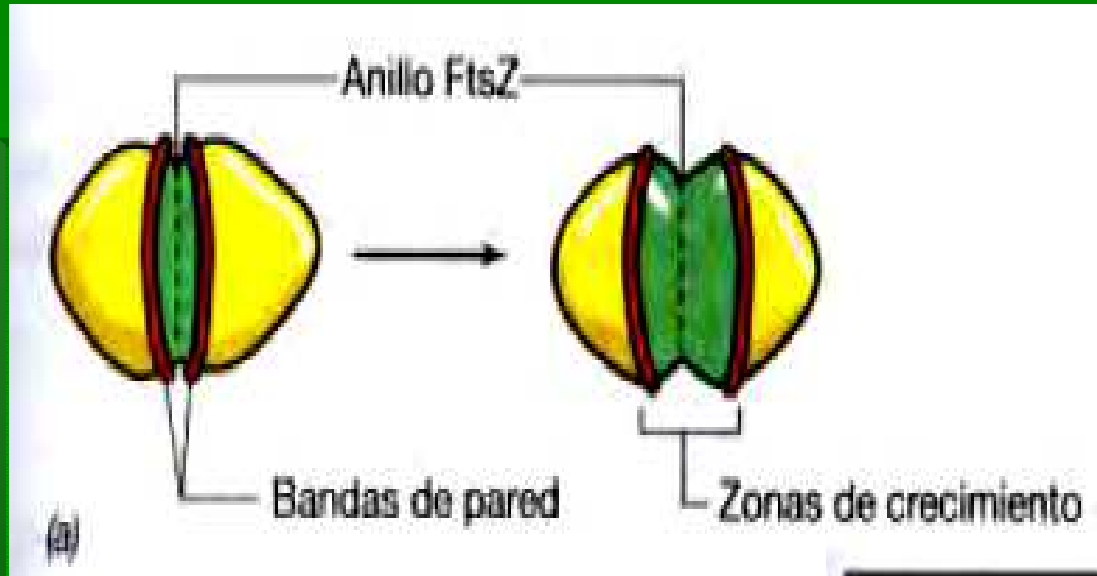
Min E localización del punto medio real e interacciona con los nucleoides duplicados.

Mre B determina la forma en procariotas. forma una especie de citoesqueleto en Bacteria y probablemente también en *Archea* . Homóloga a la actina

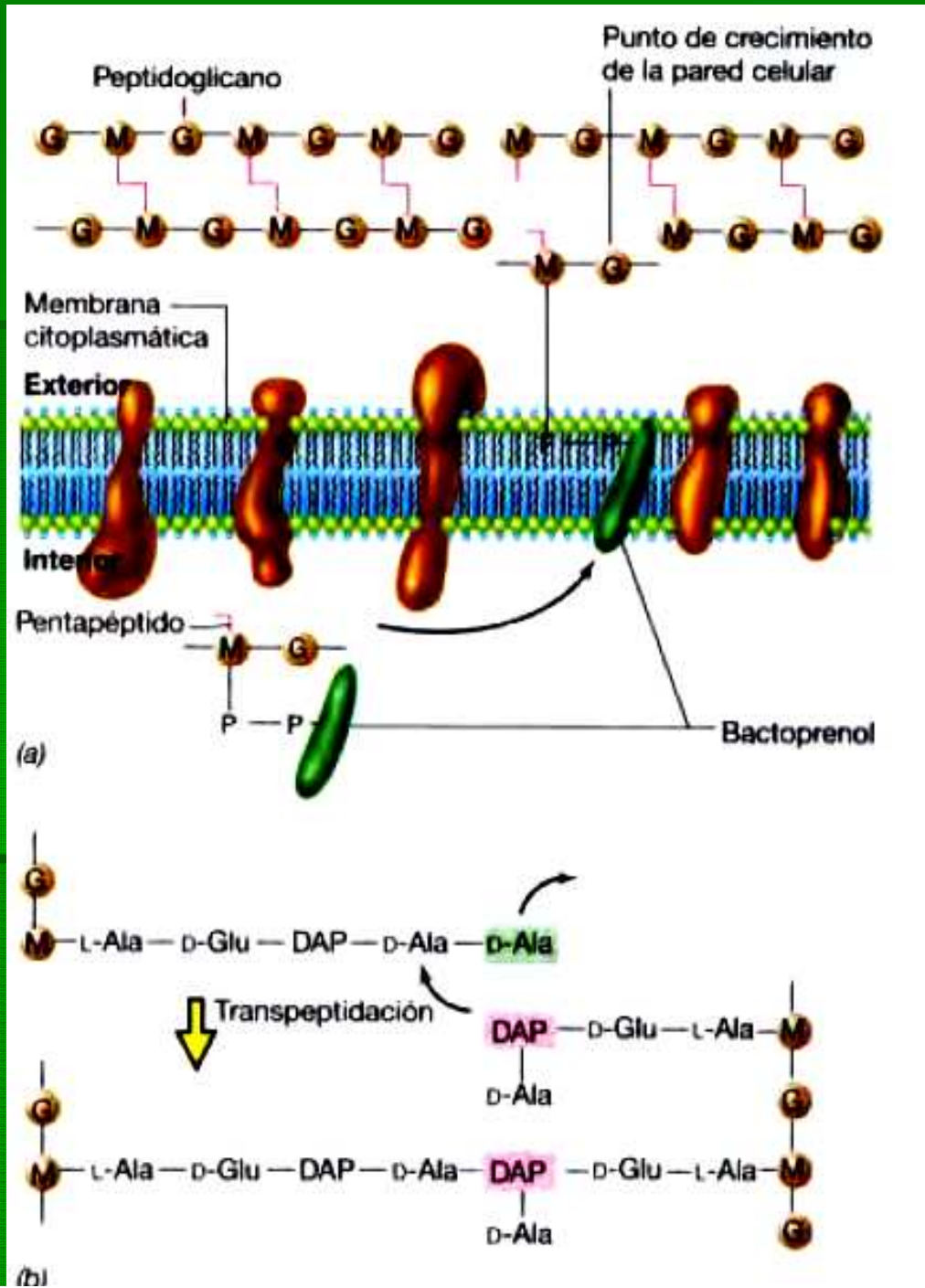
Proteínas Fts y el plano de la división celular:



