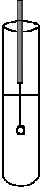




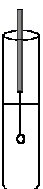


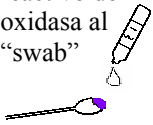
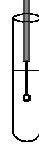

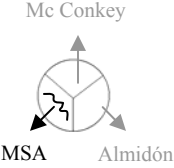
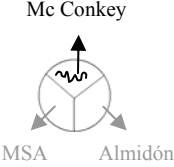
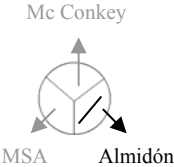


Pruebas Bioquímicas

Prueba	Medio de Cultivo	Propósito	Inoculación e Incubación	Tratamiento Post-Incubación	Resultados	
					Positivo	Negativo
Carbohidratos I Fermentación de carbohidratos	Base de Rojo Fenol y el carbohidrato: <ul style="list-style-type: none"> Lactosa Sacarosa Dextrosa Manitol *Tubo Durham	Determinar si la bacteria puede utilizar ese carbohidrato en específico.	“loop”  24-48 hrs. / 37°C	Ninguno	El medio se ve amarillo = producción de ácidos a partir de la fermentación = utilización del carbohidrato. *Puede haber producción de gases (acumulación de gases en el tubo Durham)	El medio se ve rojo (pH se quedó igual o aumentó). Se producen sustancias alcalinas. La bacteria utilizó peptonas.
Carbohidratos II Prueba de las tres azúcares y hierro	“Triple Sugar Iron Agar” (TSIA)	<ol style="list-style-type: none"> Ver el patrón de fermentación de la bacteria. Ver la producción de gases. Observar la producción de H₂S. 	Primero estriado con el “loop” y luego una estocada hasta el fondo con la aguja recta.  24 hrs. / 37°C	Ninguno	Utilización de glucosa:  Utilización de lactosa y/o sacarosa 	Utilización de peptonas (no fermenta azúcar) Fondo oscuro: producción de H ₂ S
Proteínas, Aminoácidos y Enzimas	SIM (Sulfide-Indole-Motility)	<ol style="list-style-type: none"> Determinar si la bacteria puede degradar triptófano a indol a través de triptofanasa. Determinar producción de H₂S. Determinar si la bacteria es móvil. 	Estocada hasta el fondo con aguja recta.  37°C 24 hrs.: Motilidad y H ₂ S 48 hrs.: Indol	1. 2-3 gotas del reactivo de Kovac	<ol style="list-style-type: none"> Rojo: presencia de indol (el triptófano fue degradado) Color negro (Presencia de H₂S) Difuminación del crecimiento de la bacteria hacia los lados (Movilidad) 	<ol style="list-style-type: none"> Amarillo (la bacteria no puede degradar el triptófano) El medio se queda igual. La bacteria sólo crece en la línea de inoculación (no móvil).
Rojo de Metilo y Voges-Proskauer	Caldo MR-VP	<ol style="list-style-type: none"> Rojo de Metilo: Determinar la habilidad de las bacterias para producir y mantener sustancias ácidas. Voges-Proskauer: Determinar la capacidad de transformar sustancias ácidas a no ácidas. 	“loop”  37°C 1. Rojo de metilo: 7 días 2. Voges-Proskauer: 48 horas	A las 48 horas, se divide el cultivo en dos: 1. Rojo de metilo: Incubadora hasta los 7 días. Luego se añaden 5 gotas de rojo de metilo. 2. Voges-Proskauer: se añaden 10 gotas de α-naphtol y 5 gotas de KOH 40%. Esperar 30 min.	<ol style="list-style-type: none"> Rojo = presencia de ácido (pH 4) Color rosa 	<ol style="list-style-type: none"> Amarillo = el ácido fue transformado a sustancias no ácidas (pH 6) Marrón claro
Utilización de Citrato	Simmon's Citrate	Determinar si la bacteria utiliza citrato como única fuente de carbono.	Estriado con “loop”  24-48 hrs. / 37°C	Ninguno	Azul = indica condiciones alcalinas = cuando el ácido cítrico se metaboliza, se produce amonio y Na ⁺	Permanece color verde

Prueba	Medio de Cultivo	Propósito	Inoculación e Incubación	Tratamiento Post-Incubación	Resultados	
					Positivo	Negativo
Hidrólisis de gelatina	Agar nutritivo con gelatina ("Nutrient Gelatine")	Determinar la producción de la exoenzima gelatinasa.	Estocada hasta el fondo.  24-48 hrs. / 37°C	Colocar en nevera (30 min.)	La gelatina se mantiene líquida al sacarla de la nevera.	La gelatina se solidifica
Catalasa	Agar nutritivo ("Nutrient Agar")	Determinar si la bacteria posee la enzima catalasa. ($H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$)	24-48 hrs. / 37°C	2 ó 3 gotas de H_2O_2 a una colonia	Efervescencia	Se queda igual
Oxidasa	Agar nutritivo ("Nutrient Agar")	Determinar la presencia de la enzima oxidasa.	24-48 hrs. / 37°C	Se toma muestra del cultivo con un "swab" estéril. Se añade 1 gota del reactivo de oxidasa al "swab" 	Azul / púrpura (El cambio es notable en menos de 15 segundos)	Se queda igual
Ureasa	Caldo de urea	Determinar si la bacteria degrada urea.	"loop"  24-48 hrs. / 37°C	Ninguno	Rosa intenso	El medio se queda igual
Reducción de Nitratos a Nitritos	Agar de Nitrato ("Nitrate Agar")	Determinar si la bacteria tiene la capacidad de reducir los nitratos a nitritos	Estriado en agar inclinado  24-48 hrs. / 37°C	1 gota de ácido sulfanílico 1 gota de α -naphthilamina En caso que dé negativo, se añade una pizca de polvo de zinc.	Rojo al añadir los primeros dos reactivos.	El medio se queda igual. Luego del polvo de zinc, cambia a rojo.
Fermentación de Manitol	Mannitol Salt Agar (MSA)	Determinar si la bacteria puede crecer en altas concentraciones de sales. Determinar si puede fermentar el manitol.	Estriado  24-48 hrs./ 37°C	Ninguno	El medio se torna color amarillo = Fermentación del manitol. (Posiblemente es <i>S. aureus</i>)	El medio se queda igual (rojo).
Gram negativas y Fermentación de lactosa	Mc Conkey Agar	Determinar si la bacteria es Gram negativo y fermentadora de lactosa.	Estriado  24-48 hrs./ 37°C	Ninguno	1. Presencia de colonias = crecimiento de Gram negativas 2. Colonias rojas o rosadas = Fermenta lactosa	1. No hubo crecimiento (No es Gram negativa) 2. Colonia blanca o incolora = No fermenta lactosa.
Hidrólisis de almidón	Agar de almidón ("Starch Agar")	Producción de la exoenzima α -amilasa	Aguja recta  24-48 h/37°C	2 a 3 gotas de Yodo, que cubran todo el cultivo	Área clara alrededor del cultivo	Color negro alrededor del cultivo