Síntesis del peptidoglicano y división celular



Biosíntesis del peptidoglicano:



Crecimiento de poblaciones

Incremento de la masa celular

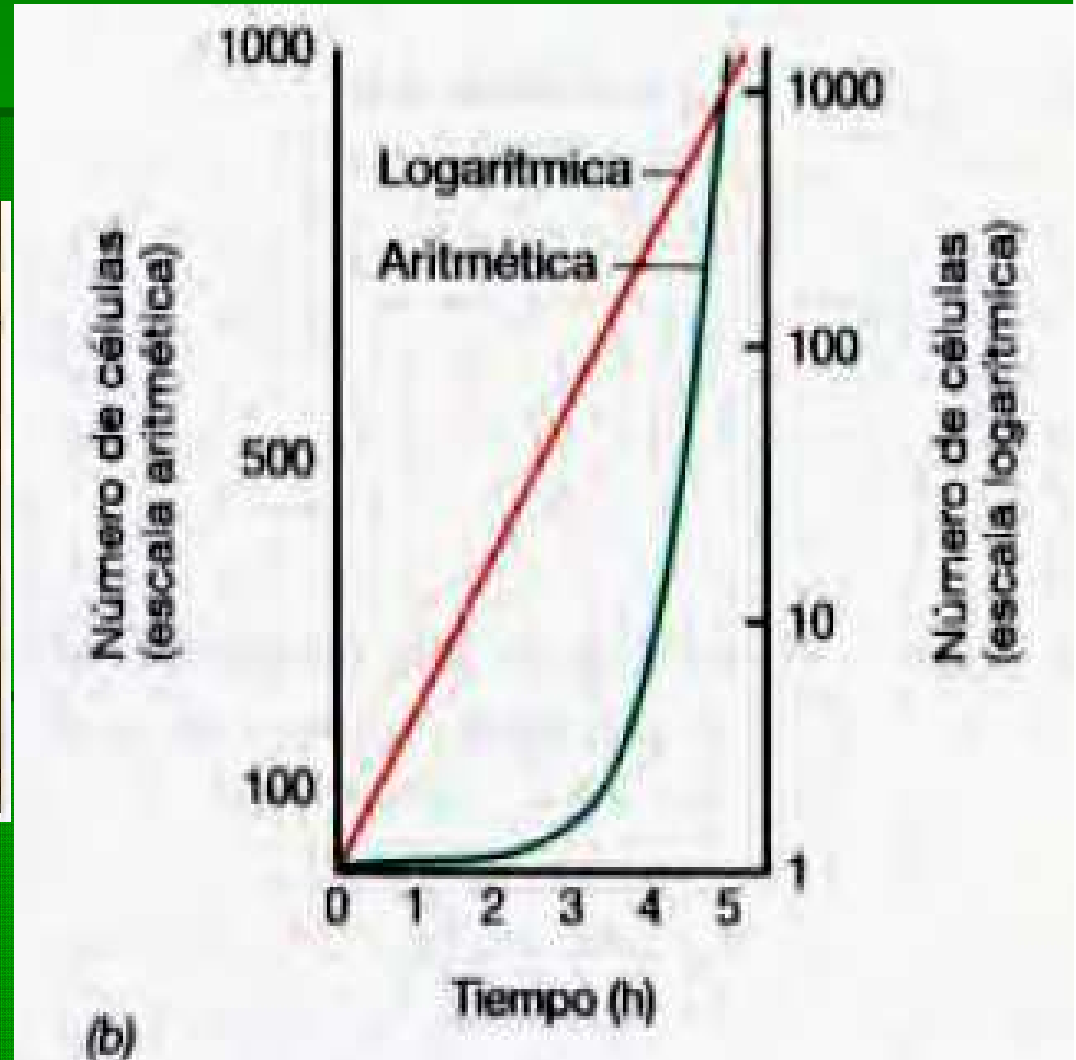
Aumento en el número de células microbianas

- La **velocidad de crecimiento** es el cambio en el número de células o en la masa celular experimentado por **unidad de tiempo**
- **Generación**: intervalo para la formación de dos células a partir de una
- **Tiempo de generación o tiempo de duplicación**: el tiempo transcurrido para que ocurra una generación

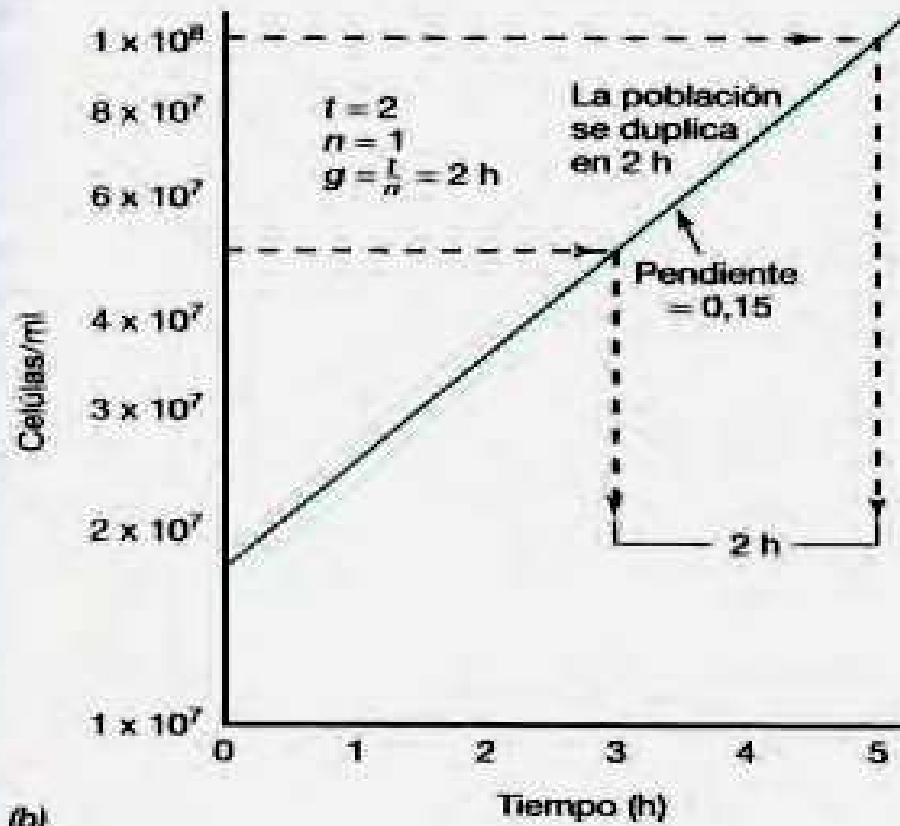
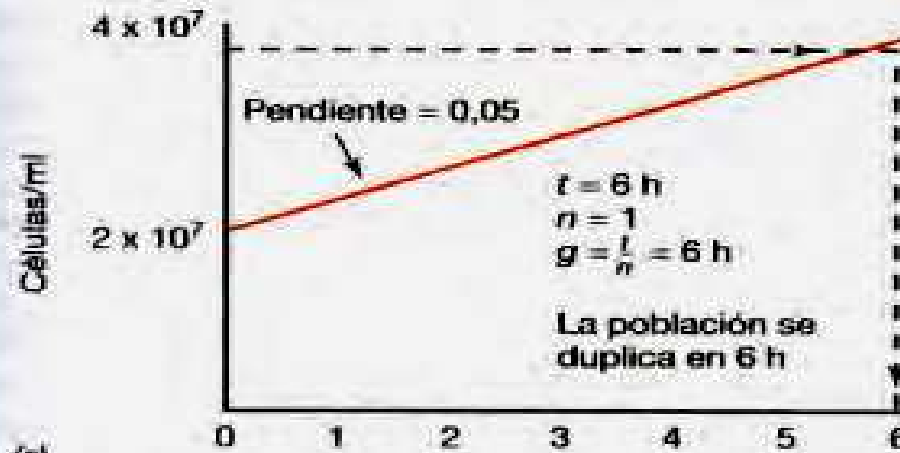
Crecimiento exponencial

La población *duplica el número de células*, en un periodo fijo de tiempo

Tiempo (h)	Numero total de células	Tiempo (h)	Numero total de células
0	1	4	256
0,5	2	4,5	512
1	4	5	1024
1,5	8	5,5	2048
2	16	6	4096
2,5	32		
3	64		
3,5	128	10	1 048 576



Parámetros del crecimiento



$$N = N_0 2^n$$

$$\log N = \log N_0 + n \log 2$$

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

$$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2} = \frac{\log N - \log N_0}{0,301}$$

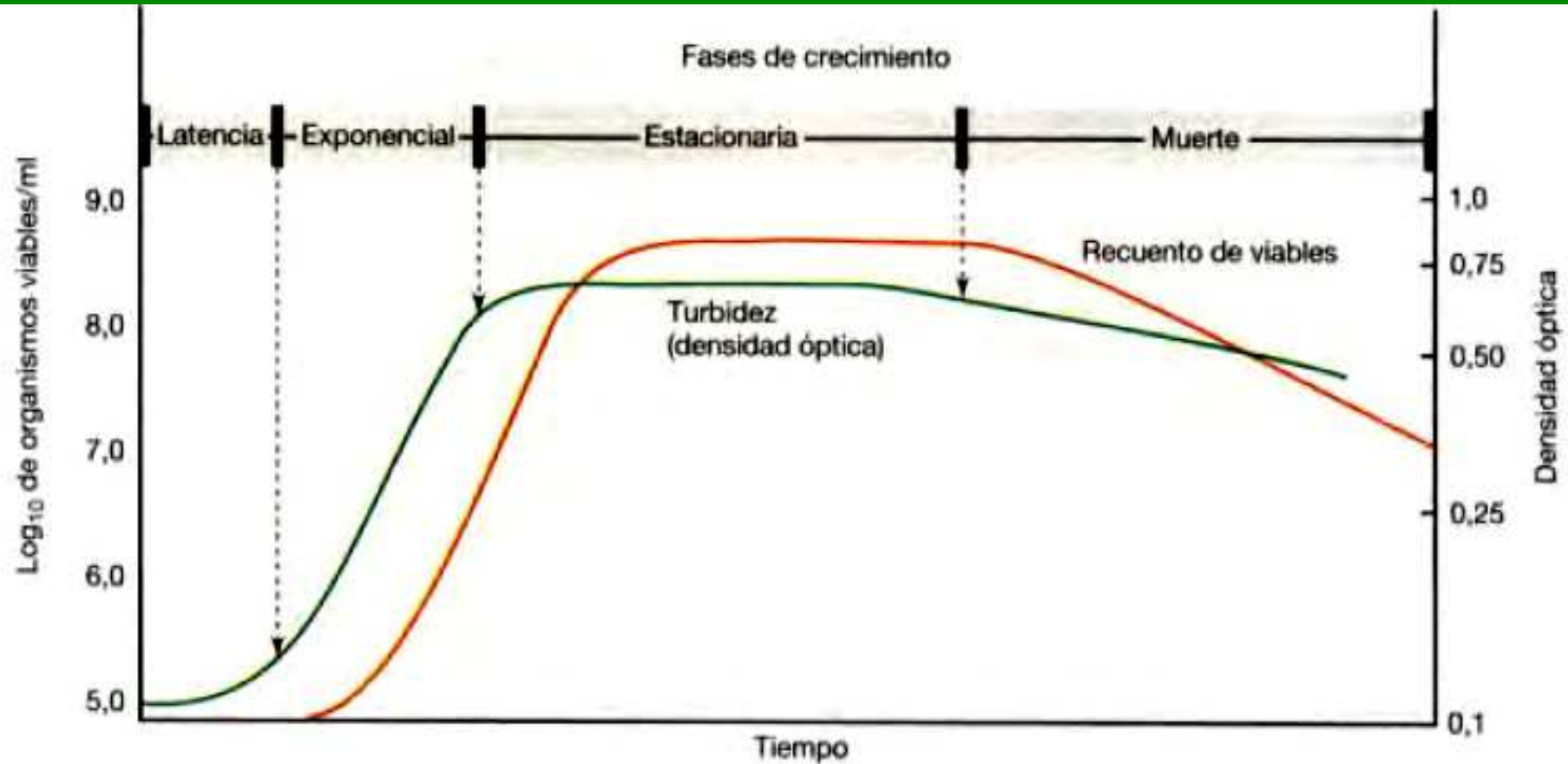
$$= 3,3 (\log N - \log N_0)$$

N: número final de células,
No: número inicial de células
n: número de generaciones
g = t/n: tiempo de generación,
t: horas o minutos de crecimiento exponencial.

$$N = 10^8, \quad N_0 = 5 \times 10^7, \quad t = 2$$

n = ?, g = ?

Curva de crecimiento



Medidas del crecimiento microbiano

■ Métodos Directo

Recuento microscópico directo

Contador electrónico (Coulter counter)

Recuento en filtro de membrana

Recuento de células viables

Número más probable NMP

■ Métodos Indirectos

Turbidimétrico

Peso seco

Determinación
Química

Nitrógeno total

Acido nucleico

Enzima específica

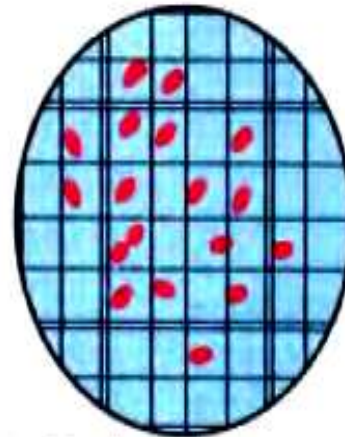
Actividad metabólica

Recuento de células totales

Recuento microscópico directo



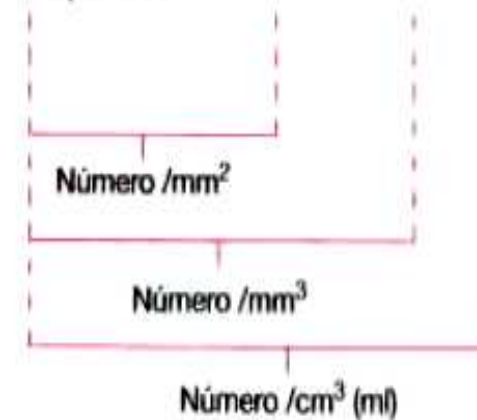
La muestra se añade aquí con cuidado para que no rebose; el espacio entre el portaobjetos y el cubreobjetos es de 0,02 mm ($\frac{1}{50}$ mm). La rejilla tiene 25 cuadrados grandes, un área total de 1 mm² y un volumen total de 0,02 mm³.



Observación microscópica; se cuentan las células en un cuadrado grande: 12 células (en la práctica se cuentan varios cuadros y se halla la media.)



Para calcular el número por mililitro de muestra: 12 células x 25 cuadrados grandes x 50 x 10³ = 1,5 x 10⁷.



Procedimiento de recuento microscópico directo utilizando una cámara de tipo Petroff-Hausser.

Recuento microscópico directo

Ventaja: método rápido

Limitaciones

- ✓ No distingue las células vivas de las muertas
- ✓ Las células pequeñas son difíciles de ver con el microscopio y algunas posiblemente se pierden en el recuento
- ✓ La precisión es difícil
- ✓ Se requiere un microscopio de contraste de fases cuando las muestras no se tiñen
- ✓ El método no suele ser adecuado para suspensiones con baja densidad celular
- ✓ Las células móviles se deben inmovilizar antes del recuento.

Recuento de células viables: Recuento en placa o recuento de colonias.

- Método de extensión en placa
- Método de vertido en placa.

0,1ml

Recuento: 30 – 300 ufc/ml

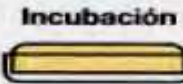
Siembra por extensión



La muestra (0,1 ml o menos) se pipetea sobre la superficie de la placa con agar



La muestra se extiende uniformemente sobre la superficie del agar usando un asa de vidrio estéril



Incubación



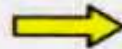
Resultado típico de la siembra por extensión

Siembra por vertido en placa

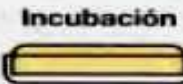
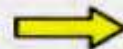


La muestra se pipetea en la placa estéril

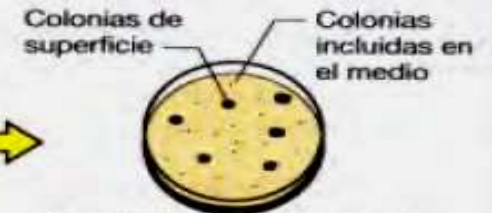
0,1-1,0 ml



Se añade medio estéril y se mezcla bien con el inóculo



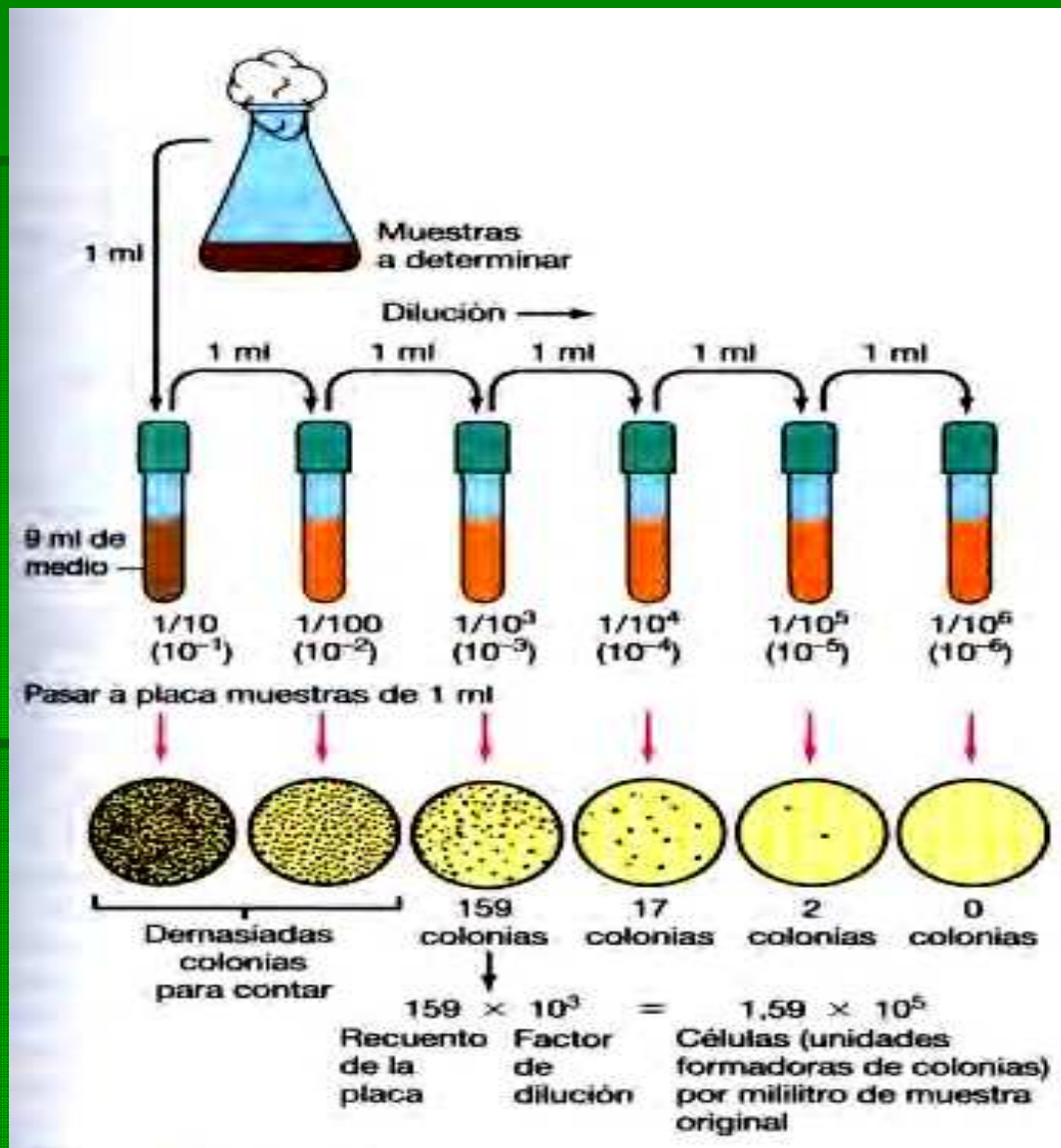
Incubación



Resultado típico del vertido en placa

El resultado se expresa como: Unidades Formadoras de Colonias (ufc/ml),

Determinación de células viables usando diluciones seriadas de la muestra y el método de vertido en placa



Recuento de células viables: Recuento en placa o recuento de colonias.

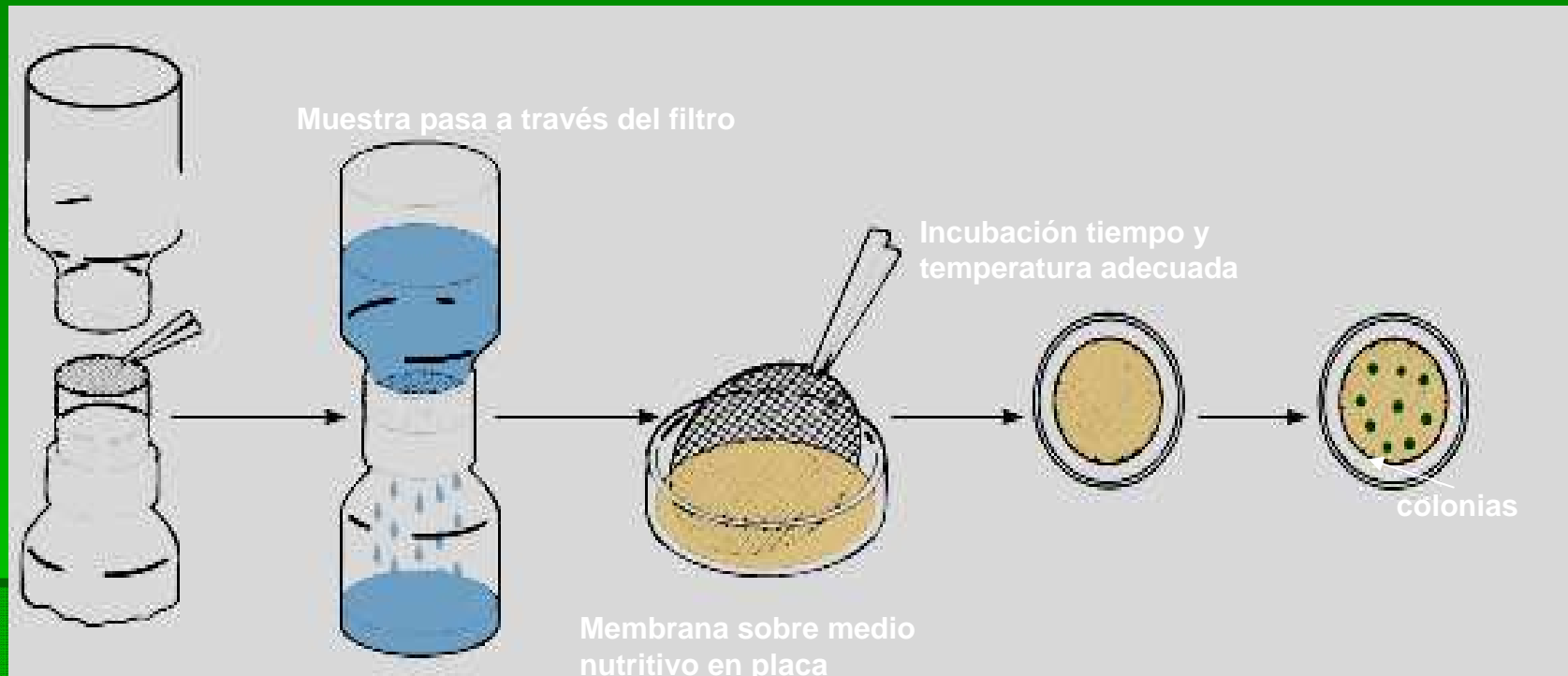
Ventajas

- ✓ Cuenta células vivas
- ✓ Elevada sensibilidad
- ✓ Se pueden contar muestras con pocas células
- ✓ El uso de medios selectivos y ciertas condiciones de cultivo permite contar tipos celulares en una población mixta.

Fuentes de error en el recuento en placa

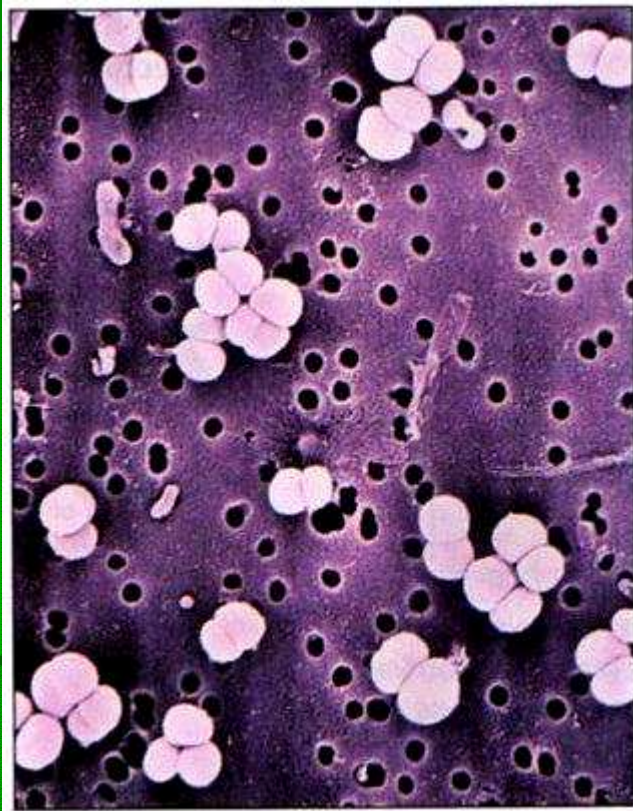
- ✓ El tamaño del inóculo
- ✓ El medio de cultivo
- ✓ La incubación

Recuento en filtro de membrana

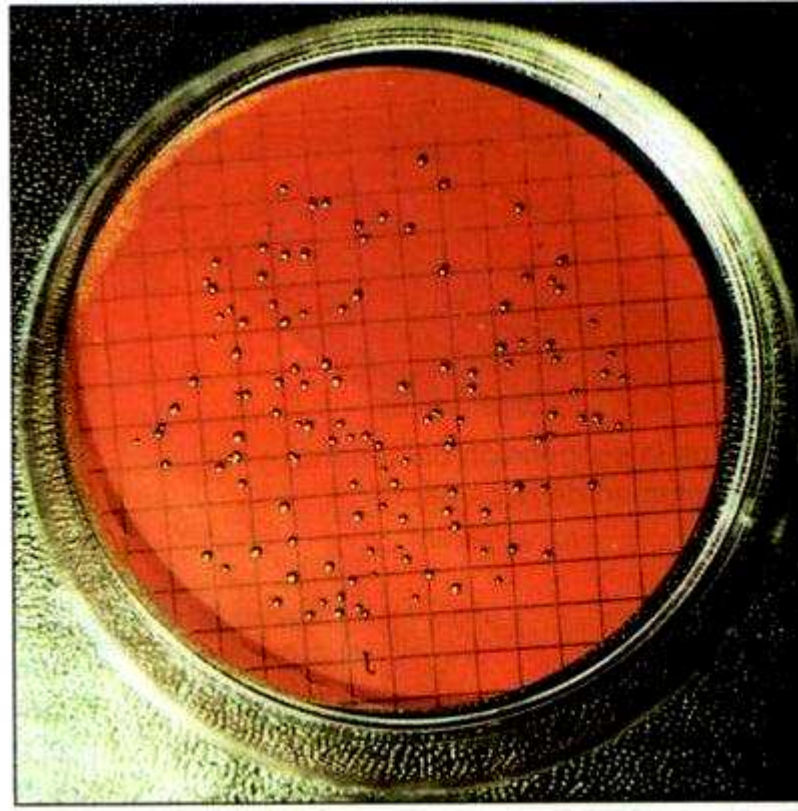


Filtro sobre soporte

Filtros de membrana



Bacterias retenidas en el filtro
(microscopía electrónica de barrido)



Colonias crecidas sobre el filtro

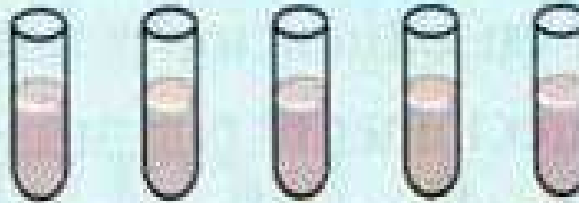
Número mas probable NMP

Volumen del
inóculo para
cada conjunto
de cinco tubos

Tubos con medio nutritivo
(conjuntos de cinco tubos)

Número de tubos po-
sitivos en el conjunto

10 mL



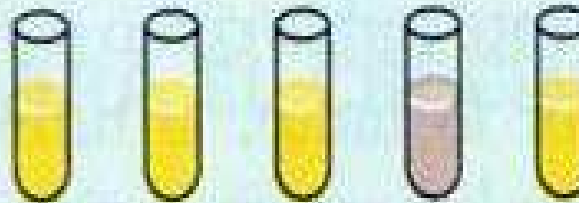
5

1 mL



3

0,1 mL



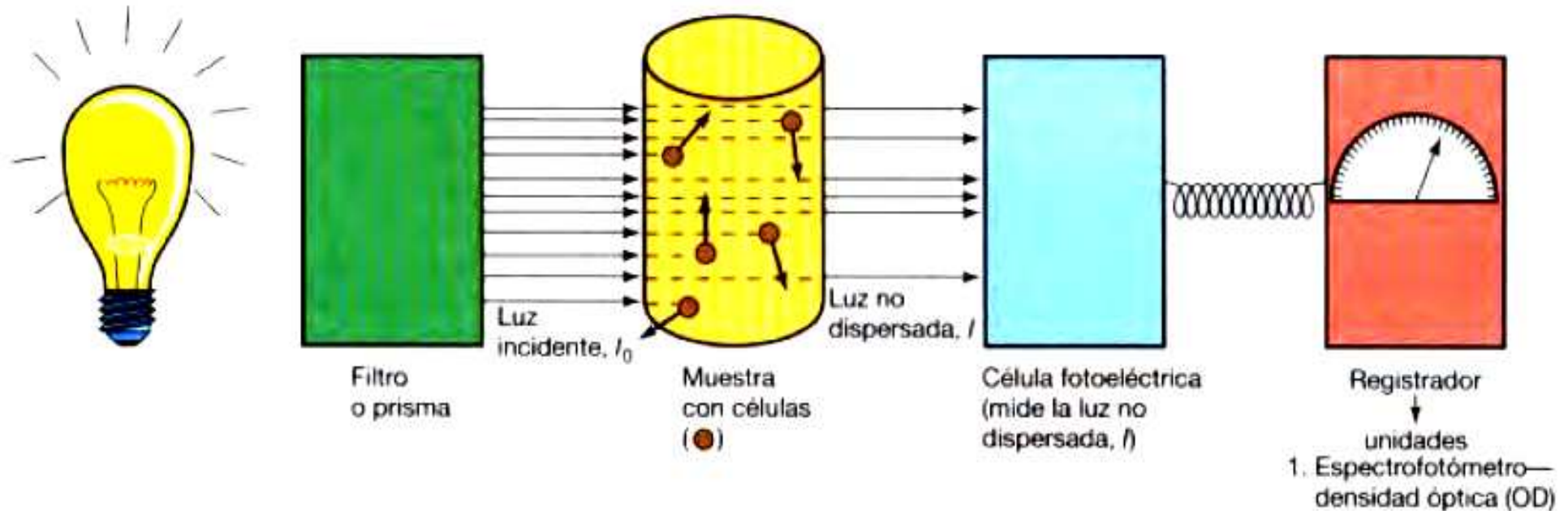
1

Tabla del NMP

Combinación de positivos	Índice de NMP/100 mL	Límites de confianza del 95%	
		Inferior	Superior
4-2-0	22	9	56
4-2-1	26	12	65
4-3-0	27	12	67
4-3-1	33	15	77
4-4-0	34	16	80
5-0-0	23	9	86
5-0-1	30	10	110
5-0-2	40	20	140
5-1-0	30	10	120
5-1-1	50	20	150
5-1-2	60	30	180
5-2-0	50	20	170
5-2-1	70	30	210
5-2-2	90	40	250
5-3-0	80	30	250
5-3-1	110	40	300
5-3-2	140	60	360

Medidas indirectas del crecimiento microbiano

Turbidez

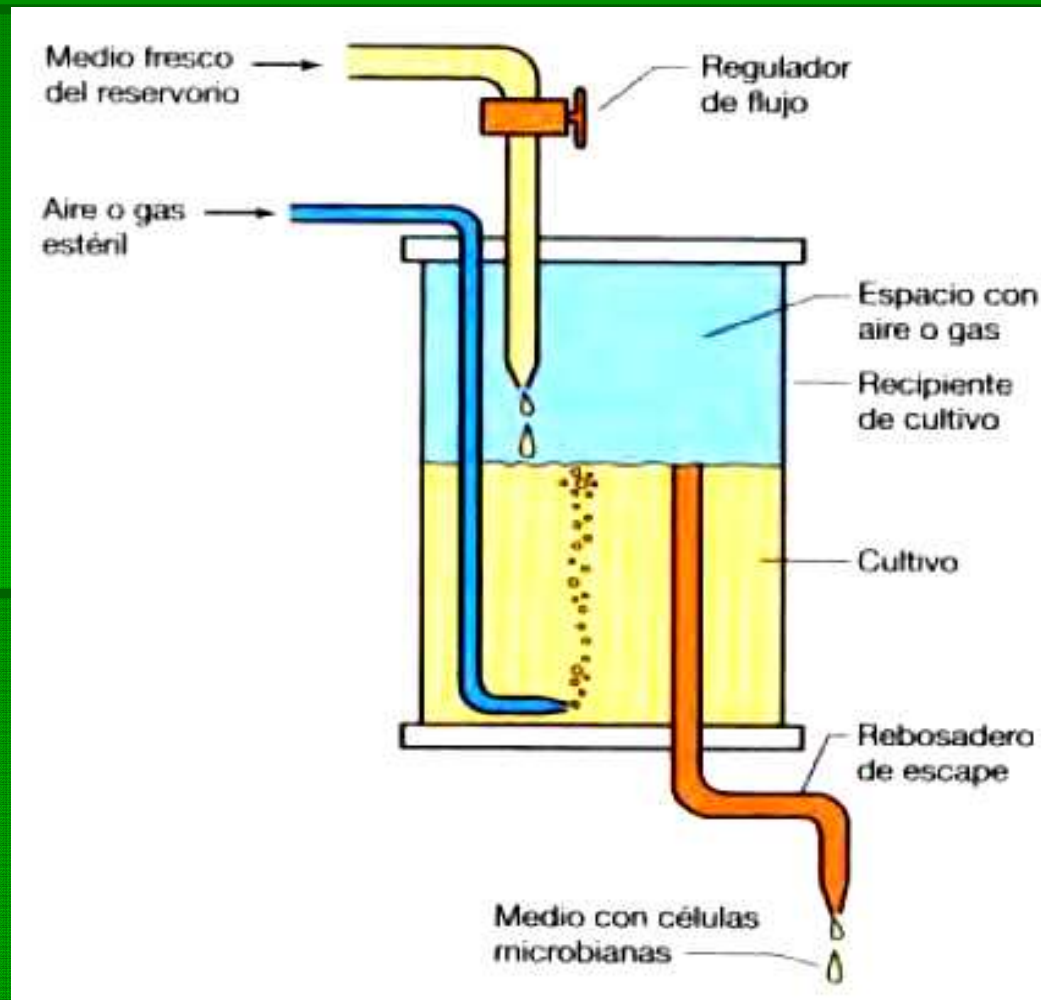


Las longitudes de onda más comúnmente usadas para medir la turbidez bacteriana son 540 nm (verde); 600 nm (naranja); y 660 nm (rojo)

Los resultados se expresan en unidades de OD (densidad óptica).

Cultivo continuo: el quimiostato

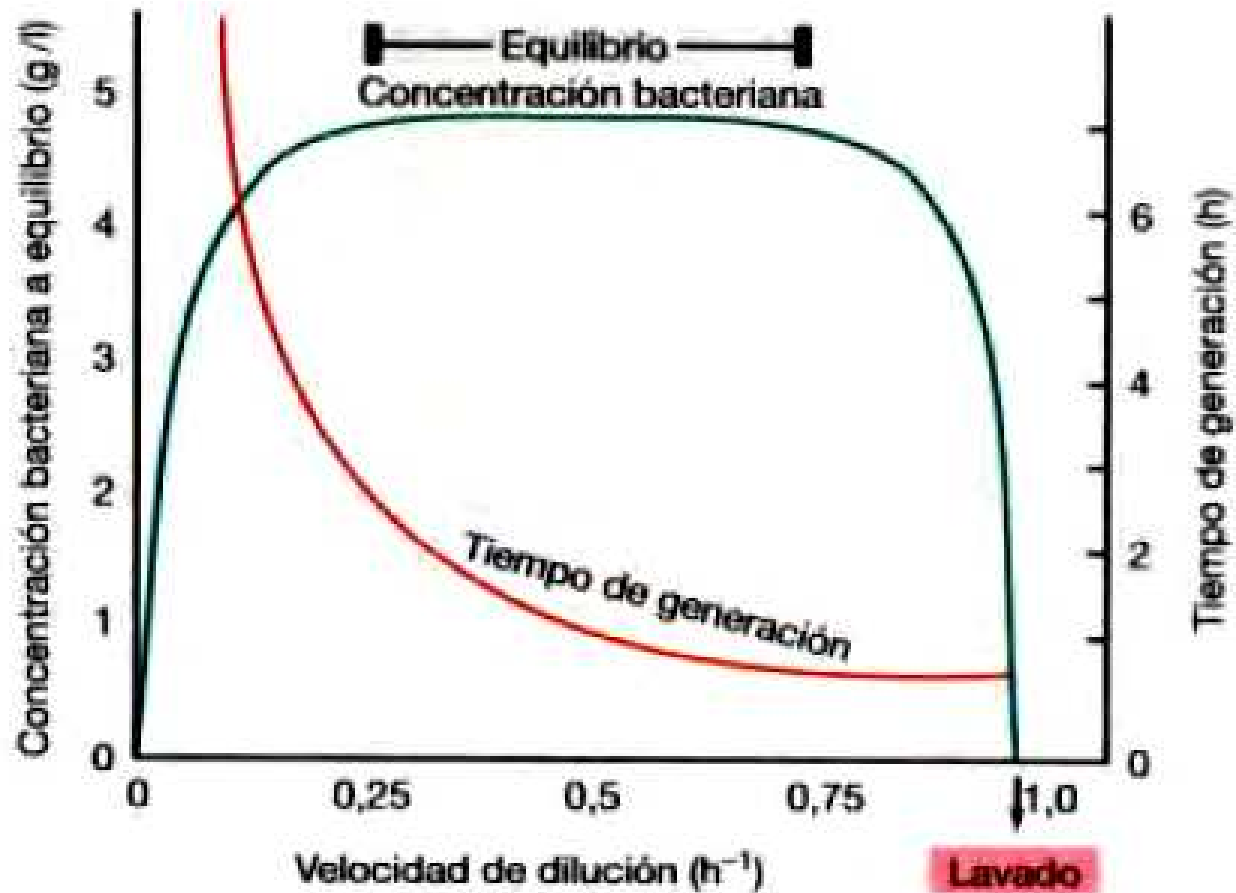
Un cultivo continuo es un sistema abierto, con volumen constante, al que se añade continuamente medio fresco y del que se retira continuamente medio (usado) con células a una velocidad constante. El número de células y el estado metabólico permanecen *constantes* = estado de equilibrio.



El quimiostato

son importantes

- ❖ la velocidad de dilución
- ❖ la concentración de un nutriente que actúa como factor limitante (la fuente de carbono o de nitrógeno).



Si se eleva la concentración de un nutriente en el medio entrante, manteniendo constante la velocidad de dilución, la densidad celular aumentara.